

PENGARUH PEMBERIAN *BETA GLUCAN* DARI *Saccharomyces cerevisiae* TERHADAP EKSPRESI SEL CD34⁺ DARAH MENCIT MODEL FIBROSIS HEPAR

Triara Mayona¹, Edi Widjanto², Elly Mayangsari³

¹Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

²Laboratorium Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

ABSTRAK

Fibrosis hepar merupakan suatu kondisi dimana terjadi akumulasi dari protein matriks ekstraseluler yang diakibatkan oleh kerusakan hepar yang kronis. Fibrosis hepar dapat disebabkan oleh infeksi virus kronis, ketergantungan alkohol dan *nonalcoholic steatohepatitis*(NASH). Kondisi fibrosis hepar dapat diinduksi menggunakan zat karbon tetraklorida(CCL₄). *Beta glucan* yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kemampuan didalam meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi dari *Hematopoietic Stem Cells*(HSC) di sumsum tulang selain itu juga mampu meningkatkan mobilisasi *hematopoietic stem cells* dari sumsum tulang ke organ target. Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan potensi pemberian terapi ekstrak *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* dalam menurunkan ekspresi CD34⁺ didalam darah pada mencit model fibrosis hepar. Penelitian ini menggunakan rancangan randomisasi *post test only controlled group design* dilakukan terhadap mencit dengan model fibrosis hepar yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu K_p, K_n, P₁, P₂, dan P₃. K_n adalah kelompok mencit yang normal, Kelompok K_p dan kelompok perlakuan (P) diinjeksi dengan karbon tetraklorida (CCL₄) 2 kali seminggu selama 6 minggu. Kelompok perlakuan P₁,P₂,P₃ diterapi dengan ekstrak *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* selama 2 minggu dengan dosis 25, 50, dan 100 mg/kgBB. Mencit dibedah dan diambil sampel darah untuk dilakukan pemeriksaan *flowcytometry*. Hasil pengukuran *flowcytometry* menunjukkan terapi ekstrak *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* menurunkan kadar CD34⁺ didalam darah secara signifikan (p<0.05), dengan dosis yang paling efektif didapatkan pada kelompok P₃. Kesimpulan dari penelitian ini adalah terjadi penurunan ekspresi CD34⁺ dalam darah pada mencit model fibrosis hepar setelah pemberian terapi ekstrak *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae*.

Kata kunci : Fibrosis hepar, *Beta Glucan*, *Hematopoietic Stem Cells* (HSC), *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

Liver fibrosis is a condition where there is accumulation of extracellular matrix proteins caused by chronic liver damage. Liver fibrosis can be caused by chronic virus infection, alcoholism or nonalcoholic steatohepatitis (NASH). The condition can be induced by the use of carbon tetrachloride (CCL₄). Beta glucan derived from *Saccharomyces cerevisiae* has the ability to improve growth and differentiation of Hematopoietic Stem Cells (HSC) in the bone marrow and it is also able to increase the mobilization of hematopoietic stem cells from the bone marrow to the target

organ. The purpose of this study was to prove the potential therapy of beta glucan extract derived from *Saccharomyces cerevisiae* in reducing the expression in CD34⁺ mice blood liver fibrosis model. The experiment used post-test only controlled group design on mice with liver fibrosis model divided into five groups : K_p, K_n, P₁, P₂, and P₃ . K_n group was conducting with normal mice. K_p and the P were injected with carbon tetrachloride (CCL₄) 2 times a week for 6 weeks. The treatment groups P₁, P₂, P₃ were treated with beta glucan extract derived from *Saccharomyces cerevisiae* for 2 weeks at the dose of 25, 50, and 100 mg/ kg. the blood sample were taken flowcytometry examination. The measurement of result indicated beta glucan extract therapy derived from *Saccharomyces cerevisiae* reduced the expression of CD34⁺ blood significantly ($p < 0.05$), with the most effective dose was found in P₃. Conclusion of this study is that there is reduced expression of CD34⁺ mice liver fibrosis model after given beta glucan extract therapy derived from *Saccharomyces cerevisiae*.

Keywords: Liver fibrosis, Beta Glucan, Hematopoietic Stem Cells (HSC), *Saccharomyces cerevisiae*.

PENDAHULUAN

Fibrosis hepar adalah akumulasi dari protein *extracellular matrix* (ECM) yang diakibatkan oleh kerusakan hepar yang kronis. Penyebab utama dari fibrosis hepar adalah infeksi virus kronis, ketergantungan alkohol, *nonalcoholic steatohepatitis* (NASH). Akumulasi dari protein *extracellular matrix* (ECM) menyebabkan terbentuknya jaringan fibrosis yang mengakibatkan terjadinya perubahan dari struktur hepar. Bila fibrosis berjalan secara progresif dapat menyebabkan sirosis hati¹. Fibrosis hepar menyebabkan sekitar satu setengah juta kematian per tahun di seluruh dunia².

Salah satu zat toksik yang dapat menghasilkan keadaan fibrosis hepar adalah karbon tetraklorida (CCL₄). Karbon tetraklorida (CCL₄) merupakan zat toksik yang dapat menghasilkan kondisi hepatotoksitas dan sering digunakan dalam penelitian. Radikal bebas yang terdapat pada CCL₄ dapat menyebabkan kerusakan hati. Aktivitas metabolisme dari sitokrom p450 dihati dapat mengubah CCL₄ menjadi metabolit yang lebih toksik,

sehingga dapat menyebabkan kerusakan hati pada hewan coba atau manusia³.

Beberapa fokus terapi fibrosis hepar telah diusulkan pada rantai patogenesisnya, mulai dari inhibisi sintesis kolagen, modulasi *Stellate Cell*, hingga blok deposisi kolagen. Akan tetapi, terapi tersebut masih memiliki efek samping berat dan beberapa terapi kurang efektif dalam menunjukkan khasiatnya⁴. Jika fibrosis hepar sudah mencapai sirosis hepar tahap akhir, transplantasi hepar merupakan terapi pilihan yang ada saat ini. Akan tetapi, transplantasi hepar memiliki pendonor yang terbatas, kemungkinan mortalitas dan morbiditas post-operasi yang tinggi, kemungkinan penolakan oleh sistem imun tubuh, biaya operasi yang mahal, serta efek samping jangka panjang⁵. Oleh karena itu, berbagai penelitian terus dilakukan untuk menemukan pengobatan baru yang efektif dan berkhasiat untuk memulihkan sel-sel hati terhadap zat toksik yang dapat merusak.

Salah satu terapi yang sedang menjadi perhatian bagi para peneliti adalah penggunaan *Hematopoietic Stem Cells* (HSC) karena kemampuannya untuk berdiferensiasi menjadi berbagai macam sel dan berkembang hingga menjadi sel matang. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa mobilisasi HSC akibat induksi dari *granulocyte colony-simulating factor* (G-CSF) berkontribusi dalam regenerasi hepar pada hewan coba model kerusakan hepar akut maupun kronis. Penelitian yang dilakukan juga oleh Tsolaki (2014) secara *in vivo* membuktikan bahwa G-CSF berpotensi paling besar sebagai agen anti fibrosis karena berperan dalam mobilisasi HSC⁶.

Saccharomyces cerevisiae merupakan mikroorganisme yang sangat dikenal masyarakat luas sebagai ragi pada roti (*baker's yeast*). Ragi *Saccharomyces cerevisiae* roti ini digunakan dalam pembuatan makanan dan minuman karena bersifat nonpatogenik dan nontoksik. Ragi *Saccharomyces cerevisiae* mengandung suatu struktur yang disebut dengan *beta1,3D-glucan (beta glucan)*. *Beta glucan* ini banyak terkandung pada ragi, jamur, gandum, namun kandungan terbanyak ada pada ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan jumlah kandungan murni sebanyak 60%⁷. *Beta glucan* yang terdapat didalam *Saccharomyces cerevisiae* memiliki potensi yang kuat didalam memperbaiki jaringan hepar yang mengalami kerusakan. *Beta glucan* memiliki peranan didalam meningkatkan mobilisasi HSC dari *bone marrow* ke organ target sehingga dapat memperbaiki organ yang mengalami kerusakan⁸.

Berdasarkan asumsi bahwa terapi fibrosis hepar menggunakan *beta glucan* dapat memberikan efek terapi yang lebih

baik didalam penurunan jumlah sel CD34⁺ didalam darah yang efektif dan efisien. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh *beta glucan* terhadap sel CD34⁺ didalam darah pada keadaan fibrosis hepar.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan eksperimen murni di laboratorium secara *in vivo* dengan *randomized post test only controlled group design* pada hewan coba berupa mencit (*Mus musculus*) balb/c jantan berusia 6-7 minggu⁹. Kelompok penelitian berjumlah 5 (lima) yang dibagi secara acak, yakni kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3.

Kelompok kontrol negatif (Kn) adalah kelompok mencit normal tanpa diinduksi karbon tetraklorida (CCL₄), kelompok kontrol positif (Kp) adalah kelompok mencit yang diinduksi karbon tetraklorida (CCL₄) tanpa diberi terapi, dan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 (P1, P2, dan P3) adalah kelompok mencit yang diinduksi karbon tetraklorida (CCL₄) dan diberi terapi ekstrak *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan dosis 25, 50, dan 100 mg/kgBB.

Semua kelompok hewan coba diadaptasi selama 7 hari didalam laboratorium sebelum diberikan perlakuan. Injeksi karbon tetraklorida (CCL₄) dilakukan secara intraperitoneal dengan dosis 1 ml/kgBB diberikan 2 kali seminggu selama 6 minggu⁹. Pemberian ekstrak *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* diberikan personele sesuai dosis yang telah ditentukan. Terapi diberikan 1 kali sehari selama 2 minggu. Dosis pemberian ekstrak *beta glucan* yaitu 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB.

Berikut adalah metode pembuatan ekstrak *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae*⁹ : *Beta glucan* didapatkan dari ragi *Saccharomyces cerevisiae* jenis yang digunakan untuk membuat roti. 100 gram ragi *Saccharomyces cerevisiae* pada roti dicampur dengan NaOH (1M/l) sebanyak 600 mL kedalam tabung Erlenmeyer ukuran 1000ml/1L, lalu dicampur dengan rata menggunakan stirrer pada suhu 60°C selama 30 menit. Lalu, sampel dipanaskan menggunakan *autoclave* pada suhu 115°C tekanan 8.5 psi / 0,6 kgcm⁻² selama 45 menit dan dibiarkan selama 3 jam. Kemudian sampel yang ada didalam Erlenmeyer lalu disimpan di refrigerator pada suhu 4°C. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 2000rpm selama 15 menit pada suhu ruangan. Supernatan pada cairan yang telah disentrifugasi dibuang, pelet biomassa sel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 2000rpm selama 15 menit. Sampel dari proses sentrifugasi ditambah aquades kemudian di sentrifugasi pada 2000 rpm selama 15 menit. Endapan yang terdapat pada hasil sentrifugasi dengan aquades diambil dengan HCl 3% menggunakan mikropipet, lalu dicuci dengan HCL 3 % sebanyak 500 mL menggunakan sentrifuse 2000 rpm selama 15 menit. Endapan yang terbentuk lalu di sentrifugasi dingin pada suhu 20°C selama 15 menit dengan H₂O₂ 3%. Endapan kemudian dicuci dengan menggunakan acetone 100% sebanyak 2 kali. Ekstrak *beta glucan* dalam aquades dilakukan *ultrasonic extraction* dengan amplitude 50% selama 12 menit. Hasil ekstraksi kemudian dilakukan Uji *Fourier Transferred Infrared* (FTIR). Hasil yang terbentuk adalah bentuk bubuk hasil *freeze drying*. Sebelum diberikan, ekstrak *beta glucan* diencerkan dengan aquades sesuai konsentrasi yang diinginkan.

Pembedahan dilakukan dengan memberikan anastesi per inhalasi dengan kloroform dalam wadah tertutup terlebih dahulu. Setelah mencit tidak sadar, mencit difiksasi diatas steroform. Pembedahan dilakukan dengan membuka dinding abdomen. Kemudian diambil sampel darah melalui jantung dan dilakukan pemeriksaan menggunakan *flowcytometry* untuk mengukur kadar ekspresi sel CD34⁺ didalam darah.

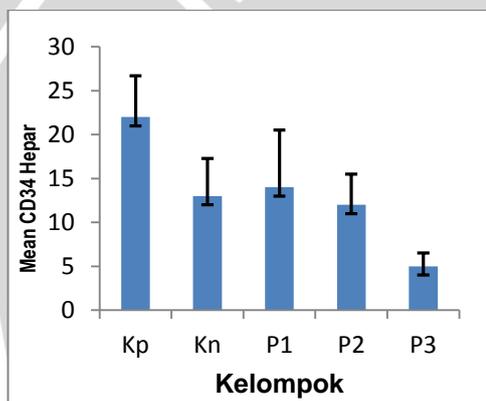
Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk mean \pm SD. Semua data dianalisa menggunakan *software SPSS* dengan tingkat signifikansi atau nilai probabilitas 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Data dianalisa dengan metode statistik parametrik menggunakan uji *One-way ANOVA* setelah data memenuhi kriteria uji normalitas dan uji homogenitas. Apabila pada hasil uji *One-way ANOVA* terdapat perbedaan yang signifikan pada masing-masing kelompok perlakuan maka dilanjutkan dengan menggunakan uji *Post Hoc* untuk mengetahui letak perbedaan dari lima perlakuan yang diberikan. Kemudian hasil penelitian ini juga dilakukan uji Korelasi *Pearson* untuk mengetahui hubungan antara perlakuan yang diberikan dengan efek yang terjadi pada masing-masing kelompok perlakuan

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk melihat penurunan kadar ekspresi sel CD34⁺ pada darah mencit model fibrosis hepar secara kuantitatif menggunakan *flowcytometry*. Hasil pengukuran menggunakan *flowcytometry* dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Kadar Ekspresi Sel CD34⁺ Darah Mencit Model Fibrosis Hepar

	Kelompok Perlakuan	Kadar Sel CD34 ⁺ Darah dalam % ($\bar{x} \pm SD$)
Kn	Kontrol Negatif	21,79 ± 4,70
Kp	Kontrol Positif	12,61 ± 4,26
P1	Perlakuan 1	13,63 ± 6,51
P2	Perlakuan 2	11,88 ± 3,48
P3	Perlakuan 3	5,16 ± 1,52



Gambar 1. Grafik Rata-rata Hasil Pengukuran Kadar Ekspresi sel CD34⁺ Darah Mencit Model Fibrosis Hepar

Berdasarkan pengukuran kadar ekspresi sel CD34⁺ darah pada mencit model fibrosis hepar menggunakan *flowcytometry* pada gambar diatas didapatkan rerata kadar ekspresi sel CD34⁺ darah terendah terdapat pada kelompok perlakuan 3 (P3) sebesar 5,16 ± 1,52 dan kadar ekspresi sel CD34⁺ didapatkan pada kelompok perlakuan 1 (P1) sebesar 13,63 ± 6,51. Pada diagram diatas juga terlihat adanya peningkatan dari kadar ekspresi sel CD34⁺ darah pada kelompok kontrol positif (Kp) yang diinjeksi karbon tetraklorida (CCL₄) jika dibandingkan dengan kelompok

kontrol negatif (Kn) yang tidak diinjeksi karbon tetraklorida (CCL₄). Selain itu juga terlihat adanya penurunan kadar ekspresi sel CD34⁺ pada kelompok perlakuan yang diinjeksi karbon tetraklorida (CCL₄) dan diberi terapi *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang hanya diinjeksi dengan karbon tetraklorida (CCL₄) tanpa diberi terapi.

Hasil uji normalitas data menggunakan metode *saphiro wilk* didapatkan sebaran data normal dengan $p > 0,05$ dan pada uji homogenitas data didapatkan data memiliki ragam yang homogen dengan $p > 0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan uji statistik *One-Way ANOVA* didapatkan nilai $p = 0,002$. Hal ini menunjukkan terdapat setidaknya 2 kelompok memiliki perbedaan secara signifikan dengan $p < 0,05$. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk mengetahui letak dan nilai kelompok yang berbeda secara signifikan yang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Post Hoc

	Kn	Kp	P1	P2	P3
Kn	-	0,010	0,019	0,006	0,000
Kp	0,010	-	0,747	0,820	0,030
P1	0,747	0,019	-	0,584	0,016
P2	0,820	0,006	0,584	-	0,048
P3	0,030	0,000	0,016	0,048	-

Keterangan :

Nilai $p < 0,05$: terdapat perbedaan yang bermakna antara dua kelompok yang dibandingkan

Nilai $p > 0,05$: tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara dua kelompok yang dibandingkan

Pada uji Korelasi *Pearson* didapatkan $p = 0,000$ dengan *pearson correlation* (r) = -7,36. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara peningkatan dosis ekstrak *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan penurunan kadar ekspresi sel CD34⁺ di dalam darah mencit model fibrosis hepar, dimana terdapat hubungan yang kuat dengan arah negatif atau berbanding terbalik.

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengamati kadar ekspresi sel CD34⁺ pada darah mencit model fibrosis hepar. Induksi fibrosis hepar menggunakan Karbon Tetraklorida (CCL₄) dilakukan pada kelompok kontrol positif secara intraperitoneal. Kerusakan hepar yang diakibatkan oleh induksi CCL₄ timbul karena toksisitas CCL₄ yang dimediasi oleh zat reaktifnya yaitu triklorometil (CCl₃⁻). Hasil reaksi biotransformasi berupa triklorometilperoksi (Cl₃COO⁻) yang bersifat radikal bebas¹⁰. Kerusakan yang terjadi pada hepar akan menyebabkan terjadinya mobilisasi *Hematopoietic Stem Cell* secara spontan ke pembuluh darah perifer⁶. Berdasarkan uji *Post Hoc* pada kelompok mencit yang diinduksi CCL₄ tanpa diberi terapi *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* (K_p) menunjukkan peningkatan kadar sel CD34⁺ di dalam darah secara bermakna jika dibandingkan dengan kelompok mencit normal tanpa diinduksi CCL₄ (K_n). Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa induksi CCl₄ ditandai dengan sel yang tersusun secara ireguler disekeliling vena sentralis, selain itu tampak degenerasi balon secara merata yang ditandai dengan sitoplasma sel tampak

pucat¹¹. Pada penelitian Nahdliyah 2013, diketahui bahwa pada hewan coba yang diinduksi CCl₄ didapatkan adanya sel yang mengalami nekrosis dimana ditemukan infiltrasi *mononuclear cell* dan sinusoid hepar yang tidak tampak.

Hasil penelitian pada kelompok perlakuan menunjukkan penurunan dari kadar ekspresi sel CD34⁺ di dalam darah pada mencit yang diinduksi dengan CCL₄ dan diberikan terapi menggunakan *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan dosis 25 mg/kgBB, 50mg/kgBB, dan 100mg/kgBB bila dibandingkan dengan kelompok mencit yang diinduksi CCL₄ tanpa diberikan terapi menggunakan *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae*. Berdasarkan uji *Oneway ANOVA*, hasil penelitian menunjukkan bahwa pada setiap kelompok perlakuan terdapat perbedaan jumlah kadar ekspresi sel CD34⁺ di dalam darah yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian terapi menggunakan *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* berpengaruh secara bermakna terhadap penurunan jumlah kadar ekspresi sel CD34⁺ di dalam darah pada mencit model fibrosis hepar.

Uji *Post hoc Tukey* pada hasil penelitian menunjukkan ada penurunan pada jumlah kadar ekspresi sel CD34⁺ di dalam darah yang berbeda secara signifikan antara kelompok mencit yang diinduksi CCL₄ tanpa diberikan *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan ketiga kelompok perlakuan yang diinduksi CCL₄ dan diterapi *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae*. Antara kelompok perlakuan ketiga (P₃) yang diberikan terapi *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* dosis 100 mg/kgBB dengan kelompok perlakuan pertama (P₁) yang diberikan terapi *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* dosis 25 mg/kgBB dan kelompok perlakuan

kedua(P₂) yang diberikan terapi *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* dosis 50 mg/kgBB menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam menurunkan jumlah ekspresi sel CD34⁺.

Uji Korelasi *Pearson* pada hasil penelitian terdapat adanya hubungan yang signifikan dengan kekuatan hubungan yang kuat antara ketiga dosis terapi(25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB) dengan arah korelasi negatif yang menunjukkan hubungan peningkatan pemberian dosis *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* berbanding terbalik dengan penurunan jumlah ekspresi sel CD34⁺ didarah mencit model fibrosis hepar.

Pada penelitian sebelumnya, *Saccharomyces cerevisiae* yang mengandung *beta glucan* pada dinding selnya memiliki peranan secara langsung didalam meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi dari *Hematopoietic Stem Cells*(HSC) di sumsum tulang. *Beta glucan* juga telah terbukti mampu meningkatkan mobilisasi dari *Hematopoietic Stem Cells* (HSC) dari sumsum tulang. Selain itu *Beta glucan* memiliki efek yang signifikan dalam proses hematopoiesis pada tubuh⁸. Pada penelitian Ito, *beta glucan* mempengaruhi peningkatan granulosit dan mobilisasi granulosit serta progenitornya dengan menstimulasi produksi *Granulocyte Colony-Stimulating Factor* (G-CSF)¹². Dengan meningkatnya kadar G-CSF pada tubuh, maka terjadi peningkatan pelepasan HSC dari *bone marrow* ke aliran darah⁸.

Pada penelitian Tsolaki membuktikan bahwa *Hematopoietic Stem Cell*(HSC) dapat dimobilisasi ke jaringan hepar yang mengalami kerusakan melalui diproduksinya SDF-1 oleh aktivasi dari *hepatic stellate cells* dan *endothelial sinusoidal cells* di organ hepar. Mobilisasi

HSC baik dari sumsum tulang ke hepar terjadi melalui mekanisme *homing*. Mekanisme yang terjadi akan memutuskan ikatan antara CXCR4 yang ada di HSC dan SDF-1 yang ada di sumsum tulang⁶. Mekanisme pelepasan HSC dari sumsum tulang melalui proses dimana G-CSF mempengaruhi interaksi SDF-1 dengan reseptornya CXCR4. GCS-F menekan ekspresi SDF-1, sehingga terjadi penurunan kadar SDF-1 di sumsum tulang. Pada keadaan normal interaksi SDF-1 dan CXCR4 berfungsi mempertahankan stabilitas HSC di sumsum tulang. Proses ini diawali dengan peningkatan protease oleh G-CSF yang mengakibatkan pemotongan spesifik pada N-terminal CXCR4 dan inaktivasi SDF-1 sehingga memicu pelepasan HSC ke pembuluh darah perifer¹³. Ikatan yang terjadi antara SDF-1 dengan CXCR4 mempengaruhi mobilisasi dan *homing* dari HSC. Menurunnya kadar SDF-1 di sumsum tulang telah terbukti menjadi penyebab terjadinya mobilisasi HSC oleh G-CSF¹⁴.

HSC dapat meninggalkan sumsum tulang dan menuju target organ dengan mekanisme *homing*, serta dapat kembali ke sumsum tulang dengan mekanisme yang sama. Setelah mencapai target organ, HSC akan berdiferensiasi, dimana dalam prosesnya sangat bergantung pada kondisi *microenvironment* sekitar agar dapat menjadi jenis sel yang dibutuhkan¹⁵. Beberapa factor seperti integrin, N-cadherin, Osteopontin dan *Paired-like Homeodomain Transcription Factor 2 (PITX2)* diyakini menjadi factor yang berpengaruh dalam diferensiasi HSC menjadi hepatosit^{16,17}.

Pada hasil penelitian dapat dilihat pada kelompok perlakuan yang diinduksi CCL₄ dan diberikan terapi *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB

menunjukkan terjadinya penurunan dari kadar sel CD34⁺ diarah pada mencit jika dibandingkan dengan kelompok mencit yang telah diinduksi CCL₄ tanpa diberi terapi apapun (K_p). Hal ini disebabkan karena adanya reseptor *Dectin-1*. *Dectin-1* merupakan reseptor utama dari *beta glucan* yang terdapat pada sel monosit, makrofag, dendritik dan leukosit¹⁸. Ikatan antara *beta glucan* dan *Dectin-1* dapat menstimulasi asam arakidonat dan cyclooxygenase 2 (COX2) pada makrofag sehingga mengaktifkan respon proinflammatory dari makrofag¹⁹.

Pada penelitian Akbar (2015), dapat dibuktikan bahwa terjadi peningkatan kadar sel CD34⁺ di organ hepar pada mencit yang diinduksi dengan CCL₄ dan diberikan terapi *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae*²⁰. Selain itu berdasarkan pemeriksaan histopatologi pada organ hepar yang diinduksi CCL₄ dan diterapi dengan *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* didapatkan adanya perbaikan jaringan hepar yang dapat dilihat dari susunan jaringan hepar yang radier seperti jaringan hepar yang normal, sinusoid kembali nampak, dan sitoplasma sel tidak tampak pucat²¹. Hal ini membuktikan bahwa terjadi mobilisasi HSC dari sumsum tulang ke target organ, hepar, melalui pembuluh darah perifer menyebabkan kadar sel CD34⁺ diarah mengalami penurunan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terapi *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* pada mencit dengan model fibrosis hepar dapat menurunkan kadar sel CD34⁺ diarah.

Berdasarkan hasil penelitian dengan menggunakan *flowcytometry* jumlah kadar sel CD34⁺ terendah terjadi pada kelompok mencit yang diinduksi CCL₄ dan diberi terapi *beta glucan* dari

Saccharomyces cerevisiae dengan dosis 100 mg/kgBB(P₃).

Keterbatasan Penelitian

Terdapat faktor yang menjadi keterbatasan peneliti dalam melaksanakan penelitian mengenai pengaruh pemberian *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* terhadap penurunan ekspresi sel CD34⁺ diarah pada mencit model fibrosis hepar. Hewan coba yang digunakan memiliki variasi genetik dalam satu spesies hewan sehingga menyebabkan variasi respon hewan coba terhadap perlakuan yang diberikan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan mengenai pengaruh pemberian *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* terhadap kadar ekspresi sel CD34⁺ darah mencit model fibrosis hepar maka diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Induksi *carbon tetrachloride* pada mencit dapat meningkatkan jumlah kadar ekspresi sel CD34⁺ diarah.
2. Pemberian terapi ekstrak *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* dapat menurunkan kadar ekspresi sel CD34⁺ pada darah mencit model fibrosis hepar.
3. Dosis efektif yang dapat menurunkan kadar ekspresi sel CD34⁺ pada darah secara signifikan adalah 100mg/kgBB.

SARAN

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efek toksisitas ekstrak *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae*.

2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan variasi dosis lebih banyak untuk mengetahui dosis yang tepat untuk menurunkan CD34⁺ darah mencit model fibrosis hepar.
3. Perlu dilakukan penelitian untuk membedakan ekspresi sel CD34⁺ dari *haematopoietic stem cells* atau *mesenchymal stem cells*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bataller, Ramón dan David A. Brenner. 2005. Liver Fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*. 115:209-218.
2. Enomoto, M. *et al.*, 2014. Noninvasive assessment of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *World Journal of Gastroenterology*, 20(34), pp.12031–12038.
3. Lestari, D. 2008. *Efek Protektif dari Lecitin Terhadap Hepatotoksitas Akibat Induksi Karbon Tetraklorida pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Abstrak Thesis.
4. Civan, J.M., 2013. Liver Fibrosis. Available at <http://www.merckmanuals.com/professional/hepatic-and-biliary-disorders/fibrosis-and-cirrhosis/hepatic-fibrosis>(26 agustus 2016)
5. Fausto, N., Campbell, J.S. & Riehle, K.J., 2006. Liver regeneration. *Hepatology*, 43(2 SUPPL. 1), pp.45– 53.
6. Tsolaki E, Athanasiou E, Gounari E, Zogas N, Siotou E, Yiangou M, Anagnostopoulos A, Yannaki E., 2014. *Hematopoietic stem cells and liver regeneration: Differentially acting hematopoietic stem cell mobilization agents reverse induced chronic liver injury*. *Blood Cells, Molecules and Diseases* 53 (3):124-32 (2014).
7. Mason, Roger. 2004. *What is Beta glucan A Concise Guide to the Benefits and Uses of the Most Powerful Natural Immune Enhancer Known to Science*. USA : 561 Shunpike.
8. Franzke A. 2006. *The role of G-CSF in adaptive immunity*. *Cytokine Growth Factor*. Rev 2006;17:235–44.
9. Fan X, Zhang Q, Li S, Lv Y, Su H, Jiang H, Hao Z., 2013. Attenuation of Ccl4-Induced Hepatic Fibrosis in Mice by Vaccinating against TGF-β1. *PLOS ONE Journal* 2013.
10. Tirkey N., Pilkhwal S., Kuhad A., Chopra K., Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. *BMC Pharmacology*, 2015.
11. Kumar V., Abbas A. K., Aster J. C. 2013. *Robbins Basic Pathology*, 9th Ed. Canada: Elsevier.
12. Ito K, Masuda Y, Yamasaki Y, Yokota Y, Nanba H. 2009. *Maitake beta-Glucan Enhances Granulopoiesis and Mobilization of Granulocytes by Increasing G-CSF Production and Modulating CXCR4/SDF-1 Expression*. Kobe: International Immunopharmacology Volume 9, Issue 10, September 2009, Pages 1189–1196.
13. Anthony and Robert. 2012. *Handbook of Stem Cells*. Elsevier

14. Smart, N. & Riley, P.R., 2008. The stem cell movement. *Circulation Research*, 102(10), pp.1155–1168.
15. Martinez-Agosto, J., 2007. The hematopoietic stem cell and its niche: a comparative view. *Genes & Development*, 21(23), pp.3044–3060.
16. Qian H, Georges E, Nystrom A, Domogatskaya A, Tryggvason K, Jacobsen S, Ekblom M. 2007. Distinct roles of integrins $\alpha 6$ and $\alpha 4$ in homing of fetal liver hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 110, 2399–2407.
17. Kieusseian A, Chagraoui J, Kerdudo C, Mangeot P, Gage P, Navarro N, Izac B, uzan G, Forget B, Dubart K., 2006. Expression of Pitx2 in stromal cells is required for normal hematopoiesis. *Blood* 107, 492–500.
18. Brown G, Taylor P, Reid D, Willment J, Williams D, Pomares L, Wong Sm Gordon S. 2002. Dectin-1 Is A Major-Glucan Receptor On Macrophages. *Journal of Experimental Medicine*, 196(3), pp.407–412. Available at: <http://www.jem.org/cgi/doi/10.1084/jem.20020470>.
19. Akramien D, Kondrotas A, Didziapetriene J, Kevelaitis E. 2007. Effects of β -glucans on the immune system. *Medicina (Kaunas)*, 43(8), pp.597–606.
20. Akbar H I. 2015. *Pengembangan Terapi Fibrosis Hepar menggunakan Beta Glucan dari Saccharomyces cerevisiae Berbasis Mobilisasi Hematopoietic Stem Cells (HSCs)*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
21. Nahdliyah B. 2016. *Pengaruh Ekstrak Beta Glucan dari Saccharomyces Cerevisiae terhadap Histopatologi Hepar pada Mencit Model Fibrosis Hepar*. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya, Malang.