

Deskripsi

EKSTRAK BUNCIS (*Phaseolus Vulgaris Linn*) SEBAGAI PENURUN KADAR GLUKOSA DARAH

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan pembuatan sediaan bahan baku atau sediaan makanan fungsional penurun kadar glukosa darah dan penggunaan ekstrak *Phaseolus vulgaris Linn* yang
10 mengandung bahan aktif β -sitosterol dan stigmasterol yang berguna untuk menurunkan kadar glukosa darah.

Latar Belakang Invensi

Prevalensi diabetes melitus (DM) di negara-negara maju
15 maupun di negara-negara berkembang beberapa tahun terakhir ini meningkat secara drastis. Tahun 1995 Indonesia merupakan negara peringkat ke-5 terbesar setelah India, Cina, Rusia dan Jepang dengan jumlah penderita diabetes sebanyak 5 juta penderita. Tingginya prevalensi DM, yang sebagian besar adalah
20 tergolong dalam DM tipe-2 disebabkan oleh interaksi antara faktor-faktor kerentanan genetik dan paparan terhadap lingkungan. Faktor lingkungan yang diperkirakan dapat meningkatkan faktor risiko DM tipe-2 adalah perubahan gaya hidup seseorang, diantaranya adalah kebiasaan makan yang tidak
25 seimbang akan menyebabkan obesitas. Selain pola makan yang tidak seimbang, kurangnya aktifitas fisik juga merupakan faktor risiko dalam memicu terjadinya DM. Seiring dengan meningkatnya jumlah penderita DM maka kebutuhan obat-obat hipoglikemik oral juga semakin meningkat karena hampir 88%
30 penderita diabetes menggunakan obat oral hipoglikemik dalam terapinya. Sampai saat ini ketersediaan bahan baku obat dalam negeri belum seimbang dengan kebutuhan obat di masyarakat, sehingga sebagian besar bahan baku obat DM masih diimpor.

Buncis (*Phaseolus vulgaris Linn*) dengan nama lain *Snap bean* atau *French bean* termasuk famili Leguminosae diyakini
35

sangat potensial untuk dikembangkan menjadi sediaan bahan baku obat penurun kadar glukosa darah (diabetes) karena:

1. Buncis telah dikonsumsi secara luas oleh masyarakat sebagai bahan pangan bergizi.

5 2. Teknik budidaya buncis relatif sederhana dan umur panen yang relatif singkat sehingga ketersediaannya melimpah.

3. Buncis mempunyai nilai pasar yang prospektif karena nilai pasar sediaan herbal yang meliputi produk jadi dan bahan baku pada tahun 2002 mencapai US\$ 43 milyar.

10 Penelitian tentang khasiat buncis sebagai obat diabetes atau penurun kadar glukosa darah belum ada. Mortensen Nils Christian dkk pada Paten No. WO0117369 menyebutkan bahwa *Phaseolus vulgaris* yang dipadukan dengan beberapa komponen lain seperti ekstrak kamboja, silica, magnesium stearat,
15 trikalsium fosfat, fruktooligosakarida, dan lain-lain; dapat berperan sebagai obat yang berkhasiat untuk mengurangi dan mencegah kelebihan konsumsi gula dalam darah.

Selanjutnya Secara Vasile dkk. pada permohonan paten RO117898 menemukan bahwa ekstrak *Phaseolus vulgaris* yang
20 dipadukan dengan beberapa jenis ekstrak tanaman lain seperti *Petasites hybridus*, *Ocimum bacillum*, *Ballota nigra*, *Thymus vulgaris*, dan lain-lain; dapat digunakan untuk mengobati luka, tetapi *Phaseolus vulgaris* yang dimaksud dalam penelitian Vasile dkk adalah kacang jogo atau *kidney beans*.

25 Kacang buncis dan kacang jogo memiliki nama ilmiah yang yang sama, tetapi keduanya berbeda dalam hal tipe pertumbuhan dan cara pemanenan. Buncis yang dimaksud dalam dokumen ini adalah *Snap bean* atau *French beans* yaitu buncis yang tipe pertumbuhannya merambat dan dipanen saat polongnya muda dan
30 sering dikonsumsi sebagai sayuran, sedangkan kacang jogo dinamakan *Kidney beans* tumbuhnya tegak dan bagian yang dipanen biasanya adalah biji-bijinya.

Ringkasan Invensi

Invensi ini berhubungan dengan pembuatan sediaan bahan baku atau sediaan makanan fungsional penurun kadar glukosa darah dan penggunaan ekstrak *Phaseolus vulgaris* Linn yang mengandung bahan aktif β -sitosterol dan stigmasterol yang berguna untuk menurunkan kadar glukosa darah. Ekstrak *Phaseolus vulgaris* yang mengandung bahan aktif β -sitosterol dan stigmasterol yang berguna untuk menurunkan kadar glukosa darah dihasilkan dengan cara mengekstraksi buncis melalui proses maserasi menggunakan pelarut alkohol teknis (1:10) atau pelarut air, sehingga dihasilkan ekstrak kasar yang mengandung bahan aktif yang berupa campuran dari senyawa β -sitosterol dan stigmasterol. Mekanisme kerja ekstrak buncis sebagai penurun kadar glukosa darah melalui 2 (dua) jalur yaitu jalur ekstrapankreatik berupa peningkatan ambilan glukosa otot dan peningkatan sintesis glikogen otot, dan jalur intrapankreatik melalui perbaikan sel-sel β pulau Langerhans pancreas. Hasil-hasil pengujian diberikan dalam Gambar 1,2 dan 3, dengan uraian singkat sebagai berikut:

20 **Uraian Gambar 1: Peningkatan Ambilan Glukosa Otot**

Sasaran utama kerja insulin adalah otot skelet terutama sebagai tempat menyimpan glukosa *postprandial* pada jalur utilisasi glukosa. Dalam kondisi fisiologis normal, transpor glukosa merupakan suatu tahap pembatas kecepatan (*rate-limiting step*) utilisasi glukosa yang distimulasi insulin, dan hampir 70% terjadi pada otot skelet serta sebagian kecil lainnya pada jaringan adipose.

Peningkatan ambilan ^{14}C -D-glukosa otot hingga 40% terjadi pada kelompok tikus diabetes setelah mendapat ekstrak buncis, dan efek ini paling kuat ($p < 0,001$) dibanding kelompok tikus yang normal maupun kelompok tikus hiperglikemik. Adanya peningkatan ambilan glukosa pada otot skelet ini membuktikan bahwa efek

ekstrak buncis dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes.

Uraian Gambar 2: Peningkatan Sintetis Glikogen Otot

Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa ekstrak buncis meningkatkan kadar glikogen otot terutama pada tikus diabetes dan tikus hiperglikemik hingga 40,9%, dan efek ini tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) jika dibanding dengan efek metformin (37,2%). Peningkatan kadar glikogen otot yang dihasilkan ekstrak buncis membuktikan adanya pengaruh ekstrak buncis pada enzim-enzim yang berperan dalam sintesis glikogen seperti enzim-enzim kunci yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat melalui peningkatan kadar glukokinase, heksokinase, glukosa-6-fosfat dan fosfofruktokinase.

Uraian singkat Gambar 3: Perbaikan sel β Pankreas

Pada tikus diabetes parah jumlah pulau Langerhans pankreas yang dapat ditemukan sangat terbatas dan sebagian besar sel-sel β mengalami beragam kerusakan walaupun sejumlah sel-sel α masih ditemukan terutama pada bagian perifer pulau Langerhans.

Efek ekstrak buncis terhadap perubahan morfologis pankreas pada kelompok tikus diabetes lebih baik dibanding efek metformin. Sel-sel di dalam pulau Langerhans terlihat lebih padat dibanding tikus diabetes tanpa ekstrak buncis atau metformin, walaupun sejumlah sel yang mengalami nekrosis dan inflamasi masih ditemukan meskipun jumlahnya relatif kecil jika dibanding dengan kelompok tikus yang telah diberi metformin.

Hasil ini, memberikan bukti bahwa efek penurunan kadar glukosa darah yang dihasilkan ekstrak buncis dipengaruhi oleh efek proteksi ekstrak buncis terhadap kerusakan sel-sel β

pankreas akibat induksi aloksan atau memperlambat kecepatan hilangnya insulin dari sel-sel β pankreas yang masih tersisa.

Uraian Lengkap Invensi

5 a. Analisa Proksimat

Analisis proksimat dilakukan untuk mengetahui kandungan dan komposisi zat gizi yang terdapat dalam buncis meliputi: kadar air, kadar abu, kandungan karbohidrat, kandungan protein, kandungan lemak, dan serat kasar (Tabel 1), serta
 10 kandungan mineral seperti magnesium, kalsium dan kalium (Tabel 2).

Tabel 1. Kandungan dan komposisi gizi buncis (Rerata \pm SE)

Bahan	Komposisi (%)					
	Kadar Air	Karbohidrat	Lemak	Protein	Serat kasar	Kadar abu
Buncis segar	89,81 \pm 0,51	7,81 \pm 0,49	0,28 \pm 0,09	1,77 \pm 0,22	2,07 \pm 0,06	0,32 \pm 0,03
Buncis kering	6,42 \pm 0,43	40,53 \pm 0,71	4,37 \pm 0,44	21,23 \pm 0,50	7,83 \pm 0,55	0,43 \pm 0,05

15

Tabel 2. Kandungan mineral dalam ekstrak buncis (Rerata \pm SE)

Bahan	Kadar Air (%)	Komposisi Mineral (%)		
		Ca	K	Mg
Ekstrak Alkohol	10,41 \pm 0,24	0,25 \pm 0,02	0,69 \pm 0,032	0,033 \pm 0,005
Ekstrak Air	11,15 \pm 0,25	0,72 \pm 0,03	0,51 \pm 0,033	0,045 \pm 0,018
Fraksi A-6*	11,05 \pm 0,40	0,14 \pm 0,02	0,04 \pm 0,003	0,029 \pm 0,006
Fraksi K-5**	10,62 \pm 0,52	1,09 \pm 0,13	0,18 \pm 0,034	0,073 \pm 0,005

b. Penyiapan Ekstrak Buncis

Sediaan bahan baku obat dibuat dengan cara memotong-motong buncis \pm 1 cm, dikeringkan dengan cara dioven pada suhu
 20 60°C atau melalui penjemuran dengan sinar matahari. Buncis yang telah kering dan tanpa biji dihaluskan untuk mendapatkan ukuran partikel yang relatif homogen (\pm 0,3 mm).

Ekstraksi dilakukan secara maserasi yaitu proses ekstraksi dengan cara perendaman selama 24 jam pada suhu ruang, menggunakan pelarut alkohol teknis 95% atau air (1:10 b/v). Setelah maserat pertama selesai disaring, dilakukan pengulangan proses maserasi dengan menambahkan pelarut yang baru. Sisa pelarut dihilangkan menggunakan rotari evaporator atau alat pemanas pada suhu sekitar 100°C sehingga dihasilkan ekstrak kental berwarna hijau kehitaman dengan kadar air rata-rata 10,5%. Selanjutnya untuk tujuan analisis ekstrak kasar buncis difraksinasi dengan menggunakan metode kromatografi kolom (KK) dan kromatografi lapis tipis (KLT).

c. Pembuatan Sediaan

(1) Kapsul

Ekstrak kasar yang dihasilkan dari proses ekstraksi, dibuat dalam bentuk sediaan kapsul, agar nyaman dikonsumsi oleh konsumen. Bahan pengisi kapsul terdiri dari: (a) cairan pekat ekstrak buncis, dan (b) serbuk pengisi yang berasal dari hasil samping proses ekstraksi (ampas buncis yang dihaluskan). Cairan pekat ditambahkan 10% (b/v) serbuk pengisi, dicampur secara merata dan dipanaskan pada suhu sekitar 100°C selama 30 menit sambil diaduk hingga menjadi granula dan dikeringkan. Granula digiling hingga menghasilkan serbuk yang digunakan untuk pengisian kapsul dengan dosis 250mg/ kapsul.

25

(2) Tablet

Tablet dibuat dengan metode SLD (*Simplex Lattice Design*) dengan acuan formula sebagai berikut

- a) serbuk halus ekstrak buncis (250mg)
- 30 b) bahan pengikat amilum (5-15%)
- c) Bahan Penghancur Tablet Avicel (1-10%)
- d) Bahan Pelicin Tablet Talkum (1-5%)

d. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi Wagner, Pereaksi Meyer, Pereaksi Dragendorff dan pereaksi Ninhidrin untuk mengetahui senyawa kimia spesifik seperti alkaloid, flavonoid, steroid ataupun saponin dalam ekstrak buncis maupun fraksi buncis hasil kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis. Hasil penapisan fitokimia terhadap ekstrak kasar maupun fraksi menunjukkan bahwa semua sampel bereaksi negatif terhadap senyawa golongan alkaloid ataupun saponin tetapi bereaksi positif terhadap senyawa golongan steroid dan triterpenoid.

e. Aktivitas Antihiperglikemik Ekstrak Buncis pada Tikus

Tikus jantan putih strain *Sprague Dawley* diperoleh dari Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia di Jakarta, berumur 4 minggu dengan berat badan antara 75-80 gram. Tikus dipelihara dalam wadah plastik dengan makanan dan minuman yang diberikan secara *ad libitum*. Kesehatan hewan dipantau setiap hari, berat badan ditimbang setiap minggu dan kadar glukosa darah diukur pada waktu-waktu tertentu. Setelah berumur 3 bulan tikus yang dipilih untuk penelitian adalah tikus sehat dengan berat badan antara 200 - 270 gram.

Induksi diabetes dilakukan menggunakan 5% (b/v) larutan aloksan monohidrat dalam salin steril dengan dosis 125 mg/kg berat badan (BB) secara intra peritoneal, sekurang-kurangnya 48 jam sebelum perlakuan. Setelah hewan diinduksi, diberi makanan yang cukup (*ad libitum*) dan dalam waktu 24 jam pertama dalam air minumannya ditambahkan 5% (b/v) larutan D-glukosa monohidrat untuk mencegah terjadinya hipoglikemia yang fatal. Metformin merupakan obat oral antihiperglikemik yang digunakan sebagai pembanding dengan dosis 200 mg/kg BB

Aktivitas antihiperglikemik ekstrak buncis yang diberikan dengan dosis 300 mg/kg BB pada tikus diabetes induksi terbukti sangat kuat (Tabel 3)

Tabel 3. Efek ekstrak buncis terhadap kadar glukosa darah tikus

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

*) signifikan ($p < 0,05$)

f. Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Buncis

5 Fraksi aktif atau fraksi yang menunjukkan efek antihiperlipidemik paling kuat difraksinasi dengan metode KLT. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan adsorben lempeng alumina dengan fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan pengembang kloroform-metanol (9:1). Sebagai standar untuk identifikasi 10 senyawa aktif digunakan β -sitosterol dan stigmasterol. Dengan membandingkan nilai R_{f100} dari fraksi aktif hasil elusi KLT dengan R_{f100} nilai β -sitosterol dan nilai R_{f100} stigmasterol, diperoleh hasil bahwa kedua senyawa tersebut dominan ada dalam fraksi aktif yang diperoleh (Tabel 4).

15 Tabel 4. Nilai R_{f100} fraksi alkohol dan fraksi kloroform

Ekstrak	Nilai R _{f100} dari fraksi nomor										Jml. Fraksi
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Alkohol	49	56	63	-	-	85	70	60	-	-	6
Kloroform	57	66	78	82	68	-	15	75	90	-	8
Air	50	70	75	80	-	88	-	89	92	-	7
β -Sitosterol	87										
Stigmasterol	42										

Identifikasi selanjutnya dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan fase bergerak metanol. Identifikasi bertujuan untuk mengetahui 20 jenis maupun kadar bahan aktif yang terdapat dalam fraksi buncis. Hasil analisa KCKT menunjukkan bahwa β -sitosterol dan

stigmasterol merupakan komponen utama yang terkandung dalam fraksi aktif yang diuji (Gambar 4 dan 5).

Ditemukannya senyawa β -sitosterol dan stigmasterol di dalam fraksi aktif tersebut maka diduga aksi sinergis dari kedua senyawa, β -sitosterol dan stigmasterol berperan penting sebagai penurun kadar glukosa darah.

g. Mekanisme Kerja Ekstrak Buncis sebagai Penurun Kadar Glukosa Darah

Peningkatan ambilan glukosa otot dan peningkatan sintesis glikogen otot setelah pemberian ekstrak buncis, serta adanya perbaikan sel-sel β pulau Langerhans pancreas membuktikan bahwa efek ekstrak buncis sebagai penurun kadar glukosa darah terjadi melalui mekanisme kerja secara ekstrapankreatik dan intrapancreatik.

Efek ekstrak buncis terhadap ambilan ^{14}C -D-glukosa otot soleus pada tikus diabetes paling kuat ($P < 0,001$) dibanding efeknya pada tikus normal maupun tikus hiperglikemik (Tabel 5). Peningkatan ambilan glukosa otot sebesar 40% terjadi pada tikus diabetes yang mendapat ekstrak buncis, dan efek ini hampir tiga kali lipat dibanding ambilan kelompok diabetes salin serta hampir dua kalinya dibanding kelompok diabetes metformin dalam rentang waktu yang sama.

Tabel 5. Respons ambilan ^{14}C -D-glukosa otot soleus tikus

Kelompok	Ambilan Glukosa (cpm/mL/100mg otot) jam ke		
	1	3	5
Normal Salin	3627,02 \pm 406,89	4155,62 \pm 520,91	3404,54 \pm 409,79
Normal Buncis	3024,54 \pm 505,29	3389,69 \pm 485,56	4498,99 \pm 689,15**
Hiperglikemik Buncis	4097,73 \pm 296,41	3391,64 \pm 464,47	3465,02 \pm 574,15
Diabetes Salin	1462,33 \pm 678,54	1053,35 \pm 422,19	1107,35 \pm 409,88
Diabetes Metformin	2929,52 \pm 551,10	3145,46 \pm 572,80	3015,19 \pm 517,67
Diabetes Buncis	3335,71 \pm 463,08	4183,38 \pm 696,00	4784,99 \pm 381,50*

Nilai dinyatakan dengan rerata \pm SE, n=15, *P<0,001, **P<0,05 dibanding normal salin

Ekstrak buncis juga dapat meningkatkan kadar glikogen otot hingga 40,9%, dan hasil ini tidak berbeda nyata ($P>0,05$) bila dibanding dengan efek metformin (37,2%) (Tabel 6). Peningkatan kadar glikogen otot yang dihasilkan ekstrak buncis membuktikan adanya pengaruh ekstrak buncis pada enzim-enzim yang berperan dalam sintesis glikogen.

Setelah glukosa masuk kedalam sel akan segera diubah menjadi glikogen terutama pada otot dan jaringan adipose. Glikogen sintase (GS) merupakan enzim kunci pembatas kecepatan (*rate-limiting*) sintesis glikogen dalam otot yang distimulasi oleh insulin. Penurunan aktivitas glikogen sintase di dalam otot skelet sering dijumpai pada keadaan resistensi insulin penderita NIDDM.

Tabel 6. Respons perubahan glikogen otot pada tikus

Kelompok	Kadar Glikogen Otot ($\mu\text{g}/50\text{mg}$)		
	1	3	5
Normal Salin	149,22 \pm 10,0	126,56 \pm 8,10	137,84 \pm 4,58
Normal Buncis	153,74 \pm 8,97	161,15 \pm 9,02	161,26 \pm 10,51
Hiperglikemik Buncis	140,27 \pm 14,3	170,55 \pm 17,42 **	192,27 \pm 13,41**
Diabetes Salin	142,64 \pm 8,63	129,58 \pm 6,44	139,84 \pm 9,42
Diabetes Metformin	163,32 \pm 19,4	128,85 \pm 14,6	188,23 \pm 14,19 **
Diabetes Buncis	171,74 \pm 18,33	179,30 \pm 5,95	194,31 \pm 6,72 **

15 Nilai rerata \pm SE, n=15, ** $P<0,001$ dibanding dengan normal salin maupun diabetes salin

Efek ekstrak bncis terhadap perubahan morfologis pankreas pada tikus diabetes lebih baik dibanding salin maupun metformin, karena sel-sel di dalam pulau Langerhans terlihat lebih padat, walaupun sejumlah sel yang mengalami nekrosis dan inflamasi masih ditemukan meskipun relatif kecil dibanding tikus yang telah diberi metformin 200 mg/kg BB (Gambar 3). Secara kualitatif hal ini menggambarkan adanya efek ekstrak buncis terhadap peningkatan jumlah sel yang lebih banyak terutama sel-sel β .

Klaim

1. Ekstrak *Phaseolus vulgaris* Linn yang diekstrak menggunakan pelarut air atau alkohol, mengandung bahan aktif β -sitosterol dan stigmasterol yang berguna untuk menurunkan kadar glukosa darah

2. Penggunaan ekstrak *Phaseolus vulgaris* Linn yang diekstrak menggunakan pelarut air atau alkohol, mengandung bahan aktif β -sitosterol dan stigmasterol untuk pembuatan obat yang berguna untuk menurunkan kadar glukosa darah

3. Penggunaan ekstrak *Phaseolus vulgaris* L seperti pada klaim 2 disukai dalam bentuk kapsul atau tablet.

15

20

25

30

Abstrak

**EKSTRAK BUNCIS (*Phaseolus Vulgaris* Linn) SEBAGAI PENURUN
KADAR GLUKOSA DARAH**

5 *Phaseolus Vulgaris* Linn (buncis) sangat potensial dikembangkan menjadi bahan baku sediaan obat diabetes maupun pangan fungsional yang berguna sebagai penurun kadar glukosa darah. Ekstrak *Phaseolus vulgaris* L mengandung komponen aktif yaitu β -sitosterol dan stigmasterol. Penggunaan ekstrak

10 *Phaseolus vulgaris* Linn yang diekstrak menggunakan pelarut air atau alkohol, mengandung bahan aktif β -sitosterol dan stigmasterol untuk pembuatan obat yang berguna untuk menurunkan kadar glukosa darah disukai dalam bentuk kapsul atau tablet.

15 Mekanisme kerja ekstrak *Phaseolus vulgaris* L sebagai penurun kadar glukosa darah melalui peningkatan ambilan glukosa otot, peningkatan sintesis glikogen otot dan perbaikan sel-sel β pulau Langerhans pankreas.

20

25

30