

PENGARUH DIET KACANG MERAH TERHADAP KADAR GULA DARAH TIKUS DIABETIK INDUKSI ALLOXAN

[Effect of Red Bean Diet on Blood Glucose Concentration of Alloxan-Induced Diabetic Rats]

Y. Marsono ¹⁾, Zuheid Noor ¹⁾, dan Fitri Rahmawati ²⁾

¹⁾ Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian –UGM, Jl. Susio Yustisia, Bulaksumur Yogyakarta 55281

²⁾ Staf Pengajar P S Tata Boga Fakultas Teknik, Universitas Negeri – Yogyakarta

Diterima 23 September 2002/Disetujui 13 Maret 2003

ABSTRACT

Hypoglycemic response of red bean were evaluated in alloxan-induced diabetic rats. The objective of this research was to evaluate the effect of red bean (*Vigna umbellata*) diet compare with soy bean diet on blood glucose concentration in alloxan-induced diabetic rats.

Thirty male Sprague-Dawley (SD) rats (250-300 g) were diabetic induced by alloxan injection (80 mg/kg of body weight by intra muscular injection). They were divided into three groups of ten rats. They were fed (1) Standard diet (STD), (2) Red bean diet (KM), and (3) Soy bean diet (KD) for 28 days. Concentration of serum glucose were determined before injection (0 day), after injection (day 17th) and every sweek during diet intervention (day 24, 31, 38 and 45th)

It was found that alloxan injection increased serum glucose concentration of STD, KM, and KD refs. After 28 days intervention, red bean decreased the serum glucose concentration from 217, 87 mg/dL to 57,70 mg/dL (69%) in KM groups and from 218,94 mg/dL to 76,82 mg/dL (65%) in KD groups, but standard diet (STD) were decreased less than both of KM and KD diet.

Key words : Diabetic, alloxan-induced, hypoglycemic, red bean, and soy bean

PENDAHUI

Perubahan gaya hidup dan pola makan dari makanan yang berbasis karbohidrat menjadi makanan bertekstur tinggi meningkatkan timbulnya penyakit degeneratif seperti jantung koroner, hipertensi, dan juga diabetes. Prevalensi penderita diabetes di Indonesia diperkirakan mencapai 5 juta pada tahun 2020 (Gunawan dan Tandra, 1998). Salah satu alternatif pencegahan yang murah adalah terapi diet yaitu dengan memberikan makanan yang dapat menekan peningkatan gula darah penderita.

Asosiasi diabetes memberikan saran kepada penderita diabetes untuk meningkatkan konsumsi karbohidrat kompleks sekitar 50 % total untuk energi dan lebih banyak serat pangan. (Vessby, 1994). Namun, jumlah karbohidrat tidak sepenuhnya dapat dipegang sebagai satu-satunya acuan, sebab jumlah karbohidrat yang sama dari sumber yang berbeda dapat memberikan respon yang berbeda (Jenkins et al., 1981). Oleh karena itu disarankan dalam pemilihan makanan untuk penderita diabet juga dipertimbangkan nilai indeks glisemik (IG) pangan yang bersangkutan. Makanan yang mempunyai IG rendah akan lebih menguntungkan dalam pengendalian gula darah dibandingkan makanan yang mempunyai IG tinggi.

Indeks Glisemik didefinisikan sebagai perbandingan antara luas kurva respon glukosa makanan yang mengandung karbohidrat total setara 50 gram gula,

terhadap luas kurva respon glukosa setelah makan 50 gram glukosa, pada hari yang berbeda dan pada orang yang sama (Truswell, 1992). Di Indonesia daftar Indeks Glisemik masih sangat terbatas. Penelitian pada beberapa makanan khas Indonesia menunjukkan bahwa uwi (*Dioscorea alata* LINN) mempunyai Indeks Glisemik yang cukup rendah daripada nasi (IG nasi= 80), sedang sukun, singkong, dan pisang tanduk masing-masing adalah 90, 78, dan 92 (Marsono, 2001). Peneliti yang sama juga melaporkan indeks glisemik umbi-umbian bervariasi dari 14 (garut) sampai dengan 179 (ketela rambat) (Marsono 2002a). Sedangkan kimpul, gembili dan ganyong memiliki Indeks Glisemik masing-masing 95, 90 dan 105. Marsono, et al., 2002a juga melaporkan bahwa Indeks Glisemik kacang merah sangat rendah yaitu 26, sedang kacang hijau, kacang tunggak, kacang gude, kapri, dan kedelai berturut-turut adalah 76, 51, 35, 30, dan 31. Apakah sifat hipoglisemik yang ditunjukkan pada nilai Indeks Glisemik kacang merah juga terlihat pada konsumsi jangka panjang, belum pernah ada publikasi. Oleh karena itu penelitian ini ingin mempelajari potensi kacang merah dalam penurunan gula pada tikus diabetik, sebagai langkah awal dalam mengungkap sifat-sifat fungsional bahan tersebut.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh pemberian diet kacang merah dengan proporsi 20% energi, terhadap kadar glukosa serum pada tikus diabetik induksi alloxan. Kedelai digunakan sebagai pembanding, karena bahan pangan ini

sudah diyakini memiliki potensi yang besar untuk penurunan kadar gula darah.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang merah (*Vigna umbellata*), kedelai (*Glicine max* MERR), diperoleh dari pasar lokal yang ada di DIY dalam keadaan kering pasar (kadar air 12-14%). Bahan untuk analisis kimiawi berkualitas pro analisis (Sigma, BDH atau E-Merc) dibeli di toko bahan kimia di Yogyakarta. Campuran vitamin (AIN-93-VX) dan mineral (AIN-93-MX) dibeli dari ICN, Amerika.

Untuk pengujian bioassay digunakan tikus jantan jenis *Sprague-Dawley* (SD) diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) UGM. Komposisi pakan mengacu pada formula *American Institute of Nutrition* 1993 (AIN 1993) (Reeves et al., 1993).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah: neraca analitik, timbangan, *grinder* kandang tikus, dan perlengkapannya, *syringe* injeksi, *micro-hematocrite tube*, dan alat-alat bedah. Sentrifuse kecil Hettich EBA III, Spectrofotometer (UV -1201 Shimadzu), vortex (Genie 2 model G-S60E), micro pipet, dan alat-alat gelas lainnya.

Metode

Analisis bahan

Sebelum diproses menjadi tepung untuk digunakan dalam pembuatan pakan tikus, kacang merah, dan kedelai dilakukan analisis proksimat. Analisis kadar air dilakukan dengan metode thermogravimetri. Kadar abu ditentukan dengan metode pembakaran. Lemak dengan metode Soxhlet, sedang kadar protein dengan metode Mikro-Kjeldahl (AOAC, 1970).

Pemeliharaan hewan coba

Digunakan tikus putih jantan jenis SD dengan berat 250-300 gram sebanyak 30 ekor dan dikandangkan individual secara tertutup dengan kondisi kandang sebagai berikut: cahaya tidak terkontrol, ventilasi udara di dalam kandang cukup, dan suhu udara pada suhu kamar. Adaptasi dilakukan selama tiga hari, selanjutnya dilakukan penimbangan berat badan dan pengukuran gula darah.

Tikus tersebut kemudian dipuasakan semalam (duabelas jam), tetapi tetap diberi minum secara *ad libitum*. Pada hari berikutnya dilakukan penimbangan berat badan dan dilakukan injeksi alloxan dengan dosis 80 mg/Kg berat badan tikus untuk membuat tikus menjadi diabetes,

tikus tetap diberi makan standar hingga tikus dipastikan positif diabetes.

Tikus dibagi dalam tiga kelompok pakan yaitu 10 ekor untuk pakan standar (STD), 10 ekor pakan kacang merah (KM), dan 10 ekor untuk pakan kedelai (KD). Komposisi pakan dapat dilihat pada Tabel 1. Untuk pembuatan pakan, mula-mula kacang merah dan kedelai ditepungkan dan diayak dengan ukuran 80 mesh. Bahan pakan yang berupa padatan (maizena, tepung kacang atau tepung kedelai, kasein, gula, campuran mineral dan vitamin) dicampur terlebih dulu hingga homogen, kemudian ditambahkan minyak dan antioksidan dan diaduk lagi hingga homogen. Setelah itu ditambahkan sedikit air hingga campuran pakan bersifat setengah basah, kemudian dimasukkan ke dalam alat pencetak pakan sehingga diperoleh pakan berupa pelet. Pelet basah tersebut kemudian dikeringkan dalam oven (suhu 60°C), lalu dimasukkan dalam kantong plastik dan disimpan didalam refrigerator sampai saat akan diberikan kepada tikus.

Air minum diberikan secara *ad libitum*. Konsumsi pakan dihitung setiap hari sedang analisis gula darah dan penimbangan berat badan dilakukan seminggu sekali selama penelitian berlangsung.

Tabel 1. Komposisi Pakan

Bahan	Diet		
	Standard (STD), g	Kedelai (KD), g	Kc Merah (KM), g
Maizena	620.7	597.2	516
Kasein	132.3	67.8	70.2
Sukrosa	100	86.9	82.4
Minyak jagung	40	-	36,6
Cellulosa (CMC)	50	35,2	-
Tepung kedelai	-	185	-
Tepung Kc merah	-	-	368
Camp. Mineral *	35	26,3	22
Cam vitamin.*	10	10	10
L-sistine	1,8	1,8	1,8
Kholine bitartrat	2,5	2,5	2,5
Total	992,3	1012,7	1109
Kandungan Energi, Kcal	3718,8	3724,3	3719

* Sumber : Reeves et al., 1993.

Analisis gula darah

Pengambilan darah tikus sebanyak ± 1 cc dilakukan lewat mata (*plexus retroorbitalis*) dengan menggunakan *hematocrite tube* dilakukan setiap seminggu sekali, kemudian dilakukan analisis glukosa serum dengan menggunakan metode GOD-PAP (Barham dan Tinder, 1972).

Analisis Statistik

Analisis statistik menggunakan analisis variansi (ANOVA) dan bila terdapat perbedaan yang nyata ditindak lanjuti dengan uji LSD (Statistik Version 3.1., Analytical Software, 1989).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi kimia bahan

Hasil analisis proksimat kacang merah dan kedelai dapat dilihat pada Tabel 2 yang menunjukkan bahwa kadar total karbohidrat kacang merah dan kedelai masing-masing sebesar 77,02 % dan 32,42%. Hasil ini sedikit berbeda dari data pada komposisi bahan makanan (Direktorat Gizi Depkes RI, 1979) yang menyatakan bahwa kedelai memiliki kandungan karbohidrat 34,8% sedang kacang merah 59,5%. Perbedaan komposisi bisa disebabkan oleh berbagai faktor misalnya asal bahan dan metoda analisis.

Tabel 2. Komposisi kimia kacang merah dan kedelai (%db)

Komponen	Kacang merah	Kedelai
Protein	17.78	36.57
Lemak	1.07	25.48
Abu	4.13	5.53
Karbohidrat (by diff)	77.02	32.42

Asupan pakan

Asupan pakan tikus selama percobaan dihitung tiap hari dan rata-rata per periode pengamatan dapat dilihat pada tabel 3. Dari Tabel 3 tersebut dapat dilihat bahwa pada awal percobaan asupan pakan dari ketiga kelompok tikus tidak berbeda nyata, namun pada hari ke 17 kelompok kacang merah lebih rendah dari pada kontrol tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok kedelai. Pada pengamatan

berikutnya asupan pakan kelompok kacang merah lebih rendah daripada kelompok standar dan kedelai. Perbedaan asupan pakan umumnya disebabkan oleh perbedaan palatabilitas pakan atau karena kesehatan hewan. Dalam percobaan ini semua tikus memang dibuat diabetes dengan injeksi aloksan, artinya sama-sama sakit. Dengan demikian faktor kesakitan bukan merupakan alasan rendahnya asupan pakan.

Kalau penurunan asupan pakan setelah injeksi memang bisa disebabkan oleh karena kesakitan, seperti yang dilaporkan peneliti terdahulu. Wisaniyasa et al., (2002), melaporkan bahwa terjadi pengurangan asupan pakan setelah injeksi aloksan tapi berangsur naik lagi selama percobaan. Apakah perbedaan asupan karena perbedaan palatabilitas tidak jelas diketahui karena tidak ada data pendukung, misalnya perbedaan flavor atau kekerasan. Pada penelitian sebelumnya, Marsono (2002b) melaporkan bahwa diet kacang kapri tidak memberikan beda nyata dalam hal asupan pakan dibanding dengan diet kedelai.

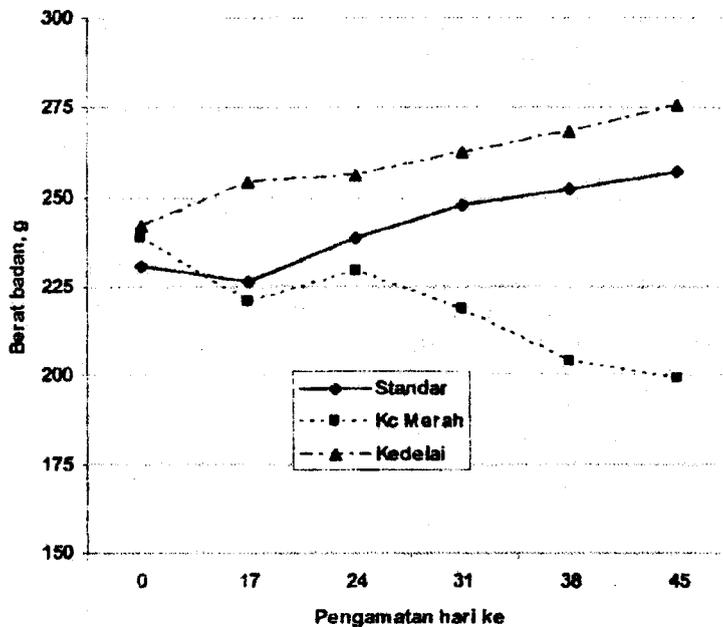
Berat badan

Pengaruh pemberian pakan perlakuan terhadap berat badan tikus dapat dilihat pada Gambar 1. Pada pengamatan hari ke tujuh belas terjadi penurunan berat badan pada semua kelompok diet. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh pengaruh dari injeksi aloksan yang mengakibatkan kesakitan dan menurunnya napsu makan yang terlihat dari turunannya asupan pakan (Tabel 3) pada semua kelompok diet. Pada hari-hari berikutnya secara perlahan terjadi kenaikan berat badan sejalan dengan kenaikan asupan pakan. Tetapi pada kelompok tikus dengan pakan kacang merah, menunjukkan terjadinya penurunan berat badan. Data inipun sangat erat kaitannya dengan rendahnya asupan pakan pada kelompok ini (lihat Tabel 3).

Tabel 3. Berat asupan pakan tikus yang diberi pakan standar, kacang merah dan kedelai (g/hari).

Waktu Pengamatan	Diet			Standar Error
	Standar	Kac. Merah	Kedelai	
Awal	13,08 ^a	13,46 ^a	14,9 ^{ap}	1,15
Hari ke-17	14,4 ^a	13,12 ^b	9,1 ^a	0,49
Hari ke-24	13,6 ^a	7,47 ^b	12,80 ^a	1,32
Hari ke-31	14,54 ^a	9,26 ^b	14,40 ^a	1,56
Hari ke-38	13,97 ^a	7,95 ^b	13,86 ^b	1,69
Hari ke-45	12,90 ^a	6,54 ^b	13,50 ^a	1,81

^{a)} superskript sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata (p<0,05)



Gambar 1. Berat badan tikus – tikus (g) sebelum injeksi aloksan (0) sesudah injeksi aloksan ke II (17 hari) dan sesudah pemberian pakan standar, kacang kedelai dan kacang merah (24 sd 45 hari).

Kadar glukosa serum

Kadar gula serum yang diamati pada diamati pada awal percobaan (0), sesudah injeksi aloksan ke II (hari ke-17), dan setiap minggu setelah intervensi pakan (hari ke 24, 31, 38 dan 45) dapat dilihat pada Gambar 2. Injeksi aloksan 80 mg/kg berat badan dilakukan dua kali dengan selang 8 hari, untuk mendapatkan tikus diabetes (kadar gula serum > 200 mg/dl). Pada pengamatan setelah injeksi aloksan ke dua, ternyata kadar gula darah rata-rata mencapai 218 mg/dL. Pemberian pakan yang 20% kalornya berasal dari kacang kedelai maupun kacang merah ternyata mampu menurunkan gula darah mencapai kadar mendekati semula, selama 4 minggu intervensi.

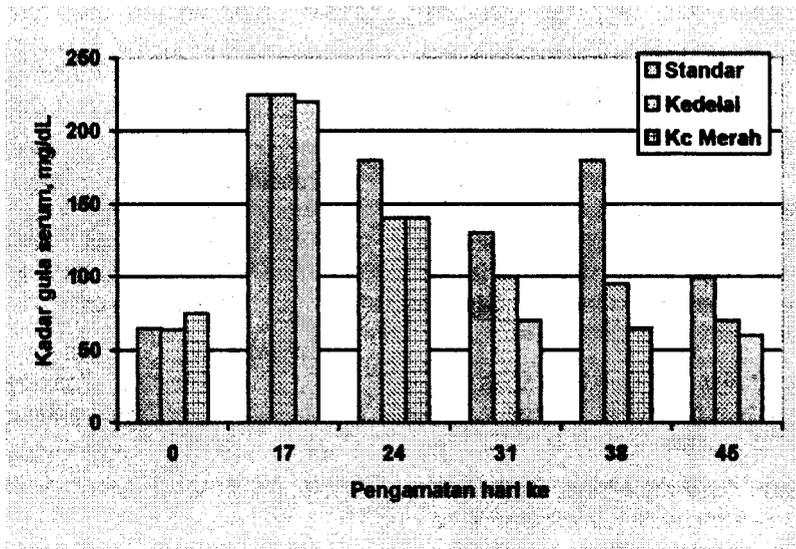
Tikus yang mendapatkan diet standar, meskipun juga mengalami penurunan kadar gula serum, tetapi tidak sebesar pada kelompok kacang merah maupun kedelai. Secara statistik terdapat perbedaan penurunan yang signifikan ($p < 0,05$). Sesudah empat minggu pemberian pakan, penurunan gula serum pada kelompok pakan kacang kedelai dan kacang merah masing-masing sebesar 65% dan 69%, sedang pada kelompok pakan standar hanya 50%. Data ini menunjukkan bahwa potensi kacang merah dalam menurunkan kadar gula serum jauh lebih tinggi dari pakan standar dan sedikit lebih tinggi dari kedelai. Data ini sejalan dengan nilai indek glisemiknya yaitu kedelai 30 dan kacang merah 26 (Marsono et al., 2002a).

Pada penelitian ini sengaja kedelai dipakai sebagai acuan karena efek penurunan gula serum oleh diet kedelai sudah banyak dipublikasi.

Faktor apa yang menyebabkan potensi penurunan gula darah sangat menarik untuk dikaji. Marsono et al., (2002b) melaporkan bahwa pakan kacang merah mempunyai viksositas lebih besar dari pada kedelai sebaliknya absorpsi glukosa pada pakan kacang merah lebih kecil dari pada kedelai. Peneliti tersebut menyimpulkan bahwa kedua sifat ini memegang peranan penting dalam penurunan gula darah kacang merah. Mereka menambahkan bahwa dari segi komposisi kimia nampaknya serat pangan dan pati resisiten juga berpengaruh pada viskositas dan absorpsi gula sehingga mempengaruhi potensi penurunan gula darah. Pendapat serupa juga pernah dilaporkan oleh peneliti terdahulu (Wolever et al., 1986; Englyst and Cummings, 1985). Meskipun protein dan asam amino khususnya dilaporkan bersifat hipoglisemik (Iritani et al., 1977, Winariyasa et al. 2002 dan Kaplan & Szabo, 1983), Marsono et al., (2002b), mendapatkan bahwa komponen ini tidak memiliki korelasi positif dengan potensi penurunan gula darah yang dimiliki oleh kacang merah. Hasil ini mendukung penemuan Nutall et al., (1984), yang melaporkan bahwa efek hipoglisemik protein baru kelihatan kalau jumlah protein yang ditambahkan cukup besar (50%). Demikian pula asam fitat yang dilaporkan oleh beberapa peneliti (Wolever, 1990,

Dwiana et al., 2001) berpotensi menurunkan glukosa darah, tetapi pada penelitian kacang merah asam fitat juga tidak memiliki korelasi positif dengan kemampuan kacang merah untuk menurunkan kadar glukosa darah tikus.

Barham, D. and P. Tinder.1972. An improved color reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. Analyst 97 : 142-145



Gambar 2. Konsentrasi glukosa serum tikus (mg/dL) sebelum injeksi aloksan (0) sesudah injeksi aloksan II (17) dan sesudah pemberian pakan standar, kacang kedelai dan kacang merah (24 sd 45).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian pakan diet kacang merah sebesar 20% enersi lebih efektif dalam menurunkan kadar gula darah pada tikus diabetik induksi aloksan dibandingkan dengan pakan kedelai. Selama 28 hari intervensi kacang merah mampu menurunkan kadar gula sebesar 69%, sedangkan kedelai sedikit lebih rendah yaitu 65%. Data ini sesuai dengan nilai Indeks Glisemiknya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Proyek Hibah Bersaing, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional atas biaya penelitiannya.

DAFTAR PUSTAKA

Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 1970. Official Methods of Analisis AOAC, Washington.

Direktorat Gizi Departemen Kesehatan R.I. 1979, Daftar Komposisi Bahan Makanan Bhratara Karya Aksara. Jakarta

Dwiana A.D., Marsono, Y. dan Zuheid Noor. 2001. Efek hipoglisemik diet protein kedele dan asam fitat terhadap tikus diabetes. Agrosains 14 (1) : 111-120.

Englyst, H.N. and Cummings, H.H.1985. Digestion of the polysacharides of some cereal foods in the human intestine. Am. J. Clin. Nutr. 42:778-787.

Gunawan, A. dan H. Tandra, 1998. Patogenesis diabetes mellitus tidak tergantung Insulin (DMTII). Pusat Diabetisi dan Nutrisi RSUD. Dr. Soetomo-FK. Unair. Surabaya Majalah Diabetes. Vol.4 No. 1

Iritani, N., Sugimoto, T., Fukuda, H., Komiya, M. and Ikeda, H.1997. Dietary soybean protein increases insulin receptor gene expression in Wistar fatty rats when dietary polyunsaturated fatty acid level is low. J. Nutr. 127 : 1077-1083.

Jenkins, D.J.A., Wolever, T.M.S., Taylor, R.H., Barker, H., Fielden, H., Baldwin, J.M., Boeling A.C., Newman, H.C. Jenkins, A.L. and Goff, D.V. 1981. Glycemic index of foods : a physiological basis for

- carbohydrate exchange. *Am. J. Clin. Nutr.* 34: 362-366.
- Kaplan, A. and Szabo, L. L. 1983.** Clinical Chemistry: Interpretation and techniques. Second edition, Lea and Febiger, Philadelphia.
- Marsono, Y. 2001.** Glycemic Index of selected Indonesian Starchy Food and Nutrition Progress 8 : 15-20.
- Marsono, Y. 2002a.** Indeks glisemik umbi-umbian. *Agritech* 22: 13-16.
- Marsono, Y. 2002b.** Sifat hipoglisemik dan hipokolesterolemik kacang kapri (*pisum sativum* LINN) dan kedelai (*Glycine max* MERR) pada tikus Sprague Dawley diabetik induksi alloxan. *Agritech* 22 (4) : 137 - 143
- Marsono, Y., Wiyono, P. dan Zuheid-Noor, 2002a** Index Glisemik kacang-kacangan. In press *Jurnal Teknologi & Industri Pangan*: XIII (3) 211-216
- Marsono, Y., Wiyono, P. dan Zuheid-Noor, 2002b.** Index Glisemik kacang-kacangan, faktor determinan dan uji efek hipoglisemiknya. Laporan Penelitian Tahun II, Hibah Bersaing IX, 2001-2003.
- Nuttall F.Q., Mooradian A. D., Gannon M.C., Billington C., Krezowski P. 1984.** Effect of protein ingestion on the glucose and insuline response to a standardized oral glucose load *Diabetes care* 7 : 465-470.
- Reeves P.G, Nielsen F.H, Fahey Jr. 1993.** AIN-93 Purified diets for laboratory rodents : final report of the American Institute of Nutrition ad Hoc Writing Committee on reformulation of the AIN-76A Rodent diet, *J.Nutr.* 123:193-1951.
- Truswell, A.S., 1992.** Glycemic index of foods. *Eur. J. Clin. Nutr.* 46 (Suppl; 2): S91-S101.
- Vessby, B. 1994.** Dietary carbohydrates in diabetes. *Am. J. Clin Nutr.* 59 (suppl) : 742S-746S.
- Wisaniyasa, N.W., Marsono Y. dan Zuheid-Noor, 2002.** Pengaruh diet ekstrak protein kedelai terhadap glukosa serum pada tikus diabetes induksi alloxan. *Agritech* 22: 22-25.
- Wolever, T.M.S. 1990.** The glycemic index. In: Bourne GH (ed): Aspects of some vitamins, minerals and enzyme in health and disease. *World Rev. Nutr. Diet.* Basel, Karger 62 : 120-185.
- Wolever, T.M.S., Cohen, Z., Thompson, L.U., 1986.** Ileal loss of available carbohydrates in man: comparison of breath method with direct measurement using a human ileostomy model. *Am. J. Gastroenterology* 81: 115-122
- Zuheid-Noor. 1998.** Penjajagan kemungkinan penggunaan kedele sebagai komponen makanan fungsional, Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Zuheid Noor., Y. Marsono dan Mary Astuti. 2000.** Sifat Hipoglisemik Komponen Kedelai. *Proceeding Seminar Nasional Industri Pangan PATPI.* Vol. 2.; 160-174