

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan potensi ekstrak beta glucan dari *S. cerevisiae* sebagai metode pengobatan yang efektif dalam proses regenerasi hepar yang mengalami fibrosis. Secara khusus, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *beta glucan* dari *S. cerevisiae* dalam memperbaiki kerusakan jaringan hepar pada mencit model fibrosis hepar.

Induksi fibrosis hepar dilakukan dengan injeksi  $\text{CCl}_4$  secara intraperitoneal. Zat ini dipilih karena telah terbukti mampu menginduksi fibrosis, sirosis, bahkan karsinoma sel hepar (Domitrović, 2009; Fujii *et al.*, 2010)

Ekstrak *beta glucan* yang digunakan berasal dari hasil ekstraksi dari *Saccharomyces cerevisiae* yang diekstrak dengan metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian Hunter *et al.* (2002). Administrasi *beta glucan* dilakukan secara oral karena dalam penelitian sebelumnya telah dibuktikan efektivitas pemberian *beta glucan* secara oral dan telah dinyatakan efektif dan aman (Sandvik *et al.*, 2007; European Food Safety Authority, 2011)

Hasil pemeriksaan histopatologi hepar dengan pewarnaan HE pada kelompok kontrol negatif (Gambar 5.1 A) menunjukkan gambaran sel-sel hepar normal, berbentuk kuboid dengan batas jelas dan inti sel bulat terletak di sentral, sel-sel ini mengelilingi vena sentralis secara radier. Tampak perbedaan yang signifikan jika dibanding dengan kelompok kontrol positif yang diinduksi  $\text{CCl}_4$  (Gambar 5.1 B). Gambaran histopatologi hepar pada kelompok kontrol positif menunjukkan adanya sel-sel yang mengalami degenerasi balon dan tampak

adanya tanda-tanda inflamasi kronis yakni adanya infiltrasi sel-sel MN (mononuklear), sinusoid hepar juga tidak tampak. Hal tersebut menunjukkan bahwa penyuntikan CCl<sub>4</sub> berpengaruh terhadap gambaran kerusakan jaringan hepar pada hewan coba. CCl<sub>4</sub> merusak hepatosit secara langsung dengan mempengaruhi permeabilitas membran plasma, lisosom, dan mitokondria. Pemberian CCl<sub>4</sub> dalam waktu lama akan menyebabkan timbulnya fibrosis, sirosis, dan bahkan karsinoma sel-sel hepar (Fuji *et al.*, 2010). Hasil ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang mengatakan bahwa pemberian CCl<sub>4</sub> selama 2-4 minggu mampu menyebabkan terjadinya fibrosis. Efek pemberian CCl<sub>4</sub> akan berbeda bergantung pada spesies dan *strain* dari hewan coba, dosis, dan cara pemberian (misal: oral, intraperitoneal, inhalasi, dll) (Starkel dan Leclercq, 2011).

Pada kelompok perlakuan yang diterapi dengan ekstrak *beta glucan* dari *S. cerevisiae*, didapatkan gambaran histopatologi jaringan hepar (Gambar 5.1 C, D, dan E) yang membaik secara signifikan dibanding kelompok kontrol positif. Meskipun masih terdapat infiltrasi sel-sel MN dengan jumlah yang lebih sedikit, akan tetapi susunan sel-sel hepar tampak radier seperti pada jaringan hepar normal, sinusoid juga kembali nampak pada kelompok perlakuan terapi ekstrak *beta glucan* dari *S. cerevisiae*. Beberapa sel masih nampak mengalami nekrosis, namun sitoplasma sel tidak pucat seperti pada kelompok kontrol positif (Gambar 5.1 B).

Pemberian ekstrak *beta glucan* terbukti mengurangi kerusakan jaringan hepar secara signifikan hingga mendekati keadaan normal pada pemeriksaan histopatologi. Perbaikan jaringan hepar yang terjadi ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa mobilisasi *hematopoietic stem cells* (HSCs) berperan dalam proses regenerasi hepar pada hewan coba kerusakan

hepar akut ataupun kronis (Ito *et al.*, 2009). *Beta glucan* dari *S. cerevisiae* merupakan zat yang mampu meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi dari HSCs di *bone marrow* serta meningkatkan mobilisasi HSCs dari *bone marrow* menuju jaringan yang mengalami kerusakan (Franzke, 2006). Selain itu, efek *immunomodulator* dan antioksidan yang dimiliki oleh *beta glucan* juga mampu mencegah kerusakan hepar lebih lanjut (Akramiene *et al.*, 2007).

Pemberian *beta glucan* berpotensi memicu mobilisasi HSCs melalui stimulasi produksi *granulocyte-colony stimulating factor* (G-CSF). G-CSF dapat diproduksi oleh makrofag yang teraktivasi (Elgert, 2009). Dectin-1 diketahui merupakan reseptor utama *beta glucan* yang banyak diekspresikan oleh makrofag (Taylor *et al.*, 2002).

HSCs mengekspresikan reseptor seluler CXCR4 yang merupakan ligan alami dari *stromal derived factor-1* (SDF-1). *Beta glucan* menurunkan ekspresi *chemokine receptor* (CXCR4) dan ligannya (SDF-1) di *bone marrow* sehingga HSCs dari *bone marrow* dapat termobilisasi ke aliran darah (Ito *et al.*, 2009). Pada kondisi kerusakan hepar, ekspresi SDF-1 di hepar akan meningkat, hal ini mengakibatkan HSCs yang berada di darah akan mengalami mekanisme *homing* ke hepar. HSCs mampu melakukan transdiferensiasi menjadi hepatosit dengan dugaan mekanisme fusi sel, namun hal tersebut hanya dapat terjadi dalam jumlah dan waktu yang terbatas. Kontribusi HSC dalam perbaikan hepar diketahui lebih signifikan dalam memperbaiki populasi sel non parenkimal. Sel endotel sinusoid diduga berasal dari sel-sel *bone marrow*. Sel-sel yang berasal dari *bone marrow* (salah satunya adalah HSCs) berpartisipasi dalam pembentukan pembuluh darah baru (*vasculogenesis*) di daerah iskemik, hal tersebut mungkin memiliki manfaat lebih dalam regenerasi hepatosit dan resolusi

fibrosis (Kallis *et al.*, 2007). Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini, dimana pemberian ekstrak *beta glucan* tidak hanya memperbaiki kondisi sel hepar saja, namun juga memperbaiki kondisi sinusoid hepar secara histopatologi.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terdapat perbaikan jaringan hepar yang signifikan secara histopatologi pada ketiga kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, akan tetapi dosis paling efektif belum bisa ditentukan karena perbedaan antara 3 kelompok perlakuan yang mendapat terapi belum bisa diamati dengan jelas walaupun infiltrasi sel MN tampak lebih berkurang sesuai dengan peningkatan dosis.

Penelitian ini masih memiliki keterbatasan di antaranya belum diketahui secara pasti dosis pemberian ekstrak *beta glucan* dari *S. cerevisiae* yang paling efektif karena perbedaan yang ada tidak begitu signifikan antar kelompok perlakuan. Selain itu, belum dilakukan penilaian fibrosis dengan *staging fibrosis*. Pewarnaan HE tidak dapat secara pasti menunjukkan adanya akumulasi kolagen sebagai pertanda fibrosis pada jaringan hepar. Oleh karena itu, perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan metode pemeriksaan yang lebih bisa menilai dengan pasti banyaknya akumulasi kolagen dengan pengecatan *Masson's Trichrome*. Uji lanjutan tentang farmakokinetik, farmakodinamik, toksisitas, efek samping, dan efek *beta glucan* dari *S. cerevisiae* pada hewan coba dan uji klinis pada manusia juga perlu dilakukan, agar nantinya ekstrak *beta glucan* dari *S. cerevisiae* dapat digunakan dalam pengobatan dalam kerusakan hepar akut maupun kronis, sehingga dapat mengurangi angka morbiditas dan mortalitas akibat penyakit liver.