

Pengaruh Bekatul Beras Hitam terhadap Profil Farmakokinetika Glibenklamid Pada Tikus Hiperglikemik

Effect of Black Rice Bran on the Pharmacokinetics Profile of Glibenclamide in Hyperglycemic Rats

Arifah Sri Wahyuni^{1,4}, Lukman Hakim², Arief Nurrochmad², Puji Astuti³

1 Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

2 Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta

3 Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta

4 Program Doktor Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta

email: arifah.wahyuni@ums.ac.id

(tanggal diterima: 11-09-2020, tanggal disetujui: 03-11-2020)

INTISARI

Antosianin dalam bekatul beras hitam (BBH) mempunyai kemampuan untuk menurunkan gula darah. BBH dapat digunakan bersamaan dengan antidiabetik oral Glibenklamid (Gli) untuk mengoptimalkan terapi diabetes melitus. Glibenklamid suatu asam lemah diabsorpsi secara baik di saluran cerna. Absorpsi BBH juga baik pada kondisi asam. Tujuan penelitian ini mengkaji profil farmakokinetik penggunaan bersama Gli dan BBH pada tikus hiperglikemik.

Penelitian kuantitatif ini dilakukan dengan rancangan acak lengkap satu arah terhadap sepuluh (10) ekor tikus yang telah hiperglikemik, dibagi dalam dua kelompok. Tikus kelompok I mendapatkan perlakuan Gli 5 mg/kgBB, dan kelompok II mendapat Gli 5 mg/kgBB bersama dengan BBH 50 mg/kgBB. Sampling dilakukan pada jam ke 1, 2, 4,6,8 dan 24 setelah perlakuan. Kadar Gli dalam darah ditetapkan dengan Liquid Chromatography/Mass Spectroscopy (LC/MS).

Hasil penelitian menunjukkan pada fase absorpsi, pemberian BBH bersama Gli tidak mempengaruhi profil Gli yang ditinjau dari parameter T_{maks} , C_{maks} dan AUC_{0-inf} . Demikian pula pada fase distribusi dan eliminasi yang ditinjau dari parameter V_D , Cl_T dan waktu paro eliminasi ($t_{1/2}$). Sehingga pemberian BBH tidak mempengaruhi parameter farmakokinetik Gli pada tikus hiperglikemik

Kata kunci : Antosianin; Bekatul beras hitam; Glibenklamid; Profil farmakokinetik.

ABSTRACT

Anthocyanins in black rice bran (BBH) have the ability to lower blood sugar. BBH can be used together with the oral antidiabetic Glibenclamide (Gli) to optimize the therapy for diabetes mellitus. Glibenclamide, a weak acid, is well absorbed in the gastrointestinal tract. The absorption of BBH is also good under acidic conditions. The aim of this study was to examine the pharmacokinetic profile of Gli used with BBH in hyperglycemic rats.

The study was designed using a one-way completely randomized design of ten (10) hyperglycemic rats, divided into two groups. Group I rats received Gli 5 mg / kgBW treatment, and group II received Gli 5 mg/kgBW along with BBH 50 mg / kgBW. Sampling was carried out at 1, 2, 4,6, 8 and 24 hours after treatment. Gli levels in the blood were determined by Liquid Chromatography/Mass Spectroscopy (LC/MS).

The results showed that in the absorption phase, giving BBH with Gli did not affect the Gli profile in terms of parameters T_{max} , C_{max} and AUC_{0-inf} . Likewise, in the distribution and elimination phases in terms of parameters V_D , Cl_T and elimination half-time ($t_{1/2}$). So that the provision of BBH does not affect the pharmacokinetic parameters of Gli in hyperglycemic rats.

Key words : Anthocyanins; black rice bran; Glibenclamide; pharmacokinetic profile.



1. PENDAHULUAN

Glibenklamid (Gli) dalam pengobatan klinis di Indonesia masih menjadi pilihan untuk mengontrol gula darah untuk diabetes melitus tipe 2. Obat ini mengontrol gula darah dengan meningkatkan sekresi insulin oleh sel beta pancreas (1). Efektivitas penggunaan Gli tunggal pada pasien diabetes melitus tipe 2 disebutkan tercapai 66,7% berhasil mengontrol gula darah pada hari ke-5 (2). Namun penggunaan Gli setelah 4 tahun pemakaian akan terjadi kerusakan sel beta pancreas yang lebih cepat dibanding dengan pemakaian insulin (3). Kerusakan sel beta pancreas ini dapat dipicu dengan peningkatan ROS yang diproduksi dari hasil metabolisme asam lemak (FA) dan glukosa (4). Produksi ROS diperlukan untuk sekresi insulin melalui peningkatan Glucose Stimulated Insulin Secretion (GSIS), namun jika produksi ROS berlebihan atau berkelanjutan akan berkorelasi negatif dengan proses sekresi insulin (5).

Peningkatan ROS dapat ditekan dengan suatu antioksidan, diantaranya bekatul beras hitam (BBH) yang mengandung flavonoid golongan apigenin, kuersetin dan antosianin dan telah dibuktikan mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi (6,7). Selain sebagai antioksidan, BBH juga mempunyai kemampuan menurunkan gula darah (8). Pemakaian secara bersama glibenklamid dan BBH mempunyai keuntungan mampu menurunkan glukosa darah bahkan dapat mencegah kerusakan sel beta pankreas (9). Di masyarakat pemakaian antara Gli dan bahan alam seperti BBH dapat digunakan secara bersama atau diberikan jeda. Untuk itu perlu dipelajari lebih lanjut adanya interaksi farmakokinetik pemakaian kombinasi tersebut ketika digunakan pada saat bersamaan.

Gli adalah suatu asam lemah, absorpsinya akan efektif di lambung, dan mengalami peningkatan absorpsi pada kondisi hiperglikemik (10). Absorpsi antosianin dalam BBH juga efektif di saluran cerna. Apabila keduanya digunakan secara bersama akan berpotensi terjadi interaksi pada fase farmakokinetik. Untuk itu pemakaian bersama Gli dan BBH perlu ditetapkan parameter farmakokinetik dibandingkan pemakaian tunggalnya pada kondisi hiperglikemik.

2. METODE PENELITIAN

2.1. ALAT DAN BAHAN

BBH (*Oriza Sativa*, L) yang ditanam di daerah Klaten Jawa Tengah, Glibenklamid (Gli) yang dibeli dari PT. Indofarma, Jakarta; alloxan monohydrate (Sigma-Aldrich, NSW, Australia), alkohol (teknis), HCl (teknis), aquades, metanol LC-MS Grade (Merck), aqua water for injection (WFI).

2.2. Hewan UJI

Tikus Wistar jantan dengan bobot (160–180), umur 2-3 bulan yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Tikus diberikan pakan standard yang seimbang dan minum ad libitum, dipelihara dalam kondisi ruang pemeliharaan dengan suhu (25±1°C) dan mendapat pencahayaan



dengan siklus gelap/terang 12 jam gelap/12 jam terang. Tikus diaklimatisasikan selama seminggu sebelum digunakan dalam penelitian ini. Prosedur eksperimental yang digunakan dalam penelitian ini telah mendapat persetujuan dari komisi etik penelitian kesehatan (KEPK) FK UMS dengan nomor surat KEPK (No. 1742/A.1/KEPK-FKUMS/XI/2018).

2.3. CARA KERJA

2.3.1. Pembuatan ekstrak bekatul beras hitam diperkaya sianidin-3-glukosida

Bekatul beras hitam (BBH) yang telah dikeringkan, direndam selama 2 jam pada 50°C dengan etanol : air : asam klorida (50:50:0,5,v/v/v) dengan rasio serbuk: penyari (01:10)(11). Filtrat diuapkan dengan vakum evaporator selama 6 jam dan dilanjutkan dengan dry exhauser selama 24 jam hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstraksi ini dilakukan sebagai upaya memperkaya kandungan sianidin-3-glukosida. Ekstrak ini telah ditetapkan kandungan antosianin totalnya sebesar (292,79±6,96) µg/g.

2.3.2. Pemodelan hewan uji hiperglikemik

Sepuluh (10) ekor tikus diinduksi dengan aloksan 150 mg/kgBB (0,3% dalam larutan saline) secara intraperitoneal. Dua (2) jam berikutnya diberikan glukosa 20% secara peroral untuk menghindari hipoglikemik. Kadar gula darah dipantau pada hari ke 0 sebagai data awal dan hari ke-5 induksi. Hewan uji dijadikan model tikus diabetes jika menunjukkan kadar gula darah > 200 mg/dL. Pengambilan darah melalui vena conjunctiva dengan menggunakan mikropipet pada mata. Penetapan kadar gula darah dilakukan sebelum perlakuan dan setelah induksi aloksan hari ke 4. Penetapan Kadar gula darah dilakukan dengan metode spektrofotometri dengan reagen Glucose Oksidase – Peroxidase Aminoantipirin (GOD-PAP) (12).

2.3.3. Perlakuan dengan Glibenklamid tanpa dan dengan BBH

Sepuluh (10 ekor) tikus yang telah menunjukkan hiperglikemik dibagi menjadi 2 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor. Kelompok I diberi Gli (5 mg/kgBB), kelompok II diberi Gli (5 mg/kgBB) + ekstrak BBH (50mg/kgBB). Semua perlakuan diberikan secara oral. Sampling dilakukan pada jam ke-1, 2, 4, 6, 8, 24. Setiap pengambilan darah, tikus diganti cairan dengan saline 1 mL. Serum yang terkumpul disimpan pada suhu -21°C. Kadar Gli dalam serum ditetapkan dengan LC-MS.

2.3.4. Penetapan kadar Glibenklamid dalam serum dengan LCMS

Sebanyak 100 µL serum yang mengandung Gli dalam tabung effendorf 1,5 mL ditambahkan methanol LC-MS grade sampai 1000 µL. Campuran disentrifuge dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipisahkan dan disaring menggunakan filter 0,2 µm. Sampel dimasukkan dalam screw top vial LC-MS, siap diinjeksikan ke LCMS.



Parameter Alat LC-MS: Waters UPLC-XevoTQD Tandem Mass Spectroscopy. Cappillary Voltage 3750 V, Cone Voltage 25 V, Dessolvation Temperature 500oC, Collision Energy 20 V, Ionisasi ES+, Parent Ion Glibenclamide 493,88 m/z, daughter ion 368,9 m/z. Kolom/fase diam: ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μ m 2.1x100 mm column. Fase gerak: Metanol : Air (80:20) LCMS Grade (Merck), flow rate 0,3 mL per menit.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pemodelan hiperglikemik dengan induksi aloksan 150 mg/kgBB intraperitoneal

Kondisi hiperglikemik tikus dibuat dengan memberikan aloksan sebagai agen diabetogenik. Aloksan secara cepat dapat masuk ke sel beta pancreas dan dapat mengakibatkan gangguan sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat (13). Semua hewan uji yang diinduksi dengan aloksan 150 mg/kgBB secara intraperitoneal menunjukkan hiperglikemik ke 5. Rata-rata kadar gula darah seluruh hewan uji yang diinduksi adalah (288,5 \pm 67,87) mg/dL (**Tabel 1**).

Tabel 1. Data glukosa dalam darah sebelum dan setelah diinduksi aloksan 150 mg/kgBB

Kelompok	Data kadar gula dalam darah (mg/dL) pada saat	
	Sebelum induksi (n= 5)	Setelah induksi (n=5)
I. Gli 5 mg/kgBB	115,2 \pm 11,82	287,4 \pm 51,97
II. Gli 5 mg/kgBB + BBH 50 mg/kgBB	88,4 \pm 8,14	289,6 \pm 87,53
Rata-rata seluruh kelompok (n=10)	101,8 \pm 17,06	288,5 \pm 67,87

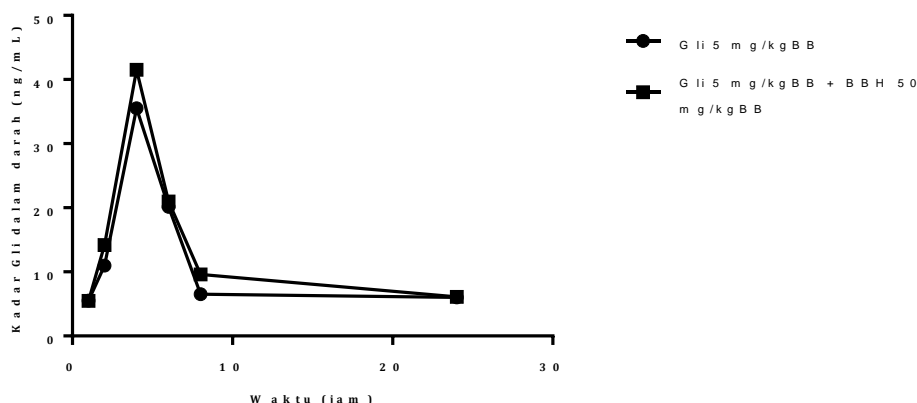
3.2. Profil farmakokinetik glibenkalmid (Gli) dalam darah tanpa dan dengan pemberian Bersama BBH pada tikus hiperglikemik

Kadar Gli dalam darah yang ditetapkan dengan LC-MS dari jam ke 1 sampai jam ke 24 menunjukkan kadar puncak pada jam ke-4. Baik kelompok Gli dan kelompok Gli+BBH menunjukkan profil kadar obat dalam darah yang sama (**Tabel 2, Gambar 1**).

Tabel 2. Data kadar Gli dalam darah (ng/mL) kelompok I dan II pada sampling dari jam 1 sampai jam ke-24 pada tikus hiperglikemik

Jam ke-	Data kadar Gli (ng/mL) dalam darah masing-masing kelompok setelah pemberian	
	I. Gli 5 mg/kgBB	II. Gli 5 mg/kgBB + BBH 50 mg/kgBB
1	5,50 \pm 0,04	5,48 \pm 0,00
2	10,97 \pm 1,39	14,17 \pm 4,33
4	35,52 \pm 2,59	41,52 \pm 9,29
6	20,15 \pm 3,89	20,97 \pm 1,60
8	6,52 \pm 0,14	9,62 \pm 2,83
24	6,01 \pm 0,16	6,09 \pm 0,34





Gambar 1. Kurva kadar Gli dalam darah pada kelompok I. Gli 5 mg/kgBB dan kelompok II. Gli + BBH 50 mg/kgBB

Parameter farmakokinetik yang ditetapkan adalah T_{maks} , C_{pmaks} dan AUC_{0-inf} untuk membandingkan keefektifan absorpsinya dan parameter Cl_T dan $t_{1/2}$ untuk keefektifan eliminasinya (

Tabel 3). Kedua kelompok menunjukkan parameter farmakokinetik yang tidak berbeda ($p>0,05$). Waktu mencapai puncak kedua kelompok tercapai pada jam ke-4. Dengan nilai C_{pmaks} yang tidak berbeda signifikan, yaitu $(35,52 \pm 7,04)$ ng/mL pada kelompok Gli dan $(41,52 \pm 9,29)$ ng/mL. Jumlah Gli dalam darah yang ditunjukkan dengan nilai AUC_{0-inf} tidak mengalami perbedaan ($p>0,05$), yaitu $(329,77 \pm 0,02)$ ng/ml. jam pada kelompok Gli dan $(379,44 \pm 49,72)$ ng/ml. jam pada kelompok Gli+BBH.

Rata-rata lama tinggal molekul obat dalam sirkulasi sitemik dan jaringan yang ditunjukkan dengan nilai *Mean Residence Time* (MRT), ditemukan bahwa BBH tidak memberikan pengaruh. Hasil MRT pada kelompok Gli $(17,10 \pm 0,98)$ jam dan kelompok Gli+BBH sebesar $(16,39 \pm 1,89)$ jam (

Tabel 3). Nilai MRT ini tidak tergantung pada jalur pemberian, ketersediaan hayatinya. Nilai ini akan akurat pada pemberian obat dengan ekstrasvaskuler dengan absorpsi yang cepat (14). Parameter ini dapat digunakan untuk memperkirakan durasi efek untuk molekul yang bekerja langsung pada tempat aksinya.

Pada fase distribusi, profil farmakokinetik Gli yang diberikan tunggal maupun bersama dengan BBH menunjukkan nilai V_D yang tidak berbeda signifikan ($p>0,05$). Berturut-turut nilai V_D (mg/kgBB/ng/mL) pada kedua kelompok adalah $(0,27 \pm 0,02)$ dan $(0,24 \pm 0,03)$ (

Tabel 3).

Keefektifan fase eliminasi dapat dinilai dari parameter Cl_T dan $t_{1/2}$ eliminasinya. Kedua parameter ini tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p>0,05$). Nilai parameter Cl_T keduanya kelompok Gli dan kelompok Gli+BBH menunjukkan nilai yang sama, yaitu $(0,02 \pm 0,00)$ (mg/kg)/(ng/ml)/jam. Demikian

pula nilai $T_{1/2}$ eliminasi kedua kelompok berturut-turut ($10,21 \pm 0,71$) dan ($10,44 \pm 1,94$) jam (

Tabel 3).

Tabel 3. Nilai parameter farmakokinetika Gli setelah pemberian Gli oral 5 mg/kgBB (kontrol) dan adanya praperlakuan bersama BBH oral 50 mg/kgBB pada tikus hiperglikemik

Parameter farmakokinetik	Satuan	Nilai ($X \pm SD$)	
		Kelompok Gli	Kelompok Gli+ BBH
T_{maks}	jam	$4,00 \pm 0,00$	$4,00 \pm 0,00$
$C_{p_{maks}}$	ng/mL	$35,52 \pm 7,04$	$41,52 \pm 9,29$
AUC_{0-inf}	ng/ml. jam	$329,77 \pm 0,02$	$379,44 \pm 49,72$
V_D	mL/kg	$0,27 \pm 0,02$	$0,24 \pm 0,03$
$T_{1/2}$ eliminasi	jam	$10,21 \pm 0,71$	$10,44 \pm 1,94$
Cl_T	mL/jam/kg	$0,02 \pm 0,00$	$0,02 \pm 0,00$
MRT (Mean Residence Time)	jam	$17,10 \pm 0,98$	$16,39 \pm 1,89$

3.3. Pembahasan

Induksi aloksan 150 mg/kgBB pada tikus mampu meningkatkan kadar gula dalam darah naik, dengan kadar gula darah tertetapkan >200 mg/kg BB pada hari ke-4 baik kelompok I maupun II (**Tabel 1**). Rata-rata gula darah Aloksan akan meningkatkan glukosa darah melalui peningkatan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel beta pankreas. Akibatnya, konsentrasi insulin meningkat secara signifikan dengan ada atau tiadanya glukosa. Lebih lanjut, kenaikan insulin ini akan menimbulkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat (13,15). Sensitivitas insulin yang menurun inilah yang menyebabkan kadar glukosa dalam darah meningkat.

Pada kondisi hiperglikemik parameter farmakokinetik Gli mengalami perubahan, diantaranya fase absorpsi akan mengalami peningkatan untuk parameter $C_{p_{maks}}$, T_{maks} dan $AUC_{(0-720 \text{ min})}$ (10). Gli adalah suatu asam lemah dengan nilai $pK_a = 4,32$ akan mudah diabsorpsi pada saluran cerna (16). Disamping itu rendahnya ekspresi P-glycoprotein (P-gp) pada kondisi diabetes menyebabkan efflux dari Gli menjadi rendah pula (17). Sampling dilakukan sampai dengan 24 jam yang didasarkan pada waktu paruh eliminasi Gli 2-6 jam (1), sehingga jam ke 24 atau 4 kali $T_{1/2}$ nya diharapkan kadar obat di dalam darahnya sudah tereliminasi lebih dari 95% (**Tabel 2, Gambar 1**).

Gli yang diberikan secara oral pada tikus yang hiperglikemik tanpa dan dengan BBH menunjukkan profil farmakokinetik yang hampir mirip, dengan waktu tercapainya puncak terjadi sekitar jam ke-4. Parameter farmakokinetik Gli tidak berubah dengan pemberian bersama BBH baik pada fase absorpsi maupun fase eliminasi. Kadar puncak Gli tercapai pada kadar ($35,52 \pm 7,04$) ng/mL, sementara adanya BBH yang diberikan bersama tidak meningkatkan $C_{p_{maks}}$ secara signifikan, yaitu ($41,52 \pm 9,29$) ng/mL (



Tabel 3). Hal ini kemungkinan tidak ada interaksi farmakokinetik diantara kedua senyawa itu. BBH dengan kandungan sianidin-3-glukosida (C3G), suatu antosianin yang mencapai kadar puncak pada jam ke $(1,8 \pm 0,2)$ (18). Antosianin dalam bentuk glikosida akan diserap oleh di lambung dan usus secara cepat dan efisien (19,20). Antosianin seperti *cyanidin-3-glukosida* dan *pelargonidin-3-glukosida* dapat diserap dalam bentuk utuh di gastrointestinal (21). Glikosida antosianin tidak lagi terdeteksi di saluran GI setelah 8 jam pemberian (22). Antosianin dapat diserap ke dalam sel epitel usus melalui transporter glukosa seperti *glukosa transporter 2* (GLUT2) dan *Sodium-Dependent Glucose Transporter 1* (SGLT1) (23).

Gambaran fase distribusi Gli ditunjukkan oleh parameter V_D , yang nilainya tidak berbeda dengan kelompok yang diberikan BBH. Nilai V_D yang ditemukan berturut-turut kelompok Gli dan kelompok Gli+BBH adalah $(0,27 \pm 0,02)$; $(0,24 \pm 0,03)$ mL/kgBB (

Tabel 3). Nilai tersebut tergolong kecil, hal ini dikarenakan Gli secara luas terikat pada protein plasma (16). Pengikatan obat oleh protein darah akan mempengaruhi volume distribusinya (14).

Waktu paruh eliminasi Gli yang diberikan oral pada tikus didapatkan nilai $(10,21 \pm 0,71)$ jam. Nilai ini tidak terpengaruh dengan pemberian BBH yang menunjukkan nilai $t_{1/2}$ nya sebesar $(10,44 \pm 1,94)$ jam. Pada fase eliminasi ini nilai klirens Gli juga tidak terpengaruh dengan pemberian BBH (

Tabel 3). Hal ini terkait dengan pelibatan enzim pemetabolisme yang berbeda diantara Gli dan BBH. Glibenklamid melibatkan CYP3A4 sebagai enzim utama dalam metabolisme Gli secara in vitro dengan kontribusi lebih dari 50%, meskipun isoform CYP lainnya seperti CYP2C19 dan CYP2C8 juga berkontribusi pada metabolisme Gli (24). Sementara antosianin banyak ditemukan dalam plasma sebagai glukuronida, sulfat dari sianidin, dan sebagai bentuk yang tidak berubah (22). Hal ini menunjukkan kemungkinan tidak terjadi interaksi pada proses metabolisme.

Ditinjau dari proses absorpsi dan eliminasinya, pemberian BBH tidak mempengaruhi profil farmakokinetik Gli, maka perlu dikaji lebih lanjut untuk pengaruh pada farmakodinamik Gli dalam mengontrol gula darah, mengingat kemampuan BBH yang dapat berlaku sebagai antioksidan, mempunyai potensi untuk menghambat dan memperbaiki kerusakan sel yang ditimbulkan pada kondisi hiperglikemik.

4. KESIMPULAN

Pemberian BBH secara oral pada tikus diabetes tidak mempengaruhi profil farmakokinetika Gli baik fase absorpsi (T_{maks} , C_{pmaks} , AUC_{0-inf}), fase distribusi (V_D) maupun fase eliminasi ($T_{1/2}$ dan Cl_T).

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muhammadiyah Surakarta yang telah mensupport dan mendanai penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- (1). Soelistijo S, Novida H, Rudijanto A, Soewondo P, Suastika K, Manaf A, et al. 2015. Konsensus Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe2 Di Indonesia. Perkeni. 82 p.
- (2). Lestari W. 2013. Gambaran Efektivitas Penggunaan Obat Antidiabetik Tunggal dan Kombinasi Dalam Mengendalikan Gula Darah Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe II di Rumah. Skripsi.
- (3). Alvarsson M, Sundkvist G, Lager I, Berntorp K, Fernqvist-Forbes E, Steen L, et al. 2008. Effects of insulin vs. glibenclamide in recently diagnosed patients with type 2 diabetes: a 4-year follow-up. *Diabetes Obes Metab*;10(5):421-9.
- (4). Graciano M., Valle M, Kowluru A, Curi R, Carpinelli A. 2011. Regulation of insulin secretion and production of reactive oxygen species by free fatty acids in pancreatic islets. *Islets*;3(5):213-23.
- (5). Pi J, Bai Y, Zhang Q, Wong V, Floering LM, Daniel K, et al. 2007. Reactive oxygen species as a signal in glucose-stimulated insulin secretion. *Diabetes*;56(7):1783-91.
- (6). Kaneda I, Kubo F, Sakurai H. 2006. Antioxidative Compounds in the Extracts of Black Rice Brans. *J Heal Sci*;52(5):495-511.
- (7). Ghasemzadeh A, Karbalaii MT, Jaafar HZE, Rahmat A. 2018. Phytochemical constituents, antioxidant activity, and antiproliferative properties of black, red, and brown rice bran. *Chem Cent J*;12(1):1-13.
- (8). Hlaing EE, Piamrojanaphat P, Lailerd N, Phaonakrop N, Roytrakul S. 2017. Anti-Diabetic Activity and Metabolic Changes in Purple Rice Bran Supplement Type 2 Diabetic Rats by Proteomics. *Int J Pharmacogn Phytochem Res*;9(3):428-36.
- (9). Wahyuni AS, Hakim L, Nurrochmad A, Astuti P. 2020. The synergistic effect of black rice bran extract and glibenclamide on protecting renal, hepatic, and pancreatic cells in alloxan induced rats. *Int J Pharm Res*;12(1):509-17.
- (10). Li Y, Wei Y, Zhang F, Wang D, Wu X. 2012. Changes in the pharmacokinetics of glibenclamide in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Acta Pharm Sin B*;2(2):198-204.
- (11). Bae IY, An JS, Oh IK, Lee HG. 2017. Optimized preparation of anthocyanin-rich extract from black rice and its effects on in vitro digestibility. *Food Sci Biotechnol*;26(5):1415-22.
- (12). Ambade V., Sharma Y., Somani B. 1998. Methods for Estimation of Blood Glucose : a Comparative Evaluation. *Med J Armed Forces India*;54(2):131-3.
- (13). Nugroho AE. 2006. Animal Models of Diabetes Mellitus: Pathology and Mechanism of Some Diabetogenics. *Biodiversitas, J Biol Divers*;7(4):378-82.
- (14). Hakim L. 2010. Farmakokinetik. Yogyakarta: Bursa Ilmu; 361 p.
- (15). Szkudelski T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in β Cells of Rat Pancreas. *Minireview, Physiol Res*;50:536-46.
- (16). Chang CT, Ying AJ, Woei WJ, Siew TS, Kuen CS, Beoy LA, et al. 2020. Bioequivalence and pharmacokinetic comparison of two fixed dose combination of metformin/glibenclamide formulations in healthy subjects under fed condition. *Med J Malaysia*;75(3):286-91.



- (17). Nawa A, Wakako F., Kishioka S, Tokuyama S. 2011. Decreased Expression of Intestinal P-glycoprotein Increases the Analgesic Effects of Oral Morphine in a Streptozotocin-induced Diabetic Mouse Model. *Drug Metab Pharmacokinet*;Volume 26(Issue 6):Pages 584-591.
- (18). De Ferrars RM, Czank C, Zhang Q, Botting NP, Kroon PA, Cassidy A, et al. 2014. The pharmacokinetics of anthocyanins and their metabolites in humans. *Br J Pharmacol*;171(13):3268–82.
- (19). Talavéra S, Felgines C, Texier O, Besson C, Manach C, Lamaison JL, et al. 2004. Anthocyanins are efficiently absorbed from the small intestine in rats. *J Nutr*;134(9):2275–9.
- (20). Fernandes I, de Freitas V, Mateus N. 2014. Anthocyanins and human health: How gastric absorption may influence acute human physiology. *Nutr Aging*;2(1):1–14.
- (21). Fang J. 2014. Bioavailability of anthocyanins. *Drug Metab Rev*;46(4):508–20.
- (22). Olivas-Aguirre FJ, Rodrigo-García J, Martínez-Ruiz N del R, Cárdenas-Robles AI, Mendoza-Díaz SO, Álvarez-Parrilla E, et al. 2016. Cyanidin-3-O-glucoside: Physical-Chemistry, Foodomics and Health Effects. *Molecules*;21(9):1–30.
- (23). Zou T Bin, Feng D, Song G, Li HW, Tang HW, Ling WH. 2014. The role of sodium-dependent glucose transporter 1 and glucose transporter 2 in the absorption of cyanidin-3-O- β -glucoside in caco-2 cells. *Nutrients*;6(10):4165–77.
- (24). Zhou L, Naraharisetti S., Liu L, Wang H, Lin Y., Isoherranen N, et al. 2011. Contributions of human cytochrome P450 enzymes to glyburide metabolism. *Biopharm Drug Dispos*;31(4):228–42.

