



Inhibición de la enzima alfa glucosidasa por los extractos etanólicos de canela y clavo de olor para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos

Inhibition of alpha-glucosidase enzyme by ethanolic extracts of cinnamon and clove for the development of new therapeutic agents.

José Alberto Aranda-Ventura¹, Germán González-Aspajo¹, Jorge Ysaac Villacrés-Vallejo¹

¹ Instituto de Medicina Tradicional, EsSalud. Iquitos, Perú

RESUMEN

Syzygium aromaticum y *Cinnamomum zeylanicum* son plantas usadas tradicionalmente por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, digestivas e hipoglucémicas que ayudan a disminuir el apetito y a controlar los niveles de azúcar en la sangre. Este artículo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la concentración inhibitoria media (IC50) de canela y clavo en la actividad de la enzima alfa-glucosidasa. La capacidad inhibitoria in vitro de los extractos se evaluó con el método de inhibición de la enzima α -glucosidasa para determinar la concentración inhibitoria media (IC50). Los resultados mostraron que tanto la canela como el clavo de olor exhibieron una fuerte actividad inhibitoria contra la α -glucosidasa, con valores de IC50 más bajos, 1.230.20 y 0.350.07 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, en comparación con el fármaco de referencia acarbose 513.115.44 $\mu\text{g/mL}$. Este estudio proporciona evidencia que respalda los efectos inhibitorios de la canela y el clavo de olor sobre la actividad de la α -glucosidasa y resaltan la necesidad de más investigación para determinar la dosis óptima y los mecanismos de acción de estos extractos. En última instancia, este conocimiento podría contribuir al desarrollo de tratamientos más efectivos para la diabetes mellitus tipo 2, y podría abrir nuevas vías para el desarrollo de terapias basadas en productos naturales.

Palabras claves: α -glucosidasa, *Syzygium aromaticum* y *Cinnamomum zeylanicum*, agentes terapéuticos, diabetes. (DeCS BIREME, MeSH)

ABSTRACT

Syzygium aromaticum and *Cinnamomum zeylanicum* are plants traditionally used for their antioxidant, anti-inflammatory, digestive, and hypoglycemic properties, which help reduce appetite and control blood sugar levels. This article aimed to evaluate the effect of the average inhibitory concentration (IC50) of cinnamon and clove on the activity of the alpha-glucosidase enzyme. The in vitro inhibitory capacity of the extracts was evaluated using the alpha-glucosidase enzyme inhibition method to determine the average inhibitory concentration (IC50). The results showed that both cinnamon and clove exhibited strong inhibitory activity against alpha-glucosidase, with lower IC50 values, 1.23 ± 0.20 and $0.35\pm 0.07\mu\text{g/mL}$, respectively, compared to the reference drug acarbose ($513.11\pm 5.44\mu\text{g/mL}$). This study provides evidence supporting the inhibitory effects of cinnamon and clove on alpha-glucosidase activity and highlights the need for further research to determine the optimal dosage and mechanisms of action of these extracts. Ultimately, this knowledge could contribute to the development of more effective treatments for type 2 diabetes mellitus and could open new avenues for the development of therapies based on natural products.

Keywords: α -glucosidase, *Syzygium aromaticum* y *Cinnamomum zeylanicum*, therapeutics agents, diabetes. (DeCS BIREME, MeSH)

Información del artículo

Fecha de recibido

24 de octubre del 2023

Fecha de aprobado

10 de diciembre del 2023

Correspondencia

Germán González-Aspajo
gergonza.a@gmail.com

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Contribuciones de autoría

JAV ha participado en la concepción y diseño del artículo, en la interpretación de datos, su redacción y aprobación de la versión final. GGA ejecutó el estudio experimental y se encargó de la recolección de los resultados, se encargó de la redacción, análisis estadístico e interpretación de datos, además, participó en la revisión crítica del artículo y aprobación del artículo final. JVV ha participado en la recolección de la especie vegetal y su identificación taxonómica, colaboró con la logística del estudio y participó en la revisión crítica del artículo.

Financiamiento

Instituto de Medicina Tradicional de EsSalud

Citar como:

Aranda-Ventura JA. Inhibición de la enzima alfa glucosidasa por los extractos etanólicos de canela y clavo de olor para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos. Rev Peru Med Integrativa. 2023;8(4):X-X.

INTRODUCCIÓN

La Diabetes es un trastorno metabólico caracterizado por hiperglucemia permanente, causada por defectos en la secreción o acción de la insulina. La hiperglucemia crónica está asociada con el daño, disfunción y fallo de varios órganos (1). Se proyecta que para el año 2035 habrá aproximadamente 471 millones de personas afectadas por esta enfermedad (2).

Actualmente, existen diferentes tratamientos para la diabetes, que incluyen cambios en el estilo de vida, el uso de medicamentos hipoglucemiantes orales o productos biotecnológicos, y trasplantes de páncreas. La estrategia principal para el manejo de la diabetes es reducir la hiperglucemia posprandial. Una forma de lograr esto es mediante el uso de inhibidores de la α -glucosidasa, como el acarbosa, que se han utilizado para controlar el aumento de los niveles de glucosa en la sangre, especialmente después de las comidas, en personas con diabetes. Sin embargo, los tratamientos actuales para la diabetes siguen siendo insuficientes, por lo que la prevención es un enfoque preferible (3).

Recientemente se ha demostrado que las plantas desempeñan un papel importante en el cuidado de la salud. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que aproximadamente el 80% de la población en países en desarrollo utiliza regularmente medicina tradicional, en su mayoría derivada de plantas, como parte de su atención primaria de salud. La medicina tradicional también desempeña un papel importante en el cuidado de la salud de aproximadamente el 20% restante de la población en economías emergentes y algunos países desarrollados (4).

Existen plantas que se han utilizado como especias en la alimentación, los cuales contienen compuestos terpenoides que tienen una potente actividad antimicrobiana. Algunas de las especias destacados son: canela (*Cinnamomum zeylanicum*), clavo (*Syzygium aromaticum*), eucalipto (*Eucalyptus* spp), menta (*Mentha spicata*), orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Salvia rosmarinus*) (5–7).

La canela y el clavo de olor son especias ampliamente utilizadas en la cocina debido a su aroma y sabor distintivos. Además de su uso culinario, se ha demostrado que estas especias poseen propiedades medicinales, incluyendo actividad antioxidante (8,9), antimicrobiana (10), y antiinflamatoria (11). Estas plantas contienen compuestos bioactivos, como el eugenol presente en el clavo de olor y el cinamaldehído presente en la canela (12). Sin embargo, hasta el momento, no se ha determinado la dosis óptima de canela y clavo de olor para lograr este efecto inhibitorio máximo.

El uso de plantas con fines medicinales proviene de nuestras comunidades nativas, donde se transmite de generación en generación (etnomedicina), sin embargo, no podemos ignorar los avances científicos y tecnológicos que han llevado a una mejor comprensión del comportamiento de la naturaleza. A pesar de los estudios previos, aún existen vacíos en el conocimiento, por ejemplo, no se ha investigado suficientemente el efecto de la combinación de estas especias sobre la actividad de esta enzima, además, se desconoce si existen interacciones entre la canela, el clavo de olor y otros medicamentos utilizados en el tratamiento de la diabetes. En este contexto, es importante investigar rigurosamente estas plantas medicinales para determinar su seguridad, efectividad, dosis efectiva y su relevancia en el tratamiento de la diabetes mellitus.

METODOLOGÍA

Diseño experimental y Área de estudio

Estudio experimental de tipo prospectivo, analítico, realizado en Instituto de Medicina Tradicional (IMET) del Seguro Social de Salud (EsSalud), Iquitos, Perú.

Reactivos

La enzima α -glucosidasa (G5003), acarbosa (A8980) y el sustrato p-Nitrofenil- α -D-glucopiranosido (N1377) fueron adquiridas de la compañía SIGMA ALDRICH (St. Louis, MO, USA), Carbonato de sodio (A1753192219), adquirido de SULPELCO, MERK.

Tabla 1. Concentraciones y volúmenes de los blancos de las muestras y del control.

Reactivos	Estándar	Acarbosa [mg/mL]			Muestra [mg/mL]			
		1	0.5	0.25	1	0.1	0.01	0.001
Buffer fosfato de potasio pH 6.8 (μ L)	400	350	350	350	350	350	350	350
Inhibidor/muestra (μ L)	-	50	50	50	50	50	50	50
α -GLC (μ L)	-	-	-	-	-	-	-	-
p-NGP (μ L)	100	100	100	100	100	100	100	100
Incubación a 37°C por 20 min								
Na_2CO_3 (μ L)	500	500	500	500	500	500	500	500
Leer las absorbancias a 400 nm								

Tabla 2. Concentraciones y volúmenes de los blancos de las muestras y del control.

Reactivos	Estándar	Acarbosa [mg/mL]			Muestra (n) [mg/mL]			
		1	0.5	0.25	1	0.1	0.01	0.001
Buffer fosfato de potasio pH 6.8 (µL)	380	330	330	330	330	330	330	330
Inhibidor/muestra (µL)	-	50	50	50	50	50	50	50
α-GLC (µL)	20	20	20	20	20	20	20	20
p-NGP (µL)	100	100	100	100	100	100	100	100
Incubación a 37°C por 20 min								
Na ₂ CO ₃ (µL)	500	500	500	500	500	500	500	500
Leer las absorbancias a 400 nm								

Tabla 3. Tamizaje fitoquímico de los extractos de *S. aromaticum* y *C.*

Metabolito	Ensayo	<i>S. aromaticum</i>	<i>C. zeylanicum</i>
Antocianinas	Prueba cualitativa	++	++
	Reacción de Dragendorff	+++	+++
Alcaloides	Reacción de Mayer	+++	+++
	Reacción de Wagner	++	++
Lactonas	Reacción de Baljet	+	-
Flavonoides	Reacción de Shinoda	++	++
Aminoácidos	Reacción de Ninhidrina	-	-
Cardenólidos	Reacción de Kedde	+	+
Esteroides	Reacción de Liebermann – Burchard	-	-
Saponinas	Reacción de espuma	-	-
Taninos	Reacción con cloruro férrico	+++	++
Triterpenos	Reacción de Liebermann – Burchard	-	-
Azúcares Reductores	Reacción de fehling	+++	+++
Fenoles	Reacción de cloruro férrico	+++	++

Tabla 4. IC₅₀ de los extractos etanólicos de *S. aromaticum* y *C. zeylanicum*.

Nº	Extracto	IC ₅₀ (ug/mL)	
		Media	SD
1	<i>S. aromaticum</i>	0.35	0.07
2	<i>C. zeylanicum</i>	1.23	0.20
3	Acarbosa	513.11	5.44

Ensayos realizados por triplicado

Material vegetal

Se utilizaron flores de la especie *Syzygium aromaticum* (L) Merr. & L.M. Perry (Clavo de olor) y corteza de la especie *Cinnamomum zeylanicum* Blume. (Canela), recolectada en enero 2021 en la provincia de Oxapampa, distrito Puerto Bermúdez, Departamento Pasco. Coordenadas geográficas: 10° 17' 46" Sur, 74° 56' 16" Oeste. Altura promedio 250 m.s.n.m.

Las identificaciones taxonómicas de las especies fueron realizadas por el Herbarium Amazonense (AMAZ) del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, en la ciudad de Iquitos. El espécimen *S. aromaticum* (L) Merr. & L.M. Perry y *C. zeylanicum* Blume, y codificada con número de voucher 029636 y 20,234, respectivamente.

Preparación de los extractos acuosos.

Se utilizaron las flores de la especie *S. aromaticum* (L) Merr. & L.M. Perry (Clavo de olor) y cortezas de la especie *C. zeylanicum* Blume. (Canela), las cuales fueron limpiadas y acondicionadas en el ambiente de secado a una temperatura entre 37 - 40°C utilizando un equipo deshumidificador marca IMACO® durante 72 horas; posteriormente las muestras secas fueron molidas y tamizadas (350 y 500um). El polvo obtenido fue puesto en una solución etanólica al 70% (500g en 2L de agua), y conservado en recipiente de vidrio oscuro por siete días en refrigeración, durante este periodo se debe agitar la solución. El extracto obtenido, fue filtrado primero en un tamiz fino y luego en papel filtro (tamaño del poro dos micras, diámetro 150mm) para ser concentrado en un rotavapor a 50°C y 50rpm. Posteriormente, el extracto fue desecado en una estufa marca MEMMERT® a 50°C y luego conservado en frascos de vidrio oscuro entre 4 - 8°C. Este proceso se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia del Instituto de Medicina Tradicional (IMET) del Seguro Social de Salud (EsSalud).

Tamizaje Fitoquímico

El análisis fitoquímico para la determinación de alcaloides, flavonoides, esteroides, azúcares reductores, glucósidos cardíacos, terpenoides, antraquinonas, taninos, flobataninas y saponinas se utilizaron métodos estándares (13).

Se realizó la marcha fitoquímica del extracto acuoso de la corteza de *S. aromaticum* y *C. zeylanicum* usando métodos cualitativos. Para evaluar la presencia de antocianinas se usó el ensayo prueba cualitativa; para los alcaloides se usaron los ensayos: reacción de Dragendorff, reacción de Mayer, reacción de Wagner. Para evaluar la presencia de lactonas, flavonoides, aminoácidos, cardenólidos, esteroides, saponinas, taninos, triterpenos, azúcares reductores y fenoles, se usaron los siguientes ensayos respectivamente: reacción de Baljet,

reacción de Shinoda, reacción de Ninhidrina, reacción de Kedde, reacción de Liebermann-Burchard, reacción de espuma, reacción con cloruro férrico, reacción de Liebermann- Burchard, reacción de Fehling y reacción con cloruro férrico. Estas evaluaciones se fueron realizadas en el Centro de Control Analítico (CCA) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), Lima.

Actividad inhibidora de la α-glucosidasa

Este método propone la evaluación de la actividad inhibitoria de los extractos etanólicos de *S. aromaticum* y *C. zeylanicum* contra la enzima α-Glucosidasa (α-GLC), el cual consiste en la hidrólisis enzimática del sustrato de origen sintético, p-Nitrofenil-α-D-glucopiranosido (p-NGP) por acción de la α-Glucosidasa (α-GLC), que libera unidades de p-nitrofenolato y α-D-glucosa. Esta liberación de iones, p-nitrofenolato, presenta una coloración amarillo claro que evidencia que la reacción de hidrólisis enzimática sea llevada a cabo (14,15).

Se prepararon soluciones madres a una concentración de 10mg/mL, de la cual se realizaron las diluciones seriadas con un factor de dilución (FD) de 1/10. Las concentraciones evaluadas fueron 1; 0.1; 0.01 y 0.001mg/mL, a excepción de la acarbosa (control) se evaluó a 1, 0.5 y 0.25mg/mL Ver Tablas 01 y 02.

Las evaluaciones del efecto inhibitorio fueron realizadas en tubos de ensayo de vidrio 12 x 75mm esterilizados y las lecturas fueron realizadas con un espectrofotómetro marca JENWAY, modelo 6400, China.

El porcentaje de inhibición fue calculado usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{inhibición} = \{1 - [(B - D)/(A - C)]\} * 100$$

Donde B es la absorbancia de la muestra, D es la absorbancia del blanco de la muestra, A es la absorbancia del control uno (estándar) y C es la absorbancia del control dos (blanco del estándar). Los resultados de inhibición se expresan como la concentración media inhibitoria (IC₅₀), que es una medida de la eficacia de un compuesto en la inhibición de la función bioquímica.

El análisis Probit, para determinar los IC₅₀, se realizó en una hoja de cálculo con el programa Microsoft Excel versión 16.75, los ensayos son realizados por triplicado y los valores de los datos son expresados como la media ± desviación estándar. Se consideró que el valor de selección de los productos con mejor efecto inhibitorio a los productos cuyos valores de IC₅₀ < 50ug/mL (16).

RESULTADOS

Tamizaje fitoquímico

En la Tabla 03, se observa los resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos etanólicos se muestran, donde se determinó que la familia química mayoritaria para el extracto *S. aromaticum* fueron: alcaloides, taninos, azúcares reductores y fenoles, mientras que para el extracto *C. zeylanicum* fueron: alcaloides y azúcares reductores.

Efecto inhibitorio de los extractos etanólicos de *S. aromaticum* y *C. zeylanicum* sobre la actividad de la enzima α -glucosidasa

En la Tabla 04, se observan los resultados del test de inhibición de la enzima α -glucosidasa de los extractos evaluados. Los valores de IC50 (concentración del extracto o compuesto químico que inhibe el 50% de la actividad enzimática de la α -GLC), cuanto menor sea, se considera que el compuesto o formulación tiene mejor efecto inhibiendo esta enzima a nivel *in vitro*, teniendo como referencia el valor de IC50 del fármaco control (acarbose). Los resultados muestran que los valores de IC50 de los extractos evaluados contra la α -GLC fueron más bajos que los mostrados por acarbose, siendo el *S. aromaticum* el extracto más activo, sin embargo, ambos extractos suprimieron potentemente la actividad de esta enzima, pudiendo considerarse como candidatos promisorios para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos.

DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la concentración inhibitoria media (IC50) de canela (*C. zeylanicum*) y clavo de olor (*S. aromaticum*) sobre la actividad de la enzima α -glucosidasa, que es de gran importancia para comprender el potencial de estos compuestos como inhibidores de enzimas.

Los resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos etanólicos de *S. aromaticum* revelaron la presencia de alcaloides, taninos, azúcares reductores y fenoles, mientras que el extracto de *C. zeylanicum* contenía principalmente, alcaloides y azúcares reductores. Estos hallazgos son consistentes con estudios anteriores que han informado de la presencia de estos constituyentes químicos en los extractos de canela y clavo (8). La presencia de alcaloides y azúcares reductores en ambos extractos de *C. zeylanicum* y *S. aromaticum* puede contribuir a su efecto inhibitorio sobre la actividad de la α -GLC.

La actividad inhibitoria de *C. zeylanicum* y *S. aromaticum* puede atribuirse a la presencia de compuestos bioactivos en estos extractos. Estudios han identificado compuestos como el eugenol y el cinamaldehído de *S. aromaticum*, y el cinamaldehído y la cumarina de *C. zeylanicum*, han demostrado tener propiedades inhibitorias contra enzimas relacionadas con el metabolismo de los carbohidratos. (17), estos compuestos podrían interactuar con la enzima α -GLC y afectar su actividad, lo que resultaría en la inhibición de la descomposición de carbohidratos complejos. Coherente con nuestros resultados, los extractos de *C. zeylanicum* como *S. aromaticum* suprimieron de manera significativa la actividad de esta enzima, con valores de IC50 más bajos que el fármaco de referencia acarbose, lo que sugieren la presencia de compuestos bioactivos ejercen efecto inhibitorio sobre la actividad de la α -GLC.

Además de su actividad antidiabética, se han encontrado que las especies *C. zeylanicum* y *S. aromaticum* poseen propiedades antibacterianas (18–20), antifúngicas (21) y antioxidantes (22).

Estos estudios investigaron la actividad antibacteriana, antifúngica y antioxidante de los aceites esenciales de estas especies vegetales.

in embargo, es importante señalar que algunos estudios presentan variabilidad en los resultados obtenidos en cuanto a la concentración inhibitoria media (IC50) de los extractos de *C. zeylanicum* y *S. aromaticum* sobre la actividad de la enzima α -GLC. Por ejemplo, Trifan *et al.*, 2021 (17), evaluaron el efecto de diferentes extractos de *C. zeylanicum* sobre la actividad de esta enzima y encontraron valores de IC50 que oscilaban entre 1.23 y 1.77 mg/mL. Estos resultados sugieren que la concentración óptima de *C. zeylanicum* para inhibir la actividad enzimática puede variar según las condiciones experimentales y la fuente de canela utilizada.

Es importante destacar que la dosis óptima de *C. zeylanicum* y *S. aromaticum* para ejercer un efecto inhibitorio máximo sobre la actividad de la α -GLC aún no se ha establecido. Aunque nuestros resultados muestran una actividad inhibitoria significativa, se necesitan estudios adicionales para determinar la dosis más efectiva y segura de estos compuestos. Además, se requiere una comprensión más profunda de los mecanismos mediante los cuales estos extractos ejercen su efecto inhibitorio sobre esta enzima.

CONCLUSIÓN

Nuestros hallazgos respaldan la evidencia existente sobre el efecto inhibitorio que tiene *C. zeylanicum* y *S. aromaticum* sobre la actividad de la α -GLC. Sin embargo, existe variabilidad en los resultados obtenidos en cuanto a la concentración inhibitoria media (IC50) de estos compuestos en relación a lo reportado por otros autores. Esto podría deberse a diferencias en las condiciones experimentales y en las fuentes de los compuestos utilizados. Por lo tanto, se necesita más investigación para determinar la dosis óptima de estos compuestos y para comprender mejor los mecanismos de acción involucrados. Estos resultados podrían tener importantes implicaciones en el tratamiento de la diabetes y podrían abrir nuevas oportunidades para el desarrollo de terapias basadas en compuestos naturales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Diabetes DOF. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2012;35(SUPPL. 1).
2. Beckman J. *Global E&P*. Vol. 76, Offshore. 2016. 1 p.
3. Mitra A. Some Salient Points in Dietary and Life-Style Survey of Rural Bengal Particularly Tribal Populace in Relation to Rural Diabetes Prevalence. *Studies on Ethno-Medicine*. 2008;2(1):51–6.
4. Ranilla LG, Kwon YI, Apostolidis E, Shetty K. Phenolic compounds, antioxidant activity and *in vitro* inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresour Technol* [Internet]. 2010;101(12):4676–89. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.093>
5. Condò C, Anacarso I, Sabia C, Iseppi R, Anfelli I, Forti L, *et al*. Antimicrobial activity of spices essential oils and its effectiveness on mature biofilms of human pathogens. *Nat Prod Res* [Internet]. 2020;34(4):567–74. Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1490904>
6. Firmino DF, Cavalcante TTA, Gomes GA, Firmino NCS, Rosa LD, De Carvalho MG, *et al*. Antibacterial and Antibiofilm Activities of *Cinnamomum Sp.* Essential Oil and

- Cinnamaldehyde: Antimicrobial Activities. *Scientific World Journal*. 2018;2018.
7. Dhakad AK, Pandey V V, Rawat JM. Biological, medicinal and toxicological significance of. *J Sci Food Agri* [Internet]. 2018;98(3):833–48. Available from: <https://doi.org/10.1002/jsfa.8600>
 8. López-Martínez L, Gómez-Oliván L, Dublán-García O, Sevilla-Asencio O. Actividad inhibitoria sobre α -glucosidasa y α -amilasa de extractos acuosos de algunas especies utilizados en la cocina mexicana. *CienciaUAT*. 2013;8(1):42–7.
 9. Binduheva U, Negi P. Efficacy of cinnamon oil to prolong the shelf-life of pasteurised, acidified, and ambient stored papaya pulp. *Acta Aliment*. 2014;43(3):378–86.
 10. González M, Loroña D, Condolo L, Almeida M. Evaluation of Cinnamon Essential Oil as a Preservative Agent in the Postharvest Stage of Strawberries (*Fragaria Sp.*). *ESPOCH Congresses: The Ecuadorian Journal of STEAM*. 2021;1(1):374–96.
 11. Esmaeili F, Zahmatkeshan M, Yousefpoor Y, Alipanah H, Safari E, Osanloo M. Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of Cinnamon and Clove essential oils nanogels: an in vivo study. *BMC Complement Med Ther* [Internet]. 2022;22(1):1–10. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12906-022-03619-9>
 13. Kurniawati A, Yusiati LM, Widodo W, Artama WT. Study of Local Herb Potency as Rumen Modifier: Red Ginger (*Zingiber Officinale* Var. *Rubrum*) Addition Effect on In Vitro Ruminant Nutrient Digestibility. *Anim Prod*. 2020;21(1):30.
 14. Rajesh P, Latha S, Selvamani P, Kannan VR. Phytochemical Screening and Toxicity Studies on the Leaves of *Capparis sepiaria* Linn. (Capparidaceae). *J Basic Clin Pharm* [Internet]. 2009;1(1):41–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25206253> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4158893>
 15. Artanti N, Firmansyah T, Darmawan A. Bioactivities evaluation of Indonesian mistletoes (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) leaves extracts. *J Appl Pharm Sci*. 2012;2(1):24–7. S, Mittal A, Babu D, Mittal A. Herbal medicines for diabetes management and its secondary complications. *Curr Diabetes Rev*. 2020;17(4):437–456. doi: 10.2174/1573399816666201103143225
 16. Srianta I, Kusumawati N, Nugerahani I, Artanti N, Xu GR. In vitro α -glucosidase inhibitory activity of *Monascus*-fermented durian seed extracts. *Int Food Res J*. 2013;20(2):533–6.
 17. Trinh BTD, Staerk D, Jäger AK. Screening for potential α -glucosidase and α -amylase inhibitory constituents from selected Vietnamese plants used to treat type 2 diabetes. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2016;186:189–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.03.060>
 18. Trifan A, Zengin G, Brebu M, Skalicka-woźniak K, Luca SV. Phytochemical characterization and evaluation of the antioxidant and anti-enzymatic activity of five common spices: Focus on their essential oils and spent material extractives. *Plants*. 2021;10(12):1–23.
 19. Ginting EV, Retnaningrum E, Widiasih DA. Antibacterial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) and cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) essential oil against extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria. *Vet World*. 2021;14(8):2206–11.
 20. Ács K, Balázs VL, Kocsis B, Bencsik T, Böszörményi A, Horváth G. Antibacterial activity evaluation of selected essential oils in liquid and vapor phase on respiratory tract pathogens. *BMC Complement Altern Med*. 2018;18(1):1–9.
 21. Krumina G, Ratkevicha L, Vizma VN, Babarikina A, Babarykin D. Influence of plant extracts on the growth of oral pathogens *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* in vitro. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*. 2015;64(1):62–7.
 22. Lukovic J, Stepanovic M, Todorovic B, Milijasevic-Marcic S, Duduk N, Vico I, et al. Antifungal activity of cinnamon and clove essential oils against button mushroom pathogens *Cladobotryum dendroides* (Bull.) W. Gams & Hooz and *Lecanicillium fungicola* var. *fungicola* (Preuss) Hasebrauk. *Pesticidi i fitomedicina*. 2018;33(1):19–26.
 23. Zhang H, He P, Li X, Kang H. Antioxidant effect of essential oils on RTC pork chops and its evaluation by Raman spectroscopy. *J Food Process Preserv*. 2018;42(5):1–7.