

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI (M)**



**MENANGGULANGI DIABETES MELLITUS DENGAN SEL T REGULATOR
YANG DIINDUKSI PROPOLIS**

Ketua : Muhaimin Rifa'i, PhD. Med.Sc NIDN: 0026066803
Anggota : Widodo, PhD.Med.Sc NIDN: 0011087306

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Melalui DIPA Universitas Brawijaya nomor: DIPA-023.04.2.414989/2013, tanggal 5 Desember 2012, dan berdasarkan SK Rektor Universitas Brawijaya Nomor: 407/SK/2013 tanggal 2 September 2013

UNIVERSITAS BRAWIJAYA
Oktober 2013

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Menanggulangi diabetes mellitus dengan sel T regulator yang diinduksi propolis

Peneliti / Pelaksana

Nama Lengkap : Muhaimin Rifa'i, PhD.Med.Sc
NIDN : 0026066803
Jabatan fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Biologi
Nomor HP : 081233011126
Alamat surel (e-mail) : rifa123@ub.ac.id

Anggota Peneliti I

Nama Lengkap : Widodo, S.Si, M.Si, PhD.Med.Sc
NIDN : 0011087306
Perguruan Tinggi Anggota : Universitas Brawijaya
Peranggung Jawab : Muhaimin Rifa'i, PhD.Med.Sc
Tahun pelaksanaan : Tahun ke-1 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp. 85.000.000,-
Biaya keseluruhan : Rp.300.000.000,-

Malang, 20 Desember 2013

Ketua Peneliti,



Muhaimin Rifa'i, PhD.Med.Sc
NIP. 196806261997021001



Menyetujui,
Ketua LPPM UB

Widodo, M.Phil
NIP. 196211011988031004



Menyetujui,
Ketua LPPM UB

Prof. Dr. Ir. Siti Chuzaimi, MS.
NIP. 19550514 198002 2 001

MENANGGULANGI DIABETES MELLITUS DENGAN SEL T REGULATOR YANG DIINDUKSI PROPOLIS

Muhammad Rifa'i dan Widodo

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brunei Jaya

ABSTRAKS

Dalam studi ini, diteliti efek ekstrak etanol propolis pada fungsi imunologi pada mencit model diabetes. Di sini diteliti keterlibatan sel T regulator, perubahan profil molekul permukaan sel, dan produksi IFN- γ in vivo. Dalam penelitian ini digunakan mencit model diabetes mellitus (DM) dengan menyuntikkan peptida S961 pada mencit normal. Pada hari 15, limpa diisolasi dan dianalisis dengan menggunakan flow cytometry. Perlakuan propolis pada mencit diabetes mengakibatkan penurunan kadar gula darah secara signifikan dan meningkatkan jumlah sel-sel T naive. Propolis yang diberikan pada mencit normal dapat meningkatkan jumlah sel CD4⁺CD25⁺ T dan pada model mencit diabetes mellitus propolis dapat menekan perkembangan sel-sel efektor, sehingga sel-sel hematopoietik didominasi oleh sel T naive yang mengekspresikan molekul CD62L. Pada mencit normal propolis dapat meningkatkan produksi IFN- γ , sedangkan pada tikus model diabetes mellitus propolis cenderung menekan produksi IFN- γ . Perbedaan antara kelompok dianggap signifikan pada $P < 0,05$.

Kata Kunci : Diabetes, Tikus, Propolis, S961 Peptide, sel T regulator.

ERADICATE DIABETES MELLITUS USING PROPOLIS-INDUCED REGULATORY T CELLS

Muhaimin Rifa'i dan Widodo

Biology Department, Faculty of Sciences, Brajajaya University

ABSTRACT

In the present study, we examined the effect of ethanolic soluble derivative of propolis (EEP) extract on immunological function in mice model of diabetic mice. In this experiment we highlight the function of regulatory T cell, the change of cell surface molecule, and IFN- γ productions in vivo. In this study we used murine models of diabetes mellitus (DM) by injecting normal mice with S961 peptide. On day 15, the spleen was isolated and analyzed using flow cytometry. Administration of propolis to diabetic mice resulted in a significant decrease of blood sugar levels and increase the number of naïve T cells. When propolis is given to normal mice, it can increase the number of CD4⁺CD25⁻ T cells. In mouse models of diabetes mellitus propolis can suppress the development of effector cells, so that hematopoietic cells are dominated by naïve T cells that express CD62L molecule. In normal mice propolis increased the production of IFN- γ , whereas in mice model of diabetes mellitus propolis tends to suppress the production of IFN- γ . The differences between groups were considered significant at $P < 0.05$.

Keywords: Diabetes, Mice, Propolis, S961 Peptide, Regulatory T cells.

MENANGGULANGI DIABETES MELLITUS DENGAN SEL T REGULATOR YANG DIINDUKSI PROPOLIS

Muhammad Rifa'i dan Widodo

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brunei

RINGKASAN

Saat ini diketahui, 4,6% dari total penduduk Indonesia menderita diabetes mellitus. Angka ini diperkirakan bertambah menjadi 7,8% pada tahun 2030. Selama ini, pengobatan berbagai penyakit termasuk diabetes mellitus tipe-2 (DM-2) banyak bergantung pada obat-obat sintesis. Di lain pihak, banyak klaim yang menyatakan bahwa propolis dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit degeneratif termasuk diabetes mellitus. Namun sayangnya belum dilakukan penelitian yang memadai atas klaim-klaim yang ada itu. Pada penelitian ini telah diuji kemampuan propolis sebagai imunomodulator yang menginisiasi normalitas metabolisme dan homeostasis. Dalam penelitian ini digunakan model diabetes mellitus (DM) dengan cara menginjeksi mencit normal dengan peptida S961. Dalam penelitian ini diperoleh data bahwa propolis yang diberikan secara oral pada mencit DM terbukti dapat mengurangi kadar gula darah. Propolis yang diberikan pada mencit normal diketahui meningkatkan jumlah sel T dengan marker $CD4^+CD25^+$. Peningkatan sel T dengan penanda $CD4^+CD25^+$ diduga karena adanya aktivasi sel T sehingga terjadi sintesis molekul CD25 (IL-2R α). Pada mencit model DM propolis dapat menekan perkembangan sel-sel efektor sehingga sel-sel hematopoietik didominasi oleh sel T naive yaitu sel yang mengekspresikan molekul CD62L. Penekanan sel-sel efektor ini penting pada individu yang mengalami diabetes mellitus. Penekanan fungsi efektor ini diduga untuk menghindari kerusakan level jaringan yang lebih besar pada model mencit diabetes mellitus. Penekanan fungsi efektor yang terlihat pada marker permukaan sel sejalan dengan produksi sitokin misalnya interferon gamma. Pada mencit normal propolis dapat meningkatkan produksi IFN- γ , sedangkan pada mencit model DM propolis cenderung menekan produksi IFN- γ . Pada analisis histologi hepar telah diketahui bahwa pada dosis 50-200 mg/kg BB propolis tidak menunjukkan efek toksik, sehingga pada dosis tersebut masuk kategori aman. Signifikansi data dianalisis menggunakan software SPSS 16, melalui uji One-Way ANOVA dan uji lanjut Tukey, dengan nilai signifikansi $P < 0,05$.

Eradicate Diabetes Mellitus T Cells With Regulator Induced Propolis

Muhaimin Rifa'i dan Widodo

Biology Department, Faculty of Sciences, Brawijaya University

SUMMARY

It is currently unknown, 4.6 % of the total Indonesian population suffer from diabetes mellitus. This number is estimated to increase to 7.8 % in 2030. During this time, the treatment of various diseases including type 2 diabetes mellitus (DM- 2) much relies on the farmatical drug synthesis. On the other hand, there are some claims that propolis can cure a wide range of degenerative diseases including diabetes mellitus. Unfortunately there are no enough of research over that claims. In this study we tested the ability of propolis as an immunomodulator that initiate normality metabolism and homeostasis. In hhis study we used murine models of diabetes mellitus (DM) by injecting normal mice with S961 peptide. In this study we showed that propolis which is given orally to the mice model of DM reduce blood sugar levels. Administration of propolis to normal mice are known to increase the number of T cells with the marker of CD4⁺CD25⁺. The increase in T cells with CD4⁺CD25⁺ marker suspected as T cell activation in which CD25 (IL - 2R α) molecule is up-regulated. In mouse models of diabetes, propolis can suppress the development of effector cells so that the hematopoietic cells is dominated by naive T cells that express CD62L molecule. Suppression of effector cells is important in individuals with diabetes mellitus. Suppression of effector function is thought to avoid further damage of tissues in mouse models of diabetes mellitus. The suppression of fector function that looks at the cell surface markers consistent with the production of intracellular cytokines such as interferon gamma (IFN- γ). In normal mice propolis can increase the production of IFN- γ , whereas in mice model of diabetes tends to suppress the production of IFN- γ . Histological analysis of the liver has been known that at a dose of 50-200 mg/kg BW propolis does nor showed toxic effect, so that the doses are categorized as safe. The significance of the data were analyzed using SPSS 16 software, through the One - Way ANOVA and Tukey test, with a significance value of $P < 0.05$ level.

DAFTAR PUSTAKA

1. Obatalami. 2011. Cara Mencegah Diabetes. <http://obatalami.agengamat.net/tag/-penderita-diabetes-mellitus-indonesia/>. Tanggal akses 08 Februari 2012.
2. Li, Y., M. Chen, H. Xuan, dan F. Hu. 2011. Effects of Encapsulated Propolis on Blood Glycemic Control, Lipid Metabolism, and Insulin-Resistance in Type 2 Diabetes Mellitus Rats. Hindawi Publishing Corporation. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Vol. 2012.
3. Vikram A, Jena G. 2010. S961, an insulin receptor antagonist causes hyperinsulinemia, insulin-resistance and depletion of energy stores in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Jul 23;398(2):260-5
4. Syamsudin, Rita, D. Marletta, dan Kusmardi. 2008. Immunomodulatory and *in vivo* Antiplasmodial Activities of Propolis Extract. *Global Journal of Pharmacology*. Vol. 2, no.3. pp. 37-40.
5. Arora, S., S. K. Ojha, dan D. Vohora. 2009. Characterization of Streptozotocin Induced Diabetes Mellitus In Swiss Albino Mice. *Global Journal Of Pharmacology*. Vo. 3, No. 2. Pp. 81-84.
6. Nofriadi, D. 2011. Mengenal Penyakit Diabetes. http://propolisdiamond.com/index.php?view=article&catid=1%3Alatest-news&id=6%3Amengenal-penyakit&format=pdf&option=com_content. Tanggal akses 15 April 2012.
7. Szliszka, E., Z. P. Czuba, J. Bronikowska, A. Mertas, A. Paradysz, dan W. Krol. 2009. Ethanolic Extract of Propolis Augment TRAIL-Induced Apoptotic Death in Prostate Cancer Cells: Original Article. Hindawi Publishing Corporation. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Volume 2011.
8. Sayed, E. M., O. M. Abo-Salem, H. A. Aly, dan A. M. Mansour. 2009. Potential Antidiabetic And Hypolipidemic Effects Of Propolis Extract In Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Pak. J. Pharm. Sci.*, Vol.22, No. 2, pp.168-174

9. Sartori, D.R.S., C.L. Kawakami, C.L. Orsatti, J.M., Sforcin. 2009. Propolis Effect On Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J Venom Anim Toxin incl Trop Dis*. Vol. 15, No. 1, pp.93-102
10. Ganong, F.G. 2005. Endocrine functions of the pancreas & regulation of carbohydrate metabolism. In: *Review of Medical Physiology*. New York: McGraw-Hill Book Company. pp. 336-355.
11. Mahler, R.J. dan Adler, M. L. 1999. Type 2 Diabetes Mellitus: Update On Diagnosis, Pathophysiology, And Treatment. *Clinical Review 102. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Vol.84, No.4. pp. 1165-1171.
12. Jaya, F., Radiati, L. K., Al-Awwaly, K. U., Kalsum, U. 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis Terhadap Sistem Kekebalan Seluler Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar. Universitas Brawijaya, Malang.
13. Khusnul, H. Z. 2009. Efek Sitotoksik dan Penghambatan Pertumbuhan Oleh Ekstrak Propolis Lokal Terhadap Kultur Sel HeLa Melalui Penghambatan Aktivitas NFkB. Program Studi Biomedik, Program Pasca Sarjana, Universitas Brawijaya, Malang.
14. Sforcin, J. M. 2007. Propolis and Immune System: A Review. *J. Ethnopharmacol*. No. 113. pp. 1-14
15. Cetin, E., S. Silici, N. Cetin, dan B.K. Guclu. 2010. Effects Of Diets Containing Different Concentration of Propolis On Hematological And Immunological Variables In Laying Hens. *Poultry Science* No. 89. Pp. 1703-1708.
16. Wu, C. C., Sytwu, H. K., Lu, K. C. dan Lin, Y. F. 2011. Role Of T Cell In Type 2 Diabetic Nephropathy: Review Article. Hindawi Publishing Corporation, *Experimental Diabetes Research*, Volume 2011.
17. Masruro, N. 2010. Aktivasi Protein Insulin Reseptor Substrat I (IRS-1) Oleh Glukomanan dari Tepung Porang Untuk Meminimalisir Kerusakan Sel Beta Pankreas Tikus Diabet. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.
18. Christian, N. 2011. Preiksi Kemampuan Insulin Reseptor Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Dalam Aktivasi Insulin Receptor Substrate-I (IRS-1) Secara In

Silico, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Brawijaya, Malang

19. Kusumawardani, R. K. 2011. Deteksi IGF-1 Pada Serum Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang