

ANALISIS KANDUNGAN VITAMIN C DAN β - KAROTEN DALAM DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Masdiana Tahir¹, Nurul Hikmah¹, Rahmawati¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia

masdianatahir@gmail.com

ABSTRACT

This research aimed to analyze the levels of vitamin C and β -carotene in Moringa leaves extract (Moringa oleifera Lam.) using UV-Vis spectrophotometry. Vitamin C on Moringa leaves are extracted with ethanol 96%. The extracts obtained was qualitatively analyzed of levels of vitamin C using specific reagents an iodine 1% and ammonium molybdate 5%. Than quantitatively using UV-Vis spectrophotometry at wavelength of 570 nm, obtained an verage grade of 7,96 mg/g. For β -carotene, Moringa leaves were extracted with acetone. The extract obtained was extracted again with ether, then saponified with KHO solvent 15% w/v in methanol, allowed to stand overnight. The extract obtained was extracted again with ether, then freed from wet with distilled water. Extracts were analyzed qualitatively using thin layer chromatography and quantitatively using UV-Vis spectrophotometry at wavelength of 450 nm and obtained an average grade of 3,31 mg/g.

Keyword : *Moringa oleifera* Lam., UV-Vis spectrophotometry, Vitamin C and β -carotene

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia memiliki potensi sumber daya alam yang sangat berlimpah baik yang berasal dari hewan maupun dari tanaman yang dapat dijadikan sebagai sumber makanan ataupun obat-obatan. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan obat - obatan adalah kelor (*Moringa oleifera* Lam.). Menurut Krisnadi, (2013), kelor merupakan tanaman yang kaya nutrisi karena mengandung banyak vitamin, mineral, anti-oksidan, dan asam amino esensial.

Di dunia Internasional, budidaya daun kelor merupakan suatu program yang sedang digalakan. Terdapat beberapa istilah untuk pohon kelor, diantaranya *The Miracle Tree*, *Tree for Life*, dan *Amazing Tree*.Istilah tersebut muncul karena semua bagian pohon kelor dapat dimanfaatkan mulai dari daun, buah, biji, bunga, kulit batang, hingga akar. (Simbolan dkk., 2008).

Senyawa kimia yang terkandung dalam daun kelor diantaranya adalah protein, β -Karoten, vitamin C, mineral terutama zat besi dan kalsium. Menurut Fuglie (2001), di Afrika dan Asia ibu menyusui dan anak pada masa pertumbuhan direkomendasikan mengkonsumsi daun kelor karena sangat kaya akan zat gizi.

Penelitian menunjukkan bahwa makanan yang mengandung antioksidan (vitamin C dan β -Karoten) dapat mencegah penyakit diabetes melitus (Arifin, dkk., 2007 dan Widowati, 2008). β -Karoten dapat mencegah penyakit rabun senja, penyakit kanker terutama kanker paru-paru (Mayne, 1996 dan Englberger, dkk.,2008). Vitamin C dapat mencegah

terjadinya berbagai penyakit kanker, mencegah terjadinya *skorbut* dan *atherosclerosis* (Poedjadi, 2005 dan Walingo ,2005).

Menurut Rizka dkk. (2005), hasil penapisan fitokimia daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menunjukkan adanya senyawa alkaloid dan steroid/triterpenoid. Berdasarkan hasil pengamatan dengan spektrofotometri UV-Vis diduga terdapat senyawa karotenoid yang mempunyai ikatan eter serta gugus karbonil dan alkil serta turunan karotenoid yang gugus fungsinya belum dapat ditentukan.

Oleh karena itu diadakan penelitian ini untuk mengetahui kandungan vitamin C dan β -karoten dalam daun kelor (*Moringa Oleifra* Lam.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

II. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu batang pengaduk, corong pisah, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, labu tentukur, timbangan analitik, seperangkat alat maserasi, seperangkat alat KLT dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan adalah asam skorbat p.a, aseton, air suling, ammonium molibdat 5%, asamsulfat 5%, asamoksalat 0,4%, benzene, β -karoten baku, eter p.a, ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), iodium 1%, metanol, KOH 15%, dan Lempeng KLT.

B. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dilakukan pada pagi hari (pukul 10.00– 12.00). Daun kelor diambil dan dipisahkan antara daun dan tangkai daun. Kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir. Daun yang telah bersih dikeringkan tanpa terpapar sinar matahari langsung.

2. Pembuatan Ekstrak Etanol

Serbuk daun kelor ditimbang 500 mg, lalu ditambahkan etanol 96% hingga simplisia tersebut terendam. Dibiarkan selama 3 hari dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Setelah 3 hari simplisia disaring dan ampasnya direndam lagi dengan cairan penyari yang baru, hal ini dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil penyarian yang didapat kemudian dikumpulkan dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak etanol yang kental.

3. Pembuatan Ekstrak Aseton

Serbuk daun kelor dalam bentuk serbuk ditimbang 70 g lalu dimasukkan kedalam wadah meserasi yang berbeda. Ditambahkan aseton 1500 mL. Hasil penyarian yang didapat kemudian dikumpulkan dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak aseton yang kental.

Ekstrak aseton yang diperoleh diuapkan hingga kurang lebih 5 mL, kemudian diekstraksi dengan dietil eter sebanyak 3 x 25 mL. Hasil ekstraksi diuapkan sampai kurang lebih 5 mL, kemudian dilakukan saponifikasi dengan menambahkan larutan KOH 15% dalam metanol sebanyak 5 mL, dikocok dan didiamkan semalam.

Hasil saponifikasi tersebut diekstraksi kembali dengan eter sebanyak 3 x 25 mL. Hasil ekstraksi kemudian diukur pHnya (ph = 7). Setelah diperoleh pH 7, ekstrak diuapkan hingga diperoleh ekstrak yang kental.

4. Pembuatan Pereaksi

a. Pembuatan larutan iodium 1%

Ditimbang iodium P sebanyak 2 gram dan dilarutkan kedalam larutan 3 gram kalium iodida P, kemudian dicukupkan dengan air suling hingga 100 mL.

b. Pembuatan pereaksi ammonium molibdat 5%

Sebanyak 5 g ammonium molibdat dilarutkan dalam 100 mL air suling.

c. Pembuatan Asam sulfat pekat 5%

Sebanyak 5,26 mL asam sulfat pekat dilarutkan dalam 100 mL air suling, lalu dihomogenkan.

d. Pembuatan asam oksalat 0,4%

Ditimbang 2 g asam oksalat, dimasukkan kedalam labu ukur 500 mL, kemudian diarturkan dalam 50 mL air suling, dikocok hingga larut, kemudian dicukupkan volumenya hingga 500 mL.

e. Pembuatan larutan KOH 15% b/v dalam metanol

Ditimbang 1,5 g KOH, dilarutkan dalam 25 mL metanol hingga larut, kemudian dicukupkan volumenya hingga 10 mL dengan metanol.

f. Pembuatan larutan fase gerak

Larutan fase gerak yang digunakan adalah eter: benzene (9:1). Benzene dipipet 3 mL kemudian dicampur dengan 27 mL eter dalam botol eluen, dikocok hingga homogen.

5. Analisis Kualitatif

a. Vitamin C

1. Pereaksi Iodium

Sampel mengandung vitamin C jika ditambahkan dengan pereaksi iodium dan warna iodium akan hilang.

2. Pereaksi ammonium molibdat 5%

Sampel mengandung vitamin C jika sampel ditambahkan dengan pereaksi ammonium molibdat 5%, terbentuk warna biru molibden

b. β -Karoten

Pembandingan β -karoten baku dan sampel ditotolkan bersama-sama pada lempeng KLT. Setelah kering lempeng KLT dimasukkan kedalam chamber kemudian dielusi dengan menggunakan cairan pengelusi eter : benzene (9:1). Selanjutnya lempeng KLT dikeluarkan dari chamber kemudian diamati noda dengan lampu UV 254 nm dan dengan penyemprotan H₂SO₄ 10%.

6. Analisis Kuantitatif

a. Vitamin C (Sudjarwo dkk., 2011)

1. Pembuatan larutan stok

Ditimbang dengan teliti 25 mg asam askorbat baku kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL lalu dilarutkan dengan asam oksalat 0,4% hingga 25 mL (1000 ppm).

2. Penentuan panjang gelombang maksimum

Dipipet 0,8 mL larutan vitamin C (1000 ppm), lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL (konsentrasi 80 ppm), lalu ditambahkan H₂SO₄ 5% sebanyak 4 mL, kemudian ditambahkan ammonium molibdat 5% sampai batas tanda dan dihomogenkan. Diinkubasi selama 30 menit, lalu diukur serapannya

dengan spektrofotometri UV-Visible pada rentang panjang gelombang 530 – 590 nm.

3. Pembuatan kurva baku

Larutan asam askorbat 1000 ppm dipipet sebanyak 7 kali yaitu 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7 dan 0,8 mL, masing-masing dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan H₂SO₄ 5% sebanyak 4 mL lalu dicukupkan volumenya dengan ammonium molibdat 5% sampai batas tanda, dikocok dan dihomogenkan (diperoleh konsentrasi 20; 30; 40; 50; 60; 70 dan 80 ppm), kemudian diinkubasi selama 30 menit. Diukur serapannya dengan spektrofotometri UV- Visible pada panjang gelombang 570 nm.

4. Pengukuran kadar vitamin C

Ditimbang 10 mg ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), kemudian dilarutkan dalam labu ukur 25 mL dengan etanol 96% lalu dicukupkan volumenya sampai batas tanda. Dipipet 1 mL larutan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL. Setelah itu ditambahkan 4 mL H₂SO₄ 5%, lalu dicukupkan volumenya hingga batas tanda dengan ammonium molibdat 5%, dikocok hingga homogen lalu diinkubasi 30 menit kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 570 nm. (dilakukan replikasi 3 kali).

b. β -Karoten (Naid dkk., 2012)

1. Pembuatan larutan stok

Ditimbang dengan teliti 10,0 mg β -karoten baku, dimasukkandalam labu tentukur 10 mL.

dilarutkan dengan eter lalu dicukupkan sampai batas tanda. Diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm.

2. Penentuan panjang gelombang maksimum

Diambil salah satu konsentrasi larutanbaku, diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 420 – 480 nmmenggunakan spektrofotometer.

3. Pembuatan kurva baku

Dari larutan 1000 ppm dipipet 0,125; 0,150; 0,175; 0,200; 0,225 dan 0,250 mL, kemudian dimasukkan kedalam labu tentukur 5 mL dan dicukupkan volumenya hingga batas tanda. Diperoleh larutan baku dengan konsentrasi 25; 30; 35; 40; 45 dan 50 ppm. Masing-masing larutan baku tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 450 nm menggunakan spektrofotometer.

4. Pengukuran kadar β -karoten

Ditimbang 10 mg ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), kemudian masing-masing dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan eter lalu dicukupkan volumenya sampai batas tanda (1000 ppm). Dipipet 1 mL, larutan 1000 ppm lalu dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan eter sampai batas tanda (100 ppm).

Dipipet 1,0 mL larutan sampel dimasukkan kedalam labu tentukur 10 mL dan ditambahkan larutan eter hingga batas tanda, dikocok dan diukur serapannya pada panjang gelombang 450 nm (dilakukan replikasi 3 kali).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Tabel 1. Tabel analisis kualitatif Vitamin C pada daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Sampel	Pereaksi	Keterangan	Pustaka
Daun kelor	P1	Warna iod hilang	Positif (+)
	P2	Warna biru molibden	Positif (+)

Keterangan : - P1 : Pereaksi Iod1% - P2 : Pereaksi ammonium molibdat 5%

Tabel 2. Tabel analisis kuantitatif Vitamin C pada daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Sampel	Berat sampel (mg)	Serapan (A)	Kadar (mg/g)	Kadar rata-rata (mg/g)
Daun kelor	0,0102	0,471	7,96	7,96
	0,0101	0,497	8,71	
	0,01	0,437	7,22	

Tabel 3. Tabel analisis kualitatif β -karoten pada daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Penampak Noda	Nilai RF		Warna Noda	
	Baku (cm)	Sampel (cm)	Baku	Sampel
UV 254 nm	0,78	0,74	Kuning	Kuning
Penyemprotan H ₂ SO ₄ 5%	0,78	0,74	Kuning	Kuning

Tabel 4. Tabel analisis kuantitatif β -karoten pada daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Sampel	Berat sampel (g)	Serapan (A)	Kadar (mg/g)	Kadar rata-rata (mg/g)
	0,0104	0,217	2,77	
Daun kelor	0,0102	0,243	5,66	3,31
	0,0102	0,205	1,52	

B. Pembahasan

Tanaman kelor merupakan tanaman yang hampir tidak bernilai dan hanya dimanfaatkan sebagai pagar tanaman. Namun di beberapa daerah di Sulawesi, kelor banyak dimanfaatkan sebagai sayur. Tanaman kelor tumbuh subur pada daerah yang memiliki curah hujan tinggi.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Rizka dkk. (2005), daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menunjukkan adanya senyawa alkaloid dan steroid/triterpenoid. Berdasarkan hasil pengamatan pada spektrofotometri UV-Vis diduga terdapat senyawa karotenoid dan turunan karotenoid. Sedangkan menurut Fuglie (2001), daun kelor merupakan sumber provitamin A, vitamin B, vitamin C dan zat besi.

Vitamin merupakan senyawa organik yang sangat penting dalam mempengaruhi proses metabolisme. Vitamin diperlukan tubuh dalam jumlah kecil untuk mempertahankan kesehatan, tetapi vitamin tidak dapat dibuat oleh tubuh manusia. Oleh karena itu harus diperoleh dari bahan pangan atau sediaan multivitamin (Andarwulan dan Koswara, 1992).

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis kadar vitamin C dan β -karoten dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), sampel diolah dengan cara dimasereasi. Metode ini merupakan salah satu metode penarikan senyawa kimia yang dilakukan pada suhu ruangan. Metode ini sangat menguntungkan dalam mengisolasi senyawa bahan alam karena pada saat peredaman sampel terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik (Sudjadi, 1986).

Dalam penelitian ini, dilakukan analisis kadar vitamin C, sampel diekstraksi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh dilakukan uji kualitatif dan uji kuantitatif dimana uji kualitatif dilakukan dengan menggunakan pereaksi spesifik vitamin C, yaitu pereaksi iodium dan ammonium molibdat 5%. Sampel direaksikan dengan iodium, maka warna iodium akan hilang. Hal ini disebabkan karena putusannya ikatan antara Oksigen dan Hidrogen pada vitamin C membentuk 2 molekul hidrogen dan 1 molekul iodium. Sedangkan untuk sampel ditambahkan dengan ammonium molibdat 5% menghasilkan kompleks berwarna biru molibden.

Uji kuantitatif vitamin C dilakukan dengan penetapan kadar secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 570 nm dengan menggunakan ammonium molibdat sebagai senyawa yang mampu memberikan warna pada vitamin C sehingga absorbannya dapat terukur di daerah visible. Pada uji ini, digunakan vitamin C baku sebagai pembanding dan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebagai sampel uji, dimana untuk pembanding dibuat 7 seri konsentrasi (20, 30, 40, 50, 60, 70 dan 80 ppm). Masing-masing konsentrasi ditambahkan 4 mL asam sulfat 5%. Penambahan asam sulfat bertujuan untuk memberikan suasana asam pada saat reaksi pembentukan warna, lalu dicukupkan volumenya dengan ammonium molibdat 5% sampai batas tanda. Kemudian diinkubasi selama 30 menit. Hal ini dilakukan agar selama masa inkubasi, terjadi reaksi yang sempurna antara vitamin C dan ammonium molibdat. Setelah itu dilakukan pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 570 nm diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0949x + 0,1621$ dengan nilai koefisien determinasi 0,9905.

Setelah itu dilakukan pengukuran kadar vitamin C, ditimbang 10,0 mg sampel sebanyak 3 kali (replikasi 1, 2 dan 3), kemudian dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 25 mL. Dari masing-masing replikasi dipipet 1 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan ammonium molibdat 5% sampai batas tanda. Kemudian diinkubasi selama 30 menit lalu diukur serapannya pada panjang gelombang 570 nm, diperoleh kadar rata-rata vitamin C yaitu 7,96mg/g.

Pada analisis kadar β -karoten, sampel yang telah diekstraksi dengan aseton, dikumpulkan. Kemudian diuapkan hingga kurang lebih 5 mL, lalu diekstraksi kembali dengan eter sebanyak 3 x 25 mL. Hasil ekstraksi kemudian diuapkan hingga 5 mL, lalu disaponifikasi dengan menambahkan larutan KOH 15% b/v dalam metanol lalu dikocok dan didiamkan semalam. Hal ini dilakukan agar asam-asam lemak yang ada pada ekstrak ikut terlarut bersama KOH 15% b/v dalam metanol. Hasil saponifikasi, diekstraksi kembali dengan eter sebanyak 3 x 25 mL. Ekstrak yang diperoleh ditampung dalam gelas kimia, kemudian diukur pH nya ($\text{pH}=7$). Setelah dicapai pH netral, ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental inilah yang akan dilakukan uji kualitatif dan uji kuantitatif. Uji kualitatif dilakukan dengan cara sampel dan pembanding (β -karoten baku) masing-masing ditotolkan pada lempeng KLT, kemudian dielusi dengan menggunakan eluen eter : benzene (9:1). Pada lempeng muncul noda berwarna kuning dengan nilai R_f sampel 0,781 cm dan nilai R_f baku 0,745 cm. Hal ini menunjukkan bahwa sampel positif mengandung β -karoten.

Uji kuantitatif β -karoten dilakukan dengan penetapan kadar secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 450 nm. Pada uji ini, digunakan β -karoten baku sebagai pembanding dan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebagai sampel uji, dimana untuk pembanding dibuat 5 seri konsentrasi (25, 30, 35, 40, 45 dan 50 ppm). Masing-masing konsentrasi dilakukan pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 450 nm. Diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0901x + 0,1908$ dengan nilai koefisien determinasi 0,9939.

Setelah itu dilakukan pengukuran β -karoten, ditimbang 10,0 mg ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), kemudian dilarutkan dengan eter dalam labu ukur 10 mL (1000 ppm). Dari konsentrasi 1000 ppm, diencerkan sampai 100 ppm dengan cara dipipet 1 mL, lalu dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, lalu dicukupkan volumenya sampai batas tanda dengan eter (dilakukan replikasi 3 kali). Diukur serapannya pada panjang gelombang 450 nm dan diperoleh kadar rata-rata β -karoten yaitu 3,31mg/g.

IV. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa daun kelor mengandung Vitamin C dan β -karoten dengan kadar vitamin C yaitu 7,96 mg/g dan kadar β -karoten yaitu 3,31 mg/g.

DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan dan Koswara., 1992. *Kimia Vitamin*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Arifin, H., Delvita, V., Almahdy, 2007, Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, *Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Vetus Mencit Diabetes*, **12** : 32.
- Englberger, L., Schierle, J., Kraemer, K., Aalbersberg, W., Dolodolotawake, U., Humphries, J., Graham, R., Reid, A.P., Albert, K., Levendusky, A., Johnson, E., Paul, Y., Sengebau, F., 2008, JFCA, *Carotenoid and Mineral Content of Micronesian Giant Swamp Taro (Cytosperma) Cultivars* **21** : 96
- Fuglie, L.J. (ed)., 2001, *The Miracle Tree: Moringa oleifera: Natural Nutrition for the Tropics*. Training Manual., Church World Service, Dakar, diakses pada 5 september 2014. <Senegal.www.moringatrees.org/moringa/miracletree.htm>
- Krisnadi, A.D., 2013, *Kelor Super Nutrisi*, Pusat Informasi dan Pengembangan Tanaman Kelor Indonesia (LSM-MEPELING), Kunduran, Blora, Jawa tengah.
- Meyne, S.T., 1996, FASEB J, Beta-Carotene, Carotenoids, and Disease Prevention In Humans, **10** : 690
- Naid, T., Muflihunna, A., Madi, M.I.O., 2012, Majalah Farmasi dan Farmakologi, *Analisis kadar β -karoten Pada Buah Pare (Momordica charantia L.) Asal Ternate Secara Spektrofotometri UV-Vis*, **16**:127-130.
- Poedjadi, A., dan Suprianti, T>F>M., 2005, *Dasar-Dasar Biokimia*, UI Press, Jakarta.
- Rizka, U.Y., Ruslan ,K., Nawawi, A., 2005, "Telaah Fitokimia Daun Kelor", Skripsi, S.Si., Sekolah Farmasi ITB <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>

- Sudjaji.,1986. *Metode Pemisahan*, UGM-Press, Yogyakarta.
- Sudjarwo dkk., 2012, *Optimization and Validation of Visible spectrofotometric Method For Determination Ascorbic Acid In Jeruk Bali (Citrus maxima) Fruit*, Airlangga University, Surabaya
- Simbolan, M.J., Sitorus, M., & Katharina, N., 2008, *Cegah Malnutrisi dengan Kelor*, Penerbit Kansius, Yogyakarta.
- Waligo, M., 2005, *AJFAND, Role of Vitamin C (Ascorbic acid) on Human Health*, **5** : 2
- Widowati, W., 2008, *Jurnal Kesehatan Masyarakat, Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes*, **7** : 193-202.