

RESEARCH ARTICLE

EFEK BETA GLUCAN PADA SACCHAROMYCES CEREVISAE TERHADAP PENINGKATAN JUMLAH SEL OTAK PADA BAGIAN SUBSTANTIA NIGRA OTAK TIKUS (RATTUS NORVEGICUS) STRAIN WISTAR MODEL PARKINSON YANG DIINDUKSI ROTENONE

THE EFFECT OF BETA GLUCAN OF SACCHAROMYCES CEREVISAE ON THE INCREASE OF THE NUMBER OF BRAIN CELLS IN SUBSTANTIA NIGRA BRAIN OF PARKINSON'S WISTAR STRAIN RAT (RATTUS NORVEGICUS) MODEL INDUCED WITH ROTENONE

Masruroh Rahayu*, Shahdevi Nandar Kurniawan*, Dini Jatiya Anggraini**

*Laboratorium Neurologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

**Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

pISSN : 2407-6724 • eISSN : 2442-5001 • <http://dx.doi.org/10.21776/ub.mnj.2015.001.01.4> • MNJ.2015;1(1):17-22

• Received 20 April 2014 • Reviewed 20 June 2014 • Accepted 20 July 2014

ABSTRAK

Latar belakang. *Beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisae* sangat potensial untuk digunakan sebagai terapi regeneratif penyakit Parkinson. *Beta glucan* dapat meningkatkan mobilisasi *hematopoietic stem cells* (HSCs) dari *bone marrow* ke jaringan yang rusak.

Tujuan. Mengetahui efek pemberian *Saccharomyces cerevisae* terhadap jumlah sel otak tikus model Parkinson.

Metode. Penelitian eksperimental *in vivo* menggunakan rancangan *randomized post-test only controlled group design*.

Hasil. Kelompok perlakuan 3 (72 mg/ kgBB) merupakan kelompok yang memiliki jumlah sel otak paling besar dibanding kelompok perlakuan yang lain. Data statistik yang didapatkan yaitu rerata jumlah sel otak pada kelompok kontrol negatif 192.00 sel; kontrol positif 116.80 sel; perlakuan pertama 135.40 sel; perlakuan kedua 140.80 sel; perlakuan ketiga 161.80 sel.

Simpulan. Pemberian *Saccharomyces cerevisae* mampu meningkatkan jumlah sel otak pada bagian *substantia nigra* otak tikus Strain Wistar model Parkinson secara signifikan.

Kata kunci: Beta glucan, *Saccharomyces cerevisae*, jumlah sel otak, Parkinson

ABSTRACT

Background. *Beta glucan* from *Saccharomyces cerevisae* is very potential to be used as a regenerative therapy of Parkinson's disease. *Beta glucan* can increase the mobilization of *hematopoietic stem cells* (HSCs) from the *bone marrow* into the damaged tissues.

Objective. To find out the effects of the addition of *Saccharomyces cerevisae* toward the number of brain cells in *substantia nigra* Parkinson's rat model.

Methods. Experimental research *in vivo* using the draft of *randomized post-test only controlled group design*.

Results. Treatment Group 3 (72 mg/kgBB) was a group with the largest number of brain cells than the other treatment groups. Statistical data obtained showed that the average number of brain cells in negative control group was 192.00 cells; positive control amounted to 116.80 cells; Treatment 1 amounted to 135.40 cells; Treatment 2 amounted to 140.80 cells; and Treatment 3 amounted to 161.80 cells.

Conclusion. The addition of *Saccharomyces cerevisae* with a dose of 18mg/kgBB, 36mg/kgBB dan 72 mg/kgBB is able to increase the number of brain cells in the *substantia nigra* of the brain of Parkinson's Strain Wistar rat model significantly.

Keywords: Beta glucan, *Saccharomyces cerevisae*, number of brain cells, Parkinson

Korespondensi: masruohrahayu@yahoo.com

PENDAHULUAN

Penyakit parkinson adalah penyakit saraf degeneratif dengan angka kejadian tertinggi kedua di dunia setelah Alzheimer.¹ Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 4,1 juta orang menderita penyakit Parkinson pada tahun 2005 bahkan diperkirakan akan terus bertambah pada tahun 2030 sehingga menjadi 8,7 juta orang.² Penyakit ini biasanya diderita oleh sebagian besar manusia yang berusia lanjut yaitu rata-rata umur 60 tahun keatas tetapi dapat pula terjadi pada usia muda. Penyakit parkinson telah menyerang 1-2 % populasi di dunia. Penyakit parkinson dapat menyebabkan disabilitas yang serius sehingga dapat memengaruhi kualitas hidup penderitanya yang terjadi akibat gangguan aspek sosial dan ekonomi di keluarga serta masyarakat karena menurunnya tingkat produktifitas penderitanya.³ Ekspresi wajah kosong seperti memakai topeng dengan salivasi yang berlebihan pada pasien, berkurangnya kecepatan gerakan, gemetar, dan kekakuan merupakan tanda-tanda umum dari penyakit parkinson. Pasien juga mengalami gangguan berjalan, penurunan ketangkasan, tulisan tangan makin lama makin mengecil, tubuh membungkuk, dan ketidakseimbangan. Pada pasien parkinson dapat juga ditemukan demensia jika penderitanya adalah seorang lanjut usia. Penyebab penyakit parkinson ini pada umumnya disebabkan oleh rusaknya saraf penghasil dopamin di otak yaitu di bagian *substantia nigra* pars compacta. Kerusakan pada bagian tersebut dapat menyebabkan penurunan secara signifikan pada sekresi dopamin di *striatum*.⁴

Gejala akan muncul pada pasien jika 60 % saraf dopaminergik telah rusak dan pengobatan kausatif pada saat tersebut tidak akan efektif lagi. Resistensi terhadap terapi juga masih menjadi masalah jika pasien mengonsumsi levodopa dalam kurun waktu yang lama. Penatalaksanaan dari penyakit parkinson saat ini antara lain berupa terapi obat-obatan. Obat-obatan tersebut masih memiliki banyak efek samping dan hanya dapat mengobati gejalanya saja.⁵

Stem cell adalah sel yang dapat tumbuh menjadi sel apapun karena *stem cell* merupakan sel yang memiliki ciri khas terus tumbuh dan berkembang. *Stem cell* secara tidak langsung dapat diambil dari ekstrak organ manusia ataupun tikus.⁶ *Bone marrow* merupakan tempat *stem cell* banyak ditemukan.

Selain itu di *bone marrow* juga terjadi proses hematopoiesis atau pembentukan sel-sel darah. Pembentukan sel darah matang sangat dibantu oleh *Hematopoietic Stem cells* (HSCs) dan progenitor yang terdapat pada *bone marrow*.⁷ Selanjutnya, karena jumlah G-CSF (*Granulocyte-colony stimulating factor*) yang meningkat, HSCs akan bermigrasi meninggalkan *bone marrow*. Berdasarkan hasil penelitian yang terdahulu telah diketahui HSCs di dalam darah dapat meningkat karena G-CSF.⁸ *Granulocyte-colony stimulating factor* (G-CSF) sangat berperan besar dalam pelepasan ikatan reseptor-ligan HSCs sehingga dapat terlepas dan menuju ke aliran darah.

Meningkatnya jumlah G-CSF pada tubuh dapat meningkatkan pelepasan HSCs dari *bone marrow* ke aliran darah.⁹ *Hematopoietic Stem cells* (HSCs) mampu untuk berdeferensiasi menjadi sel-sel penyusun vaskuler, saraf dan sel-sel otak.¹⁰ Peningkatan kadar G-CSF di dalam tubuh dapat dipengaruhi oleh pemberian *Beta glucan*. Sebagai respon dari terjadinya kerusakan saraf otak, HSCs dapat bergerak dari *bone marrow* menuju aliran darah.¹¹ Penambahan jumlah HSCs di aliran darah berhubungan dengan perbaikan fungsi saraf pada penyakit parkinson. Salah satu jamur yang banyak mengandung *Beta glucan* adalah *Saccharomyces cerevisiae* dimana dapat didapatkan isolated beta-glucan sebanyak 98% dry weight. Sedangkan bahan makanan yang banyak mengandung *Beta glucan* adalah jamur, oats, beras dan tumbuhan lainnya.^{12,13}

Berdasarkan paparan data tersebut diatas, maka dibutuhkan suatu penelitian lebih lanjut yang bertujuan untuk mengetahui efek *Beta glucan* yang terkandung dalam *Saccharomyces cerevisiae* terhadap mobilisasi HSCs dari sirkulasi ke otak.

METODE PENELITIAN

Tempat dan waktu penelitian. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Waktu dilaksanakannya penelitian adalah pada bulan Maret sampai dengan Mei tahun 2013.

Desain penelitian. Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) di laboratorium secara *in vivo* menggunakan rancangan *Randomized Post Test Only Controlled Group Design*.

Adaptasi hewan percobaan. Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah hewan tikus jenis *Rattus norvegicus* jantan yang berusia 6-7 minggu atau 1 bulan 2-3 minggu. Penyesuaian atau adaptasi dari hewan percobaan dilaksanakan selama kurang lebih 7 hari dan diberi makan standar.

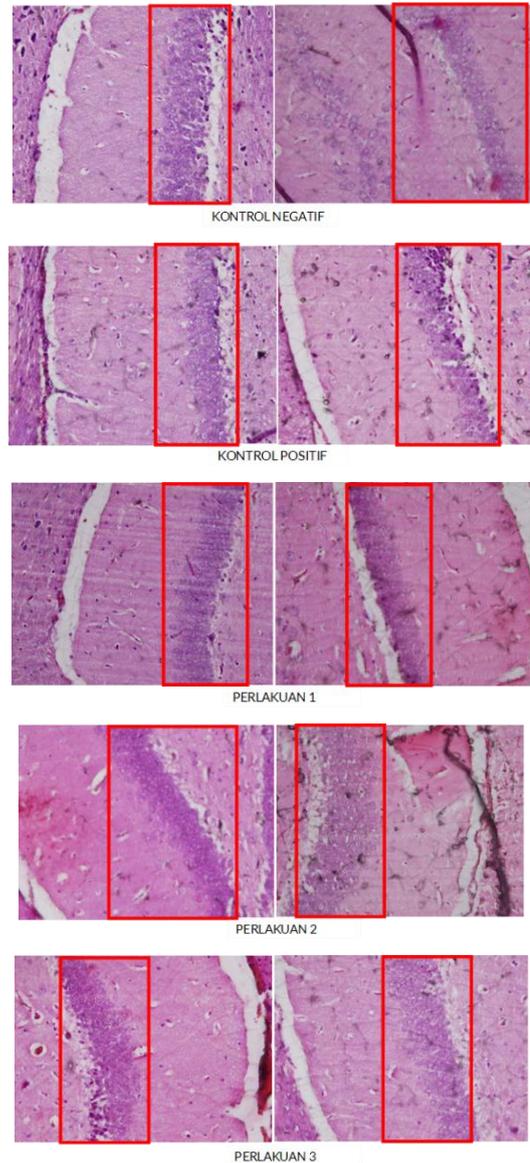
Induksi parkinson. Induksi Parkinson yang terdapat pada hewan percobaan menggunakan rotenone yang sudah menjadi standar sebagai bahan penginduksi penyakit parkinson yang terdapat di berbagai penelitian. Rotenone dimasukkan secara subkutan setiap 2 hari sekali selama 2 minggu. Dosis yang diberikan sebanyak 3 mg/kgBB setiap injeksi.¹⁴

Pembuatan *Saccharomyces cerevisiae* dalam bentuk larutan. *Saccharomyces cerevisiae* dengan banyak dosis sebanyak 18 mg/kgBB; 36 mg/kgBB; 72 mg/kgBB untuk setiap kelompok I, II, dan III kemudian dilarutkan dalam aquades. Pada waktu pemberian dosis perlakuan pada satu hewan percobaan, *Saccharomyces cerevisiae* dicairkan dalam jumlah 2 cc aquades lalu diberikan ke tikus memakai sonde makan tikus.

Pembuatan preparat histopatologi anatomi bagian jaringan otak tikus. Pertama, proses *embedding* dengan memasukkan bagian organ dalam parafin cair yang telah disiapkan dalam wadah. Setelah beberapa jam maka parafin akan memadat dan bagian organ ada dalam blok parafin. Kedua, *Coating Object Glass*, proses ini memerlukan waktu lebih dari 24 jam. Prosesnya adalah melakukan perendaman object Glass menggunakan alkohol kadar 70% selama 24 jam, pengeringan, pencelupan kedalam 0,5% gelatin hangat. Setelah itu object Glass dikeringkan dalam ruang tertutup supaya dapat digunakan dalam 2 hari. Ketiga, pembuatan preparat organ, dengan mengatur ketebalan irisan diatas 10 µm yang kemudian organ diiris dengan ukuran 4 µm lalu dimasukkan ke dalam air suhu ruangan. Hasil irisan dipindah ke air hangat 38-40°C. Potongan yang bagus dikeringkan dan diletakkan diatas hotplate bersuhu 38-40C hingga kering. Langkah terakhir adalah preparat disimpan kedalam inkubator suhu ukuran 36-40°C selama 1 hari. Kemudian diberi cat dengan warna Hematoxilin eosin (HE). Kemudian preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400X. Sel otak yang dihitung berada pada bagian *substantia nigra* otak. Sel otak yang

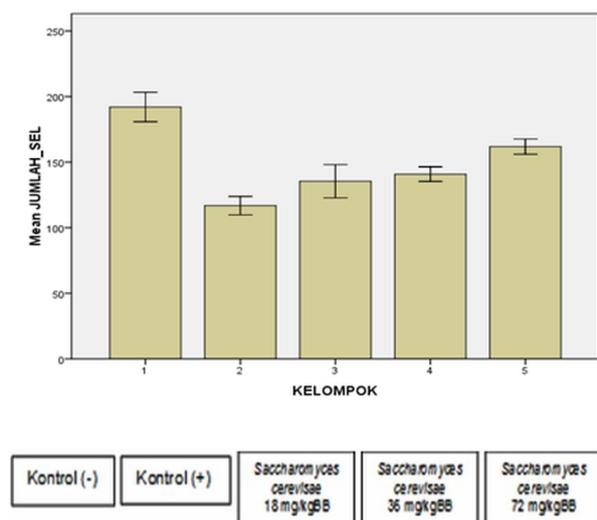
dihitung adalah sel yang tampak memiliki dinding, sitoplasma dan inti. Jumlah sel otak dihitung dalam 4 lapang pandang.¹⁵

HASIL PENELITIAN



Gambar 1. Lapang pandang *substantia nigra* otak.

Gambar diatas menunjukkan lapang pandang *substantia nigra* otak dengan perbesaran 400X pada mikroskop cahaya. Jumlah sel otak yang dihitung adalah sel otak yang berada dalam area yang diberi kotak merah. Hasil perhitungan sel otak ditunjukkan pada diagram dibawah ini.



Gambar 2. Diagram hasil rerata jumlah sel otak.

Diagram hasil rerata jumlah sel otak ini menunjukkan adanya penurunan jumlah sel otak yang signifikan pada kontrol positif jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Penurunan tersebut bisa mengindikasikan bahwa tikus telah terinduksi Parkinson. Pada perlakuan 1, 2 dan 3 jumlah sel otak mengalami peningkatan signifikan jika dibandingkan dengan kontrol positif. Peningkatan sel otak tersebut berhubungan dengan penambahan dosis *Saccharomyces cerevisiae*. Pada perlakuan 3 terjadi peningkatan paling signifikan jika dibandingkan dengan perlakuan 2 dan 3.

DISKUSI

Granulocyte-colony stimulat -ing factor (G-CSF) dapat memicu perpindahan HSCs dan juga myeloid progenitor dari *bone marrow* ke sistem peredaran darah.¹⁶ *Beta glucan* sudah diketahui sebagai agen yang dapat meningkatkan sistem imun tubuh. Hal tersebut didasarkan pada kemampuan *Beta glucan* yang dapat merangsang makrofag untuk memproduksi G-CSF melalui aktivasi reseptor *dectin-1*. Makrofag yang teraktivasi akan menghasilkan G-CSF sehingga jumlah G-CSF dalam sirkulasi akan meningkat.

Pada penyakit Parkinson, sel-sel otak pada bagian substansia nigra akan berkurang jumlahnya sehingga akan timbul gejala-gejala Parkinson seperti tremor dan kekakuan. Pada hewan coba, penginduksian Parkinson menggunakan suatu insektisida bernama rotenone. Rotenone bersifat toksik terhadap saraf sehingga saraf akan rusak bahkan mati. Selain sel saraf, rotenone juga dapat merusak sel-sel otak lainnya seperti astrosit dan

mikroglia. Hal ini berhubungan dengan peningkatan ekspresi protein *alpha synuclein* yang bersifat radikal bebas setelah pemberian rotenone. Penggunaan rotenone ini telah terbukti mampu menginduksi Parkinson pada penelitian-penelitian terdahulu. Penilaian keberhasilan induksi Parkinson pada tikus dilihat dari histologi otak tikus tersebut. Penilaian dilakukan dengan menghitung jumlah sel otak pada bagian *substantia nigra* otak tikus. Penelitian ini menunjukkan ada efek *Beta glucan* yang terkandung dalam *Saccharomyces cerevisiae* terhadap mobilisasi HSCs dari sirkulasi ke otak.

Kejadian peningkatan jumlah sel otak pada bagian *substantia nigra* otak tikus diduga terjadi karena adanya perbaikan dan pembentukan kembali sel-sel otak tersebut. *Hematopoietic stem cells* (HSCs) berperan dalam perbaikan ini karena sifatnya yang mampu berdiferensiasi menjadi sel otak dan saraf.¹⁷ *Hematopoietic stem cells* (HSCs) yang telah termobilisasi di sirkulasi akan bergerak ke otak. Pergerakan ini disebabkan adanya suatu sinyal yang berasal dari otak. Sinyal ini berupa suatu ekspresi *CXCL12* yang dihasilkan oleh sebagian besar sel otak dan saraf yang rusak pada bagian substansia nigra. Pada beberapa penelitian terdahulu, *Beta glucan* yang terkandung dalam oats digunakan untuk menambah jumlah sel hepar pada penyakit sirosis hepar. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa sel hepar dapat meningkat secara signifikan setelah pemberian oats. Jumlah sel hepar yang meningkat tersebut memiliki perbedaan yang tidak signifikan jika dibandingkan dengan hepar normal.¹⁸ Namun pada penelitian ini diketahui bahwa pemberian *Saccharomyces cerevisiae* pada semua dosis perlakuan masih memberikan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan otak normal (kontrol negatif). Hal ini diduga karena sifat sel otak dan saraf yang cenderung tidak mudah untuk diperbaiki maupun dibentuk kembali.¹⁹ Namun perbedaan yang signifikan ditunjukkan pada seluruh kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa perbaikan dan regenerasi sel-sel otak telah terjadi meskipun belum mendekati normal.

Pada penelitian ini masih terdapat kelemahan yaitu penggunaan jumlah lapang pandang otak yang sedikit (4 lapang pandang) pada pengamatan histologi menggunakan mikroskop. Keterbatasan lapang pandang ini belum bisa mewakili seluruh

bagian *substantia nigra* otak dalam perhitungan jumlah sel otak. Peneliti berharap, pada penelitian selanjutnya, dapat digunakan jumlah lapang pandang *substantia nigra* yang lebih banyak.

Pada penelitian selanjutnya digunakan lapang pandang pengamatan histologi yang lebih banyak. Supaya penelitian ini mampu diteruskan untuk mencari dosis optimal *Saccharomyces cerevisiae* pada manusia. Dilakukan penelitian lebih lanjut terkait efek dari *Saccharomyces cerevisiae* terhadap parameter lain untuk mengetahui efek spesifik dan khusus yang belum ada serta belum dibahas dalam penelitian ini.

SIMPULAN

Saccharomyces cerevisiae dapat meningkatkan jumlah sel otak pada bagian *substantia nigra* otak tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar model parkinson yang diinduksi rotenone.

DAFTAR PUSTAKA

- Lau, de LM, Breteler MM.. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2006. 5: 525-35.
- Dorsey, ER, Kollet, O, Farke, Christian. 2007. *Projected Number of People with Parkinson Disease in the Most Populous Nations, 2005 through 2030.* Rochester, USA : Department of Neurology University of Rochester Medical Center. 2007 Jan 30; 68(5):384-386.
- LeWitt, Peter A.. Levodopa for the Treatment of Parkinson's Disease. Massachusetts: New England Journal Medicine. 2008. 359:2468-2476.
- Lotharius, Julie, Brundin, Patrik. Pathogenesis Of Parkinson's Disease : Dopamine, Vesicles and α -Synuclein. *Nature Reviews : Neuroscience.* 2002. Vol. 3;1 – 11.
- Dauer, William, Przedborski, Serge. Parkinson's Disease : Mechanisms and Models. *Neuron.* 2003.Vol. 39, 889–909.
- Corselli, Mirko, Crisan, Mihaela, Lazzari, LorenzaKovack. Perivascular Ancestor of MultipotentStem cells. *American Heart Association Journal Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010. 30:1104-1109.
- Smith, Clayton. 2003. *Hematopoietic Stem cells and Hematopoiesis.* Blood marrow and transplant program. Florida: H. Lee Moffit Cancer Center.
- Gieryng A, Bogunia-KubikK.. The role of the SDF-1-CXCR4 axis in hematopoiesis and the mobilization of *hematopoieticstem cells* to peripheral blood. *PostepyHig Med Dosw [Online].* 2007. 61:369–83.
- FranzkeA..The role of G-CSF in adaptive immunity. *Cytokine Growth Factor Rev.*2006. 17:235–44.
- Afzal, Aqeela, and Mocco, J. 2012. *The Promise of HematopoieticStem cell Therapy for Stroke: Are We There Yet?, Advances in the Treatment of Ischemic Stroke, Dr. Maurizio Balestrino (Ed.),* ISBN: 978-953-51-0136-9, InTech.
- Hennemann, B., Ickenstein, G., Sauerbruch, S., Luecke, K., Haas, S., Horn, M., Andreesen, R., Bogdahn, U., Winkler, J.. Mobilization of CD34+ *hematopoietic* cells, colonyforming cells and long-term culture-initiating cells into the peripheral blood of patients with an acute cerebral ischemic insult. *Cytotherapy.*2008. 10(3):303-11.
- Pawitan, Jeanne Adiwinata. Prospect of Cell Therapy For Parkinson's Disease.*Acb Journal: Anat Cell Biol.* 2011. 44:256-264.
- Baum, C.M., Weissman, I.L., Tsukamoto, A.S., Buckle, A.M., and Peault, B. Isolation of a candidate human *hematopoietic* stem-cell population. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. A.* 1992. Vol89, 2804–2808.
- Sharma, Neha, & Bafna, Pallavi. Effect of *Cynodon dactylon* on rotenone induced Parkinson's disease. *Orient Pharm Exp Med.* 2012. 12:167–175.
- Yamada, M., Iwatsubo, T., Mizuno, Y., and Mochizuki, H.. Overexpression of α -synuclein in rat *substantia nigra* results in loss of dopaminergic neurons, Phosphorylation of α -synuclein and activation of *caspase-9*: resemblance to pathogenetic changes in Parkinson's disease *Journal of Neurochemistry.* 2004. 91, 451-461.
- Carmeliet P, Ferreira V, Breier G. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature.* 1996. 380(6573):435-439.
- Brazelton, T.R., Rossi, F.M., Keshet, G.I., and Blau, H.M.. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science.* 2000. 290, 1775–1779.
- Waafi, A.K., Pratama, M.Z., Susanto, D.P., Dewi, A.R., Mahardika, M.V. HEPAREGS (Hepar

Regenerated by *Stem cells*) : Pengembangan Terapi Regeneratif sebagai Alternatif Transplantasi pada Penyakit Sirosis Hepar dengan Menggunakan Ekstrak Oats (*Avena sativa* L.). PKMP DIKTI 2012. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

19. Weimann, J.M., Charlton, C.A., Brazelton, T.R., Hackman, R.C., and Blau, H.M. Contribution of transplanted *bone marrow* cells to Purkinje neurons in human adult brains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. 100. 2088–2093