

## Enzim $\alpha$ -Amilase Inhibitor Pada Ekstrak Air Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Untuk Penanggulangan Diabetes Melitus

( $\alpha$ -Amilase Enzyme Inhibitor From Water Extract Of Red Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) For Diabetes Mellitus)

Nela Agustin Kusuma Wardani <sup>1)\*</sup>, Andini <sup>2)</sup>, Putri Tari Indriani <sup>3)</sup>, Dinda Ina Sarinastiti

Akademi Analis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Malang

\* Penulis Korespondensi: [nela.agustin.kw@gmail.com](mailto:nela.agustin.kw@gmail.com)

### ABSTRACT

*Inhibiting  $\alpha$ -amylase enzymes work is an effort to minimize diabetes mellitus. The enzyme will not hydrolyze carbohydrates so it can reduce the absorption of glucose. The purpose of this research is to know the ability of water extract of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in inhibiting the enzyme  $\alpha$ -amylase in the breakdown of carbohydrates. The study was described with three repetitions of the treatment. The  $\alpha$ -amylase enzyme activity of enzyme tested. A water extract of red kidney beans tested  $\alpha$ -amylase enzyme activity inhibitor with the variation of a concentration of 2.5 mg/ml, 5 mg/ml, 7.5 mg/ml, 10 mg/ml, and 12.5 mg/ml. Acarbose as control. The value of the linear regression equation put on from the standard curve to obtain the starch sugar levels a reduction was formed. The less reduction sugar, showed an inhibitory enzyme of  $\alpha$ -amylase. Research data shown at the mean  $\pm$  SD. Results showed  $\alpha$ -amylase enzyme activity of 4776.63 U/ml. Samples were given treatment to a water extract of red kidney beans with a concentration of 2.5 mg/ml and 5 mg/ml did not show the presence of the sugar reduction. While the sugar reduction formed on samples that have been given a water extract of red kidney beans on the concentration of 7.5 mg/ml, 10 mg/ml, and 12.5 mg/ml with reduction sugar level amounted to 2.13 mg/ml, 3.75 mg/ml, and 40.79 mg/ml. When compared to the drug control, i.e. Acarbose, reduced sugar levels (27 mg/ml) larger than a water extract of red kidney beans on the concentration of 7.5 and 10 mg/ml, but smaller than the water extract of red kidney beans at concentrations of 12.5 mg/ml. A water extract of red kidney beans with a concentration 2.5 mg/5 mg/ml and ml have the ability as the enzyme  $\alpha$ -amylase inhibitor, indicated by the formation of sugar no reduction in the sample.*

*Keywords: water extracts of red kidney beans; the enzyme  $\alpha$ -amylase inhibitor*

### ABSTRAK

Salah satu cara menanggulangi diabetes mellitus yaitu dengan menghambat kerja enzim  $\alpha$ -amilase yang menghidrolisis karbohidrat sehingga mengurangi absorpsi glukosa. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak air kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) dalam menghambat enzim  $\alpha$ -amilase dalam memecah karbohidrat. Penelitian ini bersifat deskriptif dengan dilakukan pengulangan perlakuan sebanyak 3x. Enzim  $\alpha$ -amilase diuji aktivitas enzimnya. Ekstrak air kacang merah diuji aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase inhibitor dengan variasi konsentrasi 2,5 mg/ml, 5 mg/ml, 7,5 mg/ml, 10 mg/ml, dan 12,5 mg/ml. Acarbose sebagai kontrol. Nilai tersebut dimasukkan pada persamaan regresi linear dari kurva standar pati untuk mendapatkan kadar gula reduksi yang terbentuk. Semakin sedikit gula reduksi yang terbentuk menunjukkan adanya penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase. Data penelitian ditampilkan pada mean  $\pm$  SD. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase sebesar 4776,63

U/ml. Sampel yang diberi perlakuan ekstrak air kacang merah dengan konsentrasi 2,5 mg/ml dan 5 mg/ml tidak menunjukkan adanya gula reduksi. Sedangkan gula reduksi terbentuk pada sampel yang telah diberi ekstrak air kacang merah pada konsentrasi 7,5 mg/ml, 10 mg/ml, dan 12,5 mg/ml dengan kadar gula reduksi sebesar 2,13 mg/ml, 3,75 mg/ml, dan 40,79 mg/ml. Jika dibandingkan dengan kontrol obat yaitu Acarbose, kadar gula reduksi (27 mg/ml) lebih besar dibandingkan ekstrak air kacang merah pada konsentrasi 7,5 dan 10 mg/ml, namun lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak air kacang merah pada konsentrasi 12,5 mg/ml. Ekstrak air kacang merah dengan konsentrasi 2,5 mg/ml dan 5 mg/ml memiliki kemampuan sebagai enzim  $\alpha$ -amilase inhibitor yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gula reduksi pada sampel.

**Kata kunci:** ekstrak air kacang merah; enzim  $\alpha$ -amilase inhibitor

## PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan penyakit kronis yang terjadi karena adanya masalah pada pankreas yang tidak dapat memproduksi insulin secara cukup atau ketika tubuh kehilangan kemampuan secara efektif untuk memproduksi insulin (Jabir dan Iraby, 2014). Penyakit diabetes mellitus sudah menjadi penyakit pembunuh nomor tiga di Indonesia. Prevalensi orang dengan diabetes di Indonesia menunjukkan kecenderungan meningkat, yaitu dari 5,7% tahun 2007, menjadi 6,9% tahun 2013 (Rafika, 2016). Salah satu cara menanggulangi diabetes mellitus yaitu dengan menghambat kerja enzim yang menghidrolisis karbohidrat sehingga mengurangi absorpsi glukosa.

Salah satu enzim yang berperan penting dalam pemecahan oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida sehingga siap untuk diabsorpsi adalah enzim  $\alpha$ -amilase. Penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -amilase dapat menunda dan memperlama waktu cerna karbohidrat, menyebabkan penurunan laju absorpsi glukosa dan mencegah peningkatan kadar plasma glukosa postprandial (de Sales *et al.* 2012). Beberapa jenis bahan alam diketahui memiliki aktivitas sebagai enzim  $\alpha$ -amilase inhibitor yaitu pada ekstrak air kulit buah dan biji okra (*Abelmoscus esculentus* (L.) Moench) (Sabitha *et al.* 2012), ekstrak etanol oat, beras, dan gandum (Pagnussatt *et al.*, 2011), ekstrak methanol *Cinnamomum zeylanicum*, *Artocarpus altilis*, *Piper betel*, dan *Artocarpus heterophyllus* (Nair *et al.*, 2013), ekstrak air daun *Tamarindus indica*, ekstrak air batang dan akar *Catharanthus roseus* dan *Caesalpinia bonducella* (Bhutkar dan Bhise, 2012).

Kacang merah atau *red kidney bean* (*Phaseolus vulgaris* L.) diketahui memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar gula darah. Menurut penelitian Naraswari (2005), ekstrak kacang merah dapat menurunkan kadar gula darah tikus putih wistar dari 193,000 mg/dl menjadi 130,088 mg/dl. Ekstrak kacang merah dengan dosis 0,063 g/200 g berat badan, 0,126 g/200 g berat badan, dan 0,252 g/20 g berat badan, mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar jantan yang diberi beban glukosa (Iqbal *et al.* 2015). Ekstrak air daun kacang merah

merah dengan dosis 400 mg/kg berat badan dapat menurunkan kadar gula darah tikus wistar yang diinduksi alloksan (Luka *et al.* 2013). Ekstrak kasar *white kidney bean* (*Phaseolus vulgaris*) menunjukkan aktivitas penghambatan pada  $\alpha$ -amilase pankreas dan  $\alpha$ -amilase yang terdapat pada ludah manusia (Tadros *et al.* 2014). Penelitian terhadap aktivitas  $\alpha$ -amilase inhibitor pada ekstrak air kacang merah perlu dilakukan untuk menanggulangi diabetes mellitus karena tidak menggunakan pelarut yang mahal, sehingga mudah diaplikasikan penggunaannya untuk masyarakat luas.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan yaitu kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) yang diperoleh dari Minimarket Vegan. Akuades, enzim  $\alpha$ -amilase merk Liquozyme Supra berasal dari Lapak Sagu, buffer fosfat pH 7 berasal dari Panadia, pati, kertas saring Whatman No. 1 didapat dari CV. Makmur Sejati, dan reagen Nelson Somogy berasal dari Chemix Yogyakarta. Alat yang digunakan yaitu oven merek Memmert, blender, *magnetic stirrer* merek Thermo Scientific S131125Q Cimarec, sentrifuse merek Wina *Instrument* Type 501, erlenmeyer, gelas ukur, neraca analitik merek Mettler Toledo, ayakan 80 mesh, spektrofotometer merek Genesys 10S UV-Vis, inkubator merek Memmert, tabung reaksi, dan penangas air.

### **Pembuatan Ekstrak Air Kacang Merah (modifikasi Bhutkar dan Bhise, 2012)**

Kacang merah kering lalu ditepungkan dan diayak dengan ayakan 80 mesh. 50 g tepung kacang merah ditambahkan 200 ml akuades. Lalu diletakkan pada *rotary shaker* selama 4 jam. Larutan tersebut kemudian disentrifuse pada 4000 rpm selama 10 menit. Diambil supernatant (bagian cair). Ekstrak air lalu dikeringkan pada suhu 60°C untuk membentuk residu serbuk. Serbuk hasil pengeringan dilarutkan pada pelarut untuk tahap selanjutnya.

### **Pengujian Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase (modifikasi Wahyuni, 2015)**

Larutan pati (substrat) dibuat dengan konsentrasi 10 mg/ml. Masing-masing konsentrasi diambil 3,5 ml ditambahkan 3,5 ml buffer fosfat pH 7 pada tabung reaksi. Disiapkan blangko berupa campuran akuades dan buffer fosfat pH 7 sebanyak 7 ml. Ditambahkan 1 ml enzim  $\alpha$ -amilase pada larutan pati. Larutan pati dan blangko diinkubasi 37°C selama 30 menit. Ditambahkan HCl 1 N sebanyak 1 ml. Ditambahkan 1 ml larutan iodine (yang sudah diencerkan 100x). Jika keruh atau terbentuk gumpalan, saring terlebih dahulu. Hasil penyaringan ditera

absorbansinya pada panjang gelombang 620 nm, spektrofotometer UV Vis. Kurva standar pati dibuat dengan variasi konsentrasi larutan pati 2, 4, 6, 8, dan 10 mg/ml.

$$\text{Aktivitas enzim (unit/ml)} = D [(R_0 - R)/R_0] \times 100$$

### **Pengujian Enzim $\alpha$ -Amilase (modifikasi Bhutkar and Bhise, 2012)**

1 ml ekstrak air (konsentrasi 2,5, 5, 7,5, 10, dan 12,5 mg/ml) ditambahkan 1 ml (1 % b/v) larutan pati, lalu dilakukan pre-inkubasi dengan 1 ml enzim  $\alpha$ -amilase (pengenceran 100x). Campuran diinkubasi pada 37°C selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 1 ml reagen Nelson. Campuran itu lalu dipanaskan dalam air mendidih selama 20 menit. Didinginkan pada suhu 25°C. Ditambah 1 ml arsenomolibdat. Lalu, ditambah 7 ml akuades. Blanko disiapkan tanpa ekstrak dan tanpa enzim  $\alpha$ -amilase dalam buffer fosfat pH 7. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 540 nm. Kurva standar berasal dari pati sebagai equivalent maltose. Acarbose (obat anti diabetes) digunakan sebagai kontrol positif (1 tablet dosis 50 mg dilarutkan dalam 10 ml akuades).

### **Analisa Data**

Penelitian ini bersifat deskriptif dengan dilakukan pengulangan perlakuan sebanyak 3x. Variabel penelitian ini meliputi variabel bebas berupa konsentrasi ekstrak air kacang merah dan variabel terikat berupa aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase inhibitor. Hasil penelitian ditampilkan pada mean  $\pm$  SD.

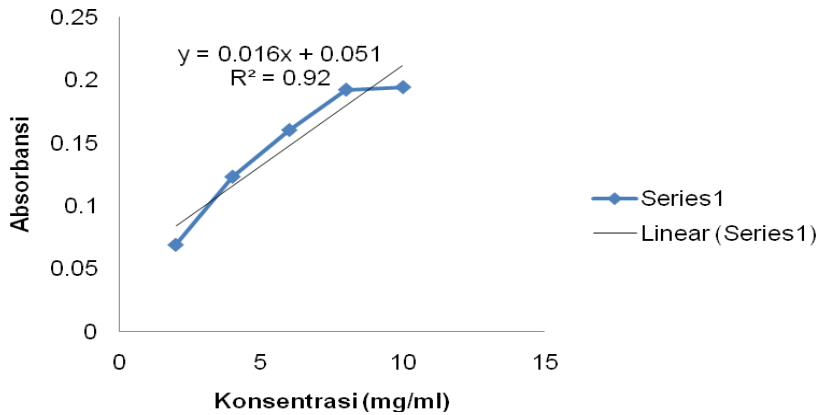
## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase**

Pengujian aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dilakukan untuk mengetahui kemampuan enzim  $\alpha$ -amilase untuk menghidrolisis pati menjadi gula sederhana. Produk akhir dari aksi  $\alpha$ -amilase adalah oligosakarida dengan panjang bervariasi serta  $\alpha$ -konfigurasi dan  $\alpha$ -limit deksrin yang terdiri dari campuran maltose, maltotriosa, dan cabang oligosakarida (6-8 unit glukosa) yang berisi ikatan  $\alpha$ -1-4 dan  $\alpha$ -1-6 (de Sales, *et al.* 2012).

Pada penelitian ini, aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase diamati sebagai penurunan intensitas warna biru pada kompleks iodin-pati karena berkurangnya substrat pati akibat hidrolisis yang dilakukan enzim  $\alpha$ -amilase (Wahyuni, 2015). Pembuatan kurva standar pati digunakan untuk menentukan jumlah pati tersisa pada pengujian aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase yang disajikan pada Gambar 1. Kurva standar pati ini menggunakan 5 data konsentrasi larutan pati yaitu 2, 4, 6, 8,

dan 10 mg/ml, dengan nilai  $R^2$  yang mendekati 1 yaitu 0,92, sehingga data dianggap layak untuk persamaan regresi linear.



Gambar 1. Kurva Standar Larutan Pati

Pada pengujian aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase (Tabel 3) terjadi perbedaan nilai hasil penelitian dengan Wahyuni (2015), hal ini terjadi karena dilakukan modifikasi prosedur terkait pH buffer fosfat yang digunakan yaitu pH 7. pH akan mempengaruhi kondisi sisi aktif enzim yang akan berikatan dengan substrat. Menurut Vengadaramana *et al.* (2014), pH optimum untuk reaksi enzim  $\alpha$ -amilase adalah pH 7 dalam buffer fosfat. Pada penelitian Wahyuni (2015) tidak disebutkan pH buffer fosfat yang digunakan.

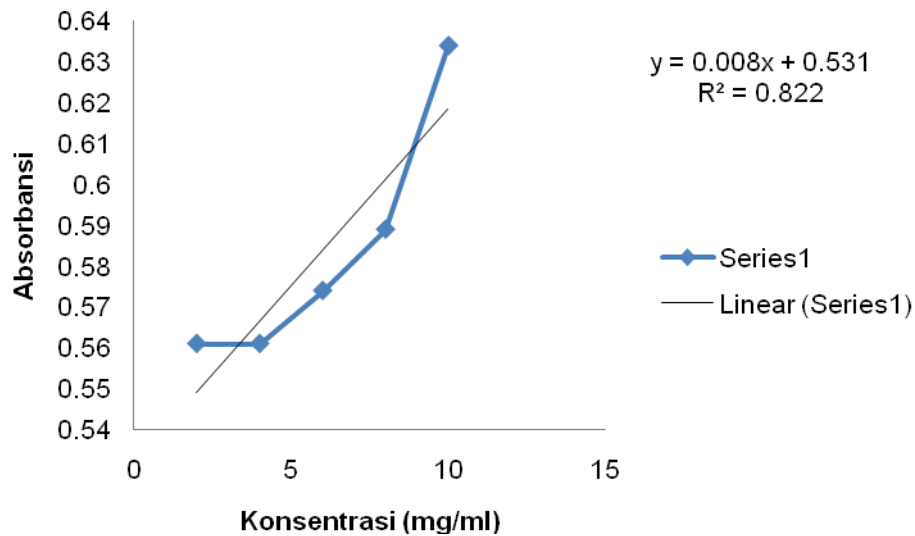
Tabel 1. Aktivitas Enzim  $\alpha$ -Amilase

Jenis sampel	Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase
Hasil penelitian	4776,63 U/ml
Wahyuni (2015)	832,24 U/ml
Nilai pada kemasan	148,39 KNU/g

### Enzim $\alpha$ -Amilase Inhibitor

Enzim  $\alpha$ -amilase inhibitor berperan untuk mengikat dan menginaktifkan enzim  $\alpha$ -amilase. Penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -amilase dapat menunda dan memperlama waktu cerna karbohidrat, menyebabkan penurunan laju absorpsi glukosa dan mencegah peningkatan kadar plasma glukosa postprandial (de Sales *et al.* 2012). Pada penelitian ini, ekstrak air kacang merah (*Phaseolus vulgaris*) digunakan sebagai enzim  $\alpha$ -amilase inhibitor. Ekstrak air kacang merah ditambahkan pada larutan pati yang telah diberi enzim  $\alpha$ -amilase, diinkubasi

selama 10 menit pada suhu 37°C, lalu direaksikan dengan reagen Nelson Somogy dan ditera menggunakan spektrofotometer UV Vis pada panjang gelombang 540 nm untuk mendapatkan nilai absorbansi. Nilai tersebut dimasukkan pada persamaan regresi linear dari kurva standar pati untuk mendapatkan kadar gula reduksi yang terbentuk. Semakin sedikit gula reduksi yang terbentuk menunjukkan adanya penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase.



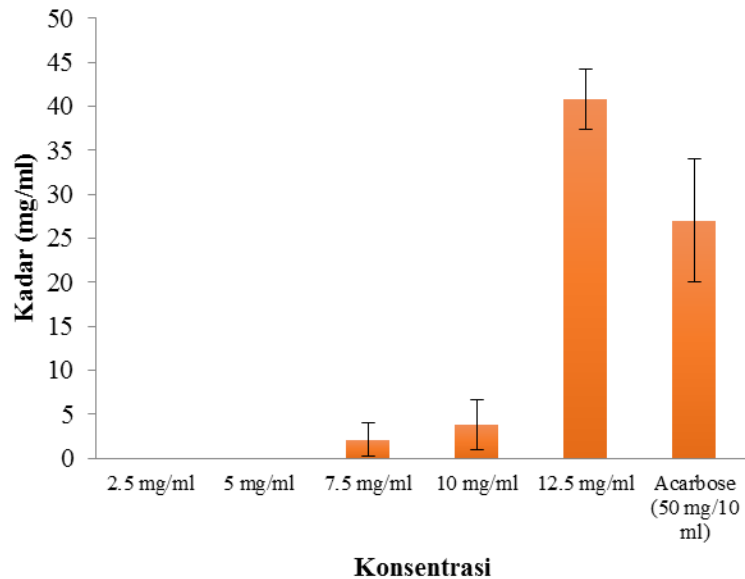
Gambar 2. Hasil analisis kadar gula pereduksi sampel

Gambar 2 merupakan kurva standar pati dengan menggunakan 5 data konsentrasi larutan pati yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10 mg/ml, dengan nilai  $R^2$  yang mendekati 1 yaitu 0,82, persamaan regresi linear yang didapat yaitu  $y=0,0087x + 0,5316$ . Nilai x (kadar gula reduksi) diperoleh dengan memasukkan data absorbansi sampel (y) pada persamaan regresi linear.

Pada pengujian enzim  $\alpha$ -amilase inhibitor, sampel yang digunakan adalah larutan pati yang diberi perlakuan ekstrak air kacang merah dengan 5 variasi konsentrasi yaitu 2,5, 5, 7,5, 10, dan 12,5 mg/ml, serta digunakan kontrol berupa obat Acarbose. Acarbose adalah salah satu jenis obat antidiabetes terutama diabetes tipe 2 yang digunakan untuk menghambat kerja enzim  $\alpha$ -amilase sehingga menunda pencernaan karbohidrat, mengurangi absorpsi glukosa sehingga mencegah naiknya glukosa plasma posprandial (de Sales *et al.*, 2012). Obat ini membantu menurunkan kadar gula dalam darah setelah makan (Alodokter, 2016). Pada terapi diabetes, penggunaan Acarbose bisa dikonsumsi bersama dengan obat lainnya seperti insulin, metformin, dan sulfonilurea sesuai dengan resep dokter (Alodokter, 2016).

Sampel yang diberi perlakuan ekstrak air kacang merah dengan konsentrasi 2,5 mg/ml dan 5 mg/ml tidak menunjukkan adanya gula reduksi. Sedangkan gula reduksi terbentuk pada

sampel yang telah diberi ekstrak air kacang merah pada konsentrasi 7,5 mg/ml, 10 mg/ml, dan 12,5 mg/ml dengan kadar gula reduksi sebesar 2,13 mg/ml, 3,75 mg/ml, dan 40,79 mg/ml. Jika dibandingkan dengan kontrol obat yaitu Acarbose, kadar gula reduksi (27 mg/ml) lebih besar dibandingkan ekstrak air kacang merah pada konsentrasi 7,5 dan 10 mg/ml, namun lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak air kacang merah pada konsentrasi 12,5 mg/ml. Kadar gula reduksi pada sampel ditampilkan pada Gambar 3



Gambar 3. Kadar Gula Reduksi Larutan Pati yang Telah Diberi Perlakuan Ekstrak Kacang Merah dan Acarbose

Kacang merah atau *red kidney bean* (*Phaseolus vulgaris* L.) diketahui memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar gula darah. Menurut penelitian Naraswari (2005), ekstrak kacang merah dapat menurunkan kadar gula darah tikus putih wistar dari 193,000 mg/dl menjadi 130,088 mg/dl. Ekstrak kacang merah dengan dosis 0,063 g/200 g berat badan, 0,126 g/200 g berat badan, dan 0,252 g/20 g berat badan, mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar jantan yang diberi beban glukosa (Iqbal *et al.* 2015). Ekstrak air daun kacang merah dengan dosis 400 mg/kg berat badan dapat menurunkan kadar gula darah tikus wistar yang diinduksi alloksan (Luka *et al.* 2013). Ekstrak kasar *white kidney bean* (*Phaseolus vulgaris*) menunjukkan aktivitas penghambatan pada  $\alpha$ -amilase pankreas dan  $\alpha$ -amilase yang terdapat pada ludah manusia (Tadros *et al.* 2014).

Menurut Wisessing and Cowongkomon (2012), enzim  $\alpha$ -amilase inhibitor terdapat pada kacang-kacangan pada genus *Phaseolus* seperti *Phaseolus coccineus*, *Phaseolus*

*polyanthus*, dan *Phaseolus acutifolius*. Pada kacang-kacangan ini terdapat enzim  $\alpha$ -amilase inhibitor seperti *lectin* yang mengandung 240-250 residu asam amino yang terbentuk 5 ikatan disulfide dan dapat dikelompokkan menjadi 3 isoform yang disebut  $\alpha$ AI-1,  $\alpha$ AI-2, dan  $\alpha$ AI-3.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak air kacang merah dapat menjadi  $\alpha$ -amilase inhibitor pada konsentrasi 2,5 mg/ml dan 5 mg/ml. Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengetahui kemampuan enzim dalam membantu menurunkan kadar gula darah secara *in vivo*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada LPPM AKAFARMA-AKFAR Putra Indonesia Malang yang telah memberikan hibah dana penelitian, sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad Iqbal, Kevin Tagor Pintor, dan Rika Lisiswanti. 2015. Manfaat Tanaman Kacang Merah dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah. *Majority*, Volume 4, Nomor 9, 149-152
- ADA. 2005. *Diabetes Care*. 28:S4-S36
- Afriansyah, N. 2007. Kacang Merah Turunkan Kolesterol dan Gula Darah. <http://www.fmipa.ipb.ac.id>. Diakses tanggal 22 Maret 2017
- Alodokter. 2016. Pengertian Acarbose. [www.alodokter.com/acarbose](http://www.alodokter.com/acarbose). diakses tanggal 16 Oktober 2017
- Anonim. 2017. Kacang Merah. <http://digilib.unila.ac.id/8677/BAB%20II.pdf>. Diakses tanggal 22 Maret 2017
- Arif, A.B., Budiyanto, A. dan Hoerudin. 2013. Nilai Indeks Glikemik Produk Pangan Dan Faktor-Faktor Yang Memengaruhinya. *J. Litbang Pert.* Vol 32 No. 3, 91-99
- Arnason, Atli. 2017. Kidney Beans 101: Nutrition Facts and Health Benefits. <https://authoritynutrition.com/foods/kidney-beans/>. Diakses tanggal 22 Maret 2017
- Bhutkar, M. A. and S. B. Bhise. 2012. *In Vitro* Assay of Alpha Amylase Inhibitory Activity of Some Indigenous Plants. *Int. J. Chem. Sci.*: 10(1), 457-462
- Buraerah, Hakim. 2010. Analisis Faktor Risiko Diabetes Melitus tipe 2 di Puskesmas Tanrutedong, Sidenreg Rappan,. *Jurnal Ilmiah Nasional*. Available from :<http://lib.atmajaya.ac.id/default.aspx?tabID=61&src=a&id=186192>. Diakses tanggal 20 Maret 2017
- de Sales, Paloma Michelle, Paula Monteiro de Souza, Luiz Alberto Simeoni, Pérola de Oliveira Magalhães, and Dâmaris Silveira. 2012.  $\alpha$ -Amylase Inhibitors: A Review of Raw Material



- and Isolated Compounds from Plant Source. J Pharm Pharmaceut Sci (www.cspscanada.org) 15(1) 141 – 183.
- Innova. 2014. Guide To Enzyme Unit Definitions And Assay Design. <https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=5770be02f7b67e34770da12c&assetKey=AS%3A377466632851457%401467006466422> Diakses tanggal 14 Oktober 2017
- Jabir, Abdulwahid Sh. and Iraby, Asma G.2014. Studying The Effect Of Anti-Amylase Inhibitor Extracted from White Kidney Bean (*Phaseolus Vulgaris*) In Treat Diabetes and Obesity In An Affected Mice. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 3(10) 97-106
- Matsuura, Y. 1999. Stucture and Catalytic Mechanism of Alpha-amylase Family Enzymes. <http://www.glycoforum.gr.jp/Science/World/saccharide/SA-B02E.html>. Diakses tanggal 22 Maret 2017
- Nair, Sindhu. S., Vaibhavi Kavrekar, and Anshu Mishra. 2013. *In vitro* Studies on Alpha Amylase and Alpha Glucosidase Inhibitory Activities of Selected Plant Extracts. *European Journal of Experimental Biology*, 3(1):128-132
- Naraswari, Ajeng Sari. 2005. Pengaruh Konsumsi Ekstrak Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah. Yogyakarta. Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Ningrum, Marlinda Retno Budya. 2012. Pengembangan Produk Cake dengan Substitusi Tepung Kacang Merah, Skripsi. Yogyakarta. Fakultas Teknik UNY.
- Nugroho, A.E. 2006. Review : Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik.. *Biodiversitas Vol. 7, No. 4, 378-382*
- Pagnussatt, F. A., C. C. Bretanha, J. Garda-Buffon and E. Badiale-Furlong. 2011. Extraction of Fungal Amylase Inhibitors from Cereal Using Response Surface Methodology. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science (ISSN: 2251-0044) Vol. 1(10) pp. 428-434*
- Pangastuti, Hesti Ayu, Dian Rachmawanti Affandi, dan Dwi Ishartani. 2013. Karakterisasi Sifat Fisik Dan Kimia Tepung Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Dengan Beberapa Perlakuan Pendahuluan. *Jurnal Teknosains Pangan* Vol 2 No 1 Januari 2013
- Rafika, Diana. 2016. Penderita Diabetes di Indonesia Ketujuh Terbesar di Dunia <https://lifestyle.sindonews.com/read/1101939/155/penderita-diabetes-di-indonesia-ketujuh-terbesar-di-dunia-1460963840>. Diakses tanggal 20 Maret 2016
- Rukmana, R. 2009. *Budidaya Buncis*. Jakarta. Penerbit Kanisius
- Sabitha, K. Panneerselvam, and S. Ramachandran. 2012. In Vitro  $\alpha$ -Glucosidase And  $\alpha$ -Amylase Enzyme Inhibitory Effects In Aqueous Extracts of *Abelmoscus esculentus* (L.) Moench V.. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* S162-S164

- Slominska, Lucyna, Danuta Wisniewska, and Anna Grzeskowiak. Liquefaction of starch by thermostable alpha amylase. *Technologia Alimentaria* 2(2) 2003, 17-26
- Tadros, L.K.; N.S. Eryan; A.M. Yussef and Nancy A.A. Taha. 2014. Biochemical studies on  $\alpha$ -amylase inhibitor extracted from white kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). *J.Agric.Chem.and Biotechn., Mansoura Univ Vol. 5 (6): 177 – 188*
- Vengadaramana A., S. Balakumar, and Vasanthi Arasaratnam. 2014. Effect of temperature, pH, substrate (Starch) and glucose on stability of  $\alpha$ -amylase from *Bacillus licheniformis* ATCC 6346. *Scholars Academic Journal of Pharmacy (SAJP), Sch. Acad. J. Pharm., 2014; 3(6): 492-49*
- Wahyuntari, Budiasih. 2011. Penghambat  $\alpha$ -amylase : Jenis, Sumber, dan Potensi Pemanfaatannya dalam Kesehatan. *J. Teknol. dan Industri Pangan Vol. XXII No. 2*
- Yofananda, Olivia. 2015. Efek Pemberian Beras Sehat Berbasis Umbi-umbian Lokal Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Hiperglikemia yang Diinduksi Aloksan, Skripsi. Malang. Universitas Brawijaya