

Efek Ekstrak Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) terhadap Uptake $^{14}\text{C-D}$ -Glukosa Otot pada Tikus Diabetes

Yayuk Andayani

Abstrak

Latar Belakang: Efek ekstrak buncis (*Phaseolus vulgaris*) terhadap ambilan $^{14}\text{C-D}$ -glukosa otot soleus telah diuji pada tikus diabetes induksi aloksan.

Metode: Metode peruntukan radioisotop dengan $^{14}\text{C-D}$ -glukosa digunakan untuk mengukur ambilan glukosa otot soleus, sedangkan metode enzimatik glukosa oksidase-peroksidase digunakan untuk menentukan kadar glukosa darah. Pengukuran dilakukan pada jam ke 1, 3 dan 5 setelah pemberian secara oral ekstrak buncis dengan dosis 300 mg/kg bb.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa ambilan $^{14}\text{C-D}$ -glukosa otot terbesar ($p < 0,001$) terjadi pada jam kelima setelah pemberian ekstrak. Efek ekstrak buncis terhadap ambilan $^{14}\text{C-D}$ -glukosa otot dua kali lebih kuat dibanding efek metformin yang digunakan sebagai pembandingan standar obat hipoglikemik oral.

Kesimpulan: Efek ekstrak buncis terhadap penurunan kadar glukosa darah maupun respon ambilan $^{14}\text{C-D}$ -glukosa otot yang dihasilkan lebih tinggi dibanding efek metformin.

Katakunci

ambilan glukosa, *Phaseolus vulgaris*, buncis, diabetes

Fakultas Farmasi Universitas Mataram

*e-mail: yayukmtr@gmail.com

1. Pendahuluan

Buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn) diyakini sangat potensial untuk dikembangkan menjadi sediaan bahan baku obat oral hipoglikemik karena beberapa penelitian sebelumnya melaporkan adanya khasiat sebagai bahan penurun kadar glukosa darah baik secara tradisional^{1,2} maupun dari hasil uji pada hewan model^{3,4} dan manusia.⁵

Tingginya kadar glukosa darah pada penderita diabetes salah satunya terjadi karena rendahnya ambilan glukosa ke dalam otot. Keadaan ini dapat terjadi karena kegagalan kerja insulin atau berkurangnya jumlah insulin. Beberapa tanaman yang mempunyai khasiat sebagai penurun kadar glukosa darah juga menunjukkan aktivitas stimulasi terhadap ambilan glukosa seperti pada ekstrak daun *Rhinacanthus*.⁶ Buncis yang mempunyai khasiat sebagai penurun kadar glukosa belum diketahui bagaimana mekanisme kerjanya. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak buncis terhadap ambilan glukosa pada tikus diabetes. Hasil ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah untuk mendukung pemamfaatan buncis sebagai bahan baku sediaan obat hipoglikemik oral.

2. Metode Penelitian

2.1 Persiapan ekstrak buncis

Buncis yang telah dikeringkan dimaserasi menggunakan pelarut alkohol (1:10) lalu disaring, sisa pelarut dihilangkan menggunakan rotavapor, dan dipekatkan dalam pemanas air pada temperatur 60°C sehingga dihasilkan ekstrak kental dengan kadar air rata-rata 10%. Ekstrak diberikan secara oral dengan dosis 300 mg/kg BB⁷, dan metformin digunakan sebagai obat pembandingan dengan dosis 200 mg/kgBB.

2.2 Persiapan hewan uji

Tikus diabetes dihasilkan melalui induksi dengan 5% (w/v) larutan aloksan monohidrat (Sigma, St.Louis, MO) dalam saline steril dengan dosis 125 mg/kg berat badan secara intra peritoneal⁸, sedangkan tikus hiperglikemik sesaat dihasilkan melalui induksi larutan glukosa 10% dengan dosis 3 g/kg BB diberikan secara subkutan sebanyak dua kali yaitu 30 dan 60 menit setelah pemberian ekstrak buncis.⁹

2.3 Analisa Kadar Glukosa Darah

Kadar glukosa darah ditentukan menggunakan metode enzimatik glukosa oksidase-peroksidase pada waktu 0, 1, 3 dan 5 jam setelah perlakuan. Absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 546 nm.

2.4 Pengukuran ambilan $^{14}\text{C-D}$ -Glukosa

Metode peruntukan radioisotop yang digunakan merupakan modifikasi metode.^{10,11} Kecepatan transpor glukosa

dihitung berdasarkan jumlah ambilan $^{14}\text{C-D}$ -glukosa yang dapat ditranspor masuk ke dalam otot soleus. Aktivitas dihitung menggunakan perangkat *software* pada alat *Liquid Scintillation Counter Wallac 1414* dengan sistem *Digital Spectrum Analysis (DSA)* dan *Digital Overlay Technique (DOT)*. Nilai aktivitas sampel merupakan aktivitas isotop yang tersisa setelah proses ambilan glukosa otot, sehingga ambilan glukosa yang masuk ke dalam otot merupakan selisih antara aktivitas awal isotop $^{14}\text{C-D}$ -glukosa dengan aktivitas sampel yang diukur.

Otot soleus dengan berat kira-kira 25-35 mg dimasukkan ke dalam tabung berisi 3 ml *Krebs-Ringer Bikarbonat Buffer* (KRBB), diinkubasi selama 30 menit, kemudian ditambahkan 50 μl larutan KRBB yang mengandung isotop $^{14}\text{C-D}$ -Glukosa (1 μCi /ml KRBB) dan diinkubasi dalam penangas air (37°C) sambil diaduk. Reaksi diakhiri dengan menambahkan 0,5 ml NaOH 0,5 M diinkubasi selama 45 menit, dinetralkan dengan 0,5 ml larutan HCl 0,5 M. Larutan disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Sebanyak 1 ml supernatan ditambahkan ke dalam 4ml cairan scintilasi (campuran 660 ml Triton X, 340 ml liter toluena, 5 g PPO dan 0,5 g/l POPO), kemudian aktivitas sampel dicounting selama satu menit menggunakan *Liquid Scintillation Counter*.

2.5 Analisis data

Data ditampilkan dalam bentuk nilai rerata dan dianalisis menggunakan ANOVA dan dinyatakan berbeda nyata pada taraf 1% atau 5%.

3. Hasil dan Pembahasan

Penurunan kadar glukosa darah terbesar (57,5%) terjadi pada tikus diabetes setelah 5 jam pemberian ekstrak buncis. Efek ekstrak buncis ini relatif lebih kuat dibanding efek metformin sebagai obat pembanding (48,47%) walaupun secara statistik tidak berbeda nyata ($p < 0,05$). Hasil uji sidik ragam menunjukkan bahwa efek ekstrak buncis maupun metformin lebih kuat ($p < 0,001$) dibanding efek salin pada tikus normal maupun tikus diabetes dalam rentang waktu yang sama (Tabel 1).

Tabel 1. Efek ekstrak buncis terhadap kadar glukosa darah (Rerata \pm SE, n=15)

Kelompok	KGD (mg/dL) pada jam ke			
	0	1	3	5
Normal	72,92 \pm	75,44 \pm	73,78 \pm	74,96 \pm
Salin	2,47	1,51	4,74	5,61
Diabetes	347,34 \pm	328,81 \pm	354,16 \pm	382,37 \pm
Salin	38,34	41,84	36,15	29,29
Diabetes	344,13 \pm	372,03 \pm	351,47 \pm	177,32 \pm
Metformin	28,69	44,64	18,60	46,32*
Diabetes	309,99 \pm	294,18 \pm	262,70 \pm	131,72 \pm
Buncis	35,01	62,01	39,01	32,98*

Efek penurunan kadar glukosa darah yang dihasilkan

oleh ekstrak buncis dosis 300 mg/kg bb dalam penelitian ini relatif sama dibanding dengan efek ekstrak buncis dosis 1,5 g/kg bb yang dilaporkan sebelumnya oleh.³ Fakta ini menunjukkan bahwa pemakaian ekstrak buncis dengan dosis tinggi nampaknya kurang efisien karena tidak menghasilkan peningkatan aktivitas antihiperqlikemik yang berarti.

Sasaran utama kerja insulin adalah otot skelet terutama sebagai tempat pembuangan glukosa *postprandial* pada jalur utilisasi glukosa. Setelah stimulasi, ambilan glukosa dalam sel otot diatur oleh kecepatan transpor glukosa yang difasilitasi suatu transporter glukosa yaitu GLUT4 dan GLUT1 di dalam membran plasma. Gangguan terhadap ambilan glukosa dapat disebabkan oleh gangguan pada kerja maupun jumlah insulin.

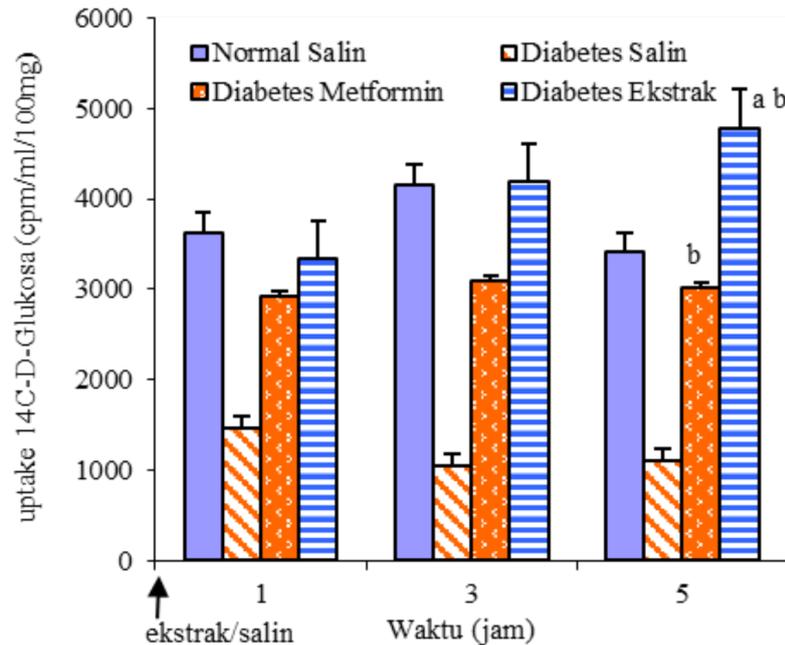
Hasil pengukuran ambilan $^{14}\text{C-D}$ -glukosa sebagai respon terhadap pemberian ekstrak buncis diberikan pada Tabel 2. Peningkatan ambilan $^{14}\text{C-D}$ -glukosa otot soleus pada tikus normal yang mendapat ekstrak buncis secara nyata ($P < 0,05$) terjadi pada jam kelima setelah perlakuan. Dibanding tikus normal yang hanya mendapat salin, respon ambilan $^{14}\text{C-D}$ -glukosa yang mendapat ekstrak buncis menunjukkan kecenderungan semakin meningkat.

Tabel 2. Respon ambilan glukosa setelah pemberian ekstrak buncis (Rerata \pm SE, n=15)

Kelompok	KGD (mg/dL) pada jam ke		
	1	3	5
Normal Sa-	3627,02 \pm	4155,62 \pm	3404,54 \pm
lin	406,89	520,91	409,79
Normal	3024,54 \pm	3389,69 \pm	4498,99 \pm
Buncis	505,29	485,56	689,15**
Hiperglikemik	4097,73 \pm	3391,64 \pm	3465,02 \pm
Buncis	296,41	464,47	574,15
Diabetes Sa-	1462,33 \pm	1053,35 \pm	1107,35 \pm
lin	678,54	422,19	409,88
Diabetes	2929,52 \pm	3145,46 \pm	3015,19 \pm
Metformin	551,10	572,80	517,67
Diabetes	3335,71 \pm	4183,38 \pm	4784,99 \pm
Buncis	463,08	696,00	381,50*

Dalam kondisi fisiologi normal, transpor glukosa merupakan suatu tahap pembatas kecepatan (*rate-limiting step*) utilisasi glukosa¹² yang distimulasi insulin dan hampir 70% terjadi pada otot skelet serta sebagian kecil lainnya pada jaringan adiposa.¹³ Adanya peningkatan ambilan glukosa pada tikus normal yang mendapat ekstrak buncis diduga sebagai efek aditif yang dihasilkan oleh ekstrak buncis terhadap aksi insulin sehingga glukosa lebih banyak ditranspor masuk ke dalam sel.

Efek ekstrak buncis terhadap ambilan $^{14}\text{C-D}$ -glukosa otot soleus tikus hiperglikemik tidak berbeda ($P < 0,05$) dibanding tikus normal (Tabel 2) walaupun terlihat adanya peningkatan ambilan $^{14}\text{C-D}$ -glukosa otot pada jam pertama setelah perlakuan. Dari hasil ini diketahui bahwa pengaruh ekstrak buncis yang diberikan 30 menit sebelum induksi glukosa, hanya mampu meningkatkan



Gambar 1. Respon ambilan ¹⁴C-D-Glukosa setelah perlakuan (rerata ± SE, n=15). ^a P<0,01 dibanding normal, ^bP<0,001 dibanding diabetes salin

ambilan glukosa otot pada jam pertama setelah perlakuan kemudian menurun dan stabil hingga akhir pengujian. Hasil penelitian ini didukung oleh laporan Napoli et al. (1995)¹⁴ yang menguji efek induksi glukosa oral terhadap transpor glukosa otot skelet tikus. Napoli menemukan bahwa peningkatan transpor glukosa terbesar terjadi pada 30 menit setelah induksi glukosa dan transpor ini kembali ke keadaan basal pada menit ke-90 kemudian stabil hingga 120 menit.

Pendapat senada dikemukakan oleh Galante et al. (1995),¹⁵ bahwa adanya glukosa saja sudah dapat menyebabkan terjadinya translokasi GLUT4. Namun demikian menurut Kawano et al. (1999)¹⁶ peningkatan kecepatan ambilan glukosa pada keadaan hiperglikemik lebih disebabkan oleh pengaruh aksi massa glukosa dibanding aktivasi transporter glukosa. Dalam penelitian Kawano et al. (1999)¹⁶ dengan menggunakan isolat otot soleus menunjukkan bahwa glukosa konsentrasi tinggi ternyata tidak mengubah kadar GLUT1 maupun GLUT4 dalam permukaan sel. Dengan demikian, diduga peningkatan ambilan glukosa otot pada tikus hiperglikemik terjadi melalui kerja simultan antara insulin yang ada dengan efek ekstrak buncis, tetapi bagaimana mekanismenya belum diketahui. Setelah 60 menit ambilan glukosa menurun, hal ini diduga transporter glukosa yang berada pada permukaan membran plasma kembali menuju ke *pool* membran intraseluler.

Ambilan ¹⁴C-D-glukosa pada kelompok diabetes yang hanya menerima salin sangat rendah diantara semua kelompok yang diuji dan cenderung menurun pada akhir pengujian Rendahnya ambilan glukosa pada tikus diabetes salin diduga akibat ketidaknormalan sekresi

atau aksi insulin yang terjadi baik ditingkat pre reseptor, reseptor maupun post reseptor yang disebabkan oleh induksi aloksan.

Peningkatan ambilan glukosa otot sangat nyata (P<0,001) terjadi pada tikus diabetes yang diberi ekstrak buncis dosis 300 mg/kg bb. Peningkatan ambilan ¹⁴C-D-glukosa mulai terjadi satu jam setelah pemberian ekstrak buncis dan mencapai angka tertinggi 4784,99 cpm/ml di akhir pengujian. Sedangkan metformin yang digunakan sebagai obat pembanding menunjukkan respon ambilan ¹⁴C-D-glukosa tidak berbeda (P<0,05) dibanding tikus normal tetapi lebih besar (P<0,01) dibanding tikus diabetes salin. Dari penelitian ini diketahui bahwa ambilan ¹⁴C-D-glukosa yang dihasilkan oleh ekstrak buncis hampir tiga kali lipat dibanding ambilan kelompok diabetes salin dan hampir dua kalinya dibanding kelompok diabetes metformin dalam rentang waktu yang sama (Gambar 1).

Aktivasi transpor glukosa ke dalam otot diperkirakan dapat terjadi melalui beberapa jalur antara lain melalui stimulasi insulin dan glukosa. Dalam kondisi *postprandial* atau diabetes, mekanisme peranan dan kapasitas insulin belum sepenuhnya diketahui. Sementara Napoli et al. (1995)¹⁴ membuktikan bahwa peningkatan transpor glukosa otot juga dapat terjadi melalui induksi glukosa oral. Selain insulin dan glukosa beberapa faktor potensial lain seperti aktivitas fisik atau obat-obat farmakologi diduga ikut berperan sebagai modulasi sistem transpor glukosa pada otot skelet.

Dalam penelitian ini mekanisme dan peranan buncis pada sistem transpor glukosa otot belum diketahui tetapi efek ekstrak buncis terhadap peningkatan ambilan

glukosa pada otot soleus tikus diabetes telah dibuktikan dan efek ini lebih besar dibanding efek metformin yang digunakan sebagai obat pembanding. Oleh sebab itu penelitian lebih lanjut tentang mekanisme transpor glukosa ekstrak buncis perlu dilakukan.

4. Kesimpulan

Adanya peningkatan ambilan ^{14}C -D-glukosa otot soleus yang dihasilkan oleh ekstrak buncis membuktikan bahwa mekanisme antihiperqlikemik ekstrak buncis di antaranya terjadi melalui peningkatan transpor glukosa otot. Meskipun mekanisme kerja ekstrak buncis dalam penelitian ini belum sepenuhnya dimengerti tetapi dibuktikan bahwa efek ekstrak buncis terhadap penurunan kadar glukosa darah maupun respon ambilan ^{14}C -D-glukosa otot yang dihasilkan lebih tinggi dibanding efek metformin.

Daftar Pustaka

- Duke J. *Phaseolus vulgaris* L. 1983; Available from: <http://www.hort.purdue.edu/>.
- Petlevski R, Hadzija M, Slijepcevic M, D J. Effect of antidiabetic herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice. *Juornal of Ethnopharmacology*. 2001;75:181–184.
- Muhtadi A. Uji efek ekstrak kental buah *Phaseolus vulgaris* Linn terhadap kadar glukosa darah tikus. Abstrak . Penelitian tanaman obat di beberapa perguruan tinggi di Indonesia. Depkes RI Jakarta. 1987;.
- Andayani Y, Widjajakusuma R, Suyono S, Rimbanwan, Setijanto H. Hypoglycaemic Effect of Green Snap Bean (*Phaseolus vulgaris* L) in Alloxan Diabetic Rabbit. *Journal of ASEAN Federation of Endocrine Societies (Suppl)*. 2002;20(1).
- Askandar T. Diabetes mellitus di dalam masyarakat Indonesia. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 1993;21:42–62.
- Shah MA, Jakkawanpitak C, Sermwittayawong D, Panichayupakaranant P. Rhinacanthins-rich Extract Enhances Glucose Uptake and Inhibits Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes and L6 Myotubes. *Pharmacognosy magazine*. 2018 Jan;13:S817–S821.
- Aybar MJ, Riera ANS, Grau A, Sánchez SS. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallantus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. 2001;74:125–132.
- Porchezian E, Ansari SH, Shreedharan NKK. Antihyperglycemic activity of *Euphrasia officinale* leaves. *Fitoterapia*. 2001;71:522–526.
- Puri D. The insulinotropic activity of a Nepalese medicinal plant *Biophytum sensitivum* : preliminary experimental study. *Juornal of Ethnopharmacology*. 2001;78:89–93.
- Furukawa N, Ohta T, Noguchi T, Yonemori F, Wakitani K. Glucose-dependent insulinotropic effects of JTT-608, a novel antidiabetic compound. 1999;371:51–58.
- Chi TC, Liu IM, Cheng JT. Less of insulin desensitization in sympathetic nerve terminals from Wistar rats with insulin resistance. 2000;80:80–84.
- Kobo K, Foley JE. Rate-limiting steps for insulin-mediated glucose uptake into perfused rat hindlimb. *Am J Physiol*. 1986;250:E100–1986.
- Klip A, Paquet MR. Glucose transport and glucose transporters in muscle and their metabolic regulation. *Diabetes Care*. 1990;13:228–242.
- Napoli R, Hirshman MF, Horton ES. Mechanisms of increased skeletal muscle glucose transport activity after an oral glucose load in rats. 1995;44:1362–1368.
- Galante P, Mosthaf L, Kellerer M, Berti L, Tippmer S, Bossenmaier B, et al. Acute hyperglycemia provides an insulin-independent inducer for GLUT4 translocation in C2C12 myotubes and rat skeletal muscle. 1995;44:646–651.
- Kawano Y, Rincon J, Soler A, Ryder JW, Nolte LA, Zierath JR, et al. Changes in glucose transport and protein kinase $C\beta$ 2 in rat skeletal muscle induced by hyperglycaemia. 1999;42:1071–1079.