

The Effect of Polyphenol as Antioxidant to Blood Glucose and Insulin Level on Diabetic Male Swiss-Webster Mice (*Mus musculus L.*)

Student : Raden Tanita Astrian
Skripsi (2009), Program Studi Sarjana Biologi SITH,
email : tanita_astrian@yahoo.com

Advisors : Dr. Ahmad Ridwan
SITH ITB
email: ridwan@sith.itb.ac.id

Degree : Degree Sains (S.Si), Conferred March 2009

ABSTRACT

Diabetes mellitus, is a chronic disease characterized by mild to severe dysregulation of glucose homeostasis results in hyperglycemia. Recent evidence suggests that oxidative stress may contribute to the pathogenesis of diabetes. Oxidative stress, defined as the production of reactive oxygen species (ROS or free radical) beyond the protective capability of the natural antioxidant defense. Chronic hyperglycemia associated with oxidative stress may lead to a reduced number of glucose transporters that increasing insulin resistance, impairment of insulin signaling, and then the adverse effects on β cell insulin secretion. Recent interest in dietary polyphenols has increased greatly because of the antioxidant and free radical-scavenging abilities assumed could decrease risk of chronic diseases. The aim of this research is to investigate antioxidant activity of polyphenols green tea in diabetic mice. In this study, 25 male Swiss-Webster mice were divided into 5 groups. One group is normal healthy mice group (K), but 4 remaining groups are diabetic mice that induced by single intravein injection of 70 mg/kg b.wt of alloxan. After reach hyperglycemia in 5 days, Groups A, B and C were given polyphenols of green tea with dose level 50, 100 and 150 mg/kg b.wt, while aquades was given to diabetic-control group (O). Both polyphenols and aquades were given with volume 1 mL/10 g b.b. daily administration for 21 days. Aquades also given to group K with the same method, time and volume. Then, blood sample non fasted mice were collected to plasma glucose level test once in 3 days. On the 23rd day, glucose (2 gr/kg b.wt) was given orally to all groups in fasted state and blood sample were collected in 1 and 2 hours after

gavage for glucose tolerance test. In the end of this study, pancreas of mice was isolated for immunohistochemical insulin analysis used Guinea pig polyclonal to Insulin as primary antibody and biotinylated secondary antibody goat anti guinea pig Ig-B. Results of this study shown that blood glucose level (BGL) between group O and polyphenols groups were significantly different. However, continuous administration of polyphenols could not decrease BGL reach normal state as group K. Besides that, diabetic mice that given polyphenols at doses 50, 100 and 150 mg/kg b.wt. had better glucose tolerance than group O. This phenomenon is supported by analyzes of insulin immunohistochemistry in mice pancreas shown that intensity color of group A, B and C insulin thinner than group K. Different from group O, there was no Islet of Langerhans that have diameter >100 μ m. It was suggested that decreased of β -cell mass caused by cell death under condition of hyperglycemia. From all parameters after measured, there were significantly difference between polyphenols groups and control diabetic group. This phenomenon could happen suggested by the flavonoid in polyphenols of green tea could act as antioxidant. So, it could scavenge free radicals and decreased the oxidative stress. Decreasing of oxidative stress could decreased insulin resistance and inhibits beta cell damages that caused by free radicals produced by glucose toxicity. In conclusion, polyphenol could not decrease BGL in patient NIDDM until normal state. However, polyphenols could decrease stress oxidative level that produced by hyperglycemia condition and protected β -cells pancreas against ROS effects. So, polyphenol could decrease the risk of development of diabetes.

Key words: *Diabetes, Oxidative stress, Hyperglycemia, Antioxidant, Polyphenols, Immunohistochemistry, Insulin*

**Pengaruh Antioksidan Polifenol Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Insulin
Mencit (*Mus musculus L.*) S.W. Jantan yang
Dikondisikan Diabetes Mellitus**

Mahasiswa : Raden Tanita Astrian
Skripsi (2009), Program Studi Sarjana Biologi SITH,
email : tanita_astrian@yahoo.com

Pembimbing : Dr. Ahmad Ridwan
SITH ITB,
email: ridwan@sith.itb.ac.id

Gelar : Sarjana Sains (S.Si), Wisuda Maret 2009

ABSTRAK

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit kronis yang ditandai dengan kadar glukosa darah (KGD) yang tinggi (hiperglikemia) akibat pengaturan homeostasis glukosa tidak berjalan sempurna. Penelitian saat ini membuktikan bahwa stres oksidatif ikut berperan dalam berkembangnya DM. Stres oksidatif adalah kondisi yang disebabkan meningkatnya produksi radikal bebas (ROS, *reactive oxygen species*) melebihi kemampuan perlindungan antioksidan yang alami. Hiperglikemia kronis terbukti meningkatkan stres oksidatif yang mengakibatkan berkurangnya jumlah *glucose transporter* (GLUT) yang meningkatkan resistensi insulin, lemahnya insulin *signaling* dan mengganggu sekresi insulin oleh sel β pankreas. Saat ini, makanan yang mengandung polifenol cukup menarik perhatian karena berperan sebagai antioksidan. Antioksidan mampu mengikat radikal bebas sehingga diduga mampu mengurangi resiko terjangkitnya penyakit kronis. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh antioksidan polifenol teh hijau terhadap mencit yang dikondisikan DM. Dalam penelitian ini, 25 ekor mencit Swiss Webster jantan dibagi menjadi 5 kelompok. Satu kelompok adalah kelompok mencit sehat sebagai kontrol normal (K) sedangkan 4 kelompok lainnya diinduksi DM dengan pemberian aloksan 70 mg/kg b.b secara intravena. Setelah kondisi

hiperglikemia tercapai dalam waktu 5 hari, larutan polifenol 50, 100 dan 150 mg/kg b.b diberikan pada kelompok A, B dan C, sedangkan akuades diberikan pada kelompok O (Kontrol DM). Baik larutan polifenol maupun akuades diberikan setiap hari secara *gavage* dengan volume pemberian 1 mL/10 g b.b selama 21 hari. Akuades juga diberikan pada kelompok K dengan cara, volume dan waktu pemberian yang sama. Kemudian uji KGD Sewaktu (non-puasa) dilakukan 3 hari sekali. Pada hari ke-23, mencit yang telah dipuasakan diberikan glukosa (2 gr/kg BB) secara *gavage* dan sampel darah diambil 1 dan 2 jam setelahnya untuk dilakukan uji toleransi glukosa darah. Di akhir penelitian, pankreas mencit diisolasi untuk dilakukan analisis imunohistokimia insulin menggunakan antibodi primer *Guinea pig polyclonal to Insulin* dan *Biotinylated goat anti-guinea pig Ig-G* sebagai antibodi sekunder. Hasil akhir penelitian menunjukkan bahwa KGD mencit antara kelompok O dengan kelompok perlakuan polifenol berbeda nyata, namun polifenol tidak mampu menurunkan KGD mencit sampai keadaan normal seperti kelompok K. Selain itu, kelompok mencit DM yang diberi polifenol dengan dosis 50, 100 dan 150 mg/kg BB memiliki toleransi glukosa oral yang lebih baik dibandingkan kelompok O. Analisis imunohistokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa insulin pada kelompok A, B dan C masih terdapat pada pulau Langerhans namun dengan intensitas warna yang lebih tipis dibandingkan kelompok K. Berbeda dengan kelompok O yang tidak ditemukannya pulau Langerhans yang berdiameter >100 μ m, namun masih terlihat adanya insulin yang disekresikan sel β pankreas. Hal ini dapat terjadi diduga karena terjadinya penurunan massa sel β pankreas akibat kematian sel dibawah pengaruh kadar glukosa darah yang tinggi di dalam darah dan bersifat toksik. Dari seluruh parameter yang diukur, umumnya kelompok DM yang diberi polifenol berbeda nyata dengan kelompok kontrol DM. Fenomena ini diduga terjadi karena senyawa flavonoid yang terkandung dalam polifenol teh hijau berperan sebagai antioksidan yang mampu mengikat radikal bebas sehingga dapat mengurangi stres oksidatif. Berkurangnya stres oksidatif dapat mengurangi resistensi insulin dan mencegah perkembangan disfungsi dan kerusakan sel β pankreas. Kesimpulan dari hasil penelitian ini, pemberian polifenol selama 21 hari terhadap mencit DM tidak mampu menurunkan kadar glukosa darah mencit sampai batas normal. Namun, toleransi glukosa oral mencit yang diberi polifenol lebih baik dibandingkan kelompok kontrol DM. Selain itu, polifenol dapat mencegah dan memperlambat kerusakan sel β pankeas akibat radikal bebas yang dihasilkan oleh toksisitas glukosa.

Kata kunci: Diabetes mellitus, Stres oksidatif, Antioksidan, Polifenol, Imunohistokimia, Insulin