

RINGKASAN**PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK OAT β -GLUCAN 70%
DAN OATMEAL TERHADAP FIBROGENESIS PADA PARU MENCIT
AKIBAT PAJANAN ASAP ROKOK**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan *pretest and posttest controlled group design* menggunakan hewan coba mencit *strain* BALB/c jantan. Penelitian bertujuan menjelaskan pengaruh pemberian ekstrak *oat β -glucan 70%* dan *oatmeal* dalam menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok melalui jalur inflamasi, oksidasi, dan sel punca.

Sampel pada penelitian ini dibagi secara random menjadi 3 kelompok kontrol yang tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit, dan 3 kelompok perlakuan yang tiap kelompok terdiri dari 8 ekor mencit. Pada kelompok kontrol tidak diberikan pajanan asap rokok, kelompok K1 mendapat pakan standar, K2 mendapat pakan standar + ekstrak *oat β -glucan 70%*, dan K3 mendapat pakan standar + *oatmeal*, setelah berlangsung 2 minggu semua mencit dikorbankan dan dilakukan pemeriksaan variabel penelitian berupa ekspresi TGF- β 1, PGE2, *β -catenin*, CD90, CD45, kolagen-1 pada jaringan paru kanan secara imunohistokimia; aktivitas SOD, konsentrasi GSH dan MDA pada jaringan paru kiri secara ELISA; konsentrasi IL-1 β pada serum darah tepi dan cairan BAL secara ELISA; pemeriksaan histopatologi dari jaringan paru kanan. Semua hasil pemeriksaan ini digunakan sebagai data *pretest*.

Pada kelompok perlakuan, 2 minggu sebelum mendapat pajanan asap rokok sampai berakhirnya perlakuan, kelompok P1 mendapat pakan standar, P3 mendapat pakan standar + ekstrak *oat β -glucan 70%*, dan P5 mendapat pakan standar + *oatmeal*. Pajanan asap rokok diberikan selama 6 minggu pada ketiga kelompok. Pada akhir perlakuan, kelompok P1 menjadi P2, P3 menjadi P4, dan P5 menjadi P6 dikorbankan untuk dilakukan pemeriksaan

variabel penelitian yang sama dengan kelompok kontrol, dan hasilnya digunakan sebagai data *posttest*.

Hasil pemeriksaan variabel penelitian pada jalur inflamasi menunjukkan nilai penurunan ekspresi TGF- β 1 dan peningkatan ekspresi PGE2 pada jaringan paru terjadi lebih besar pada kelompok yang mendapat *oatmeal* daripada kelompok yang mendapat ekstrak *oat β -glucan 70%*, sedang peningkatan konsentrasi IL-1 β pada serum darah tepi dan cairan BAL terjadi lebih tinggi pada kelompok yang mendapat ekstrak *oat β -glucan 70%*.

Pada jalur oksidasi, aktivitas SOD dan konsentrasi GSH pada jaringan paru meningkat pada kelompok yang mendapat ekstrak *oat β -glucan 70%* dan *oatmeal*, sedang konsentrasi MDA menurun pada kedua kelompok. Nilai penurunan konsentrasi MDA dan peningkatan konsentrasi GSH serta aktivitas SOD terjadi lebih besar pada kelompok yang mendapat *oatmeal*.

Pada keterlibatan jalur sel punca, ekspresi *β -catenin* dan CD45 pada jaringan paru mencit yang mendapat ekstrak *oat β -glucan 70%* menurun lebih rendah daripada yang mendapat *oatmeal*, sedang ekspresi CD90 meningkat lebih tinggi.

Ekspresi kolagen-1 pada jaringan paru mencit yang mendapat ekstrak *oat β -glucan 70%* menurun lebih banyak daripada yang mendapat *oatmeal*. Pemeriksaan histopatologi menunjukkan pembentukan jaringan fibrosis paru yang lebih ringan pada mencit yang mendapat ekstrak *oat β -glucan 70%* daripada yang mendapat *oatmeal*.

Beta-glucan merupakan polisakarida alamiah yang dapat bekerja sebagai imunoregulator dan mempunyai aktivitas antioksidan. *β -glucan* yang berasal dari *oat* lebih murah daripada *β -glucan* yang berasal dari jamur, bakteri, atau *yeast*. Reseptor *dectin-1* pada makrofag merupakan reseptor *β -glucan* yang utama dalam memperantarai efek biologisnya. *β -glucan* mampu menekan pelepasan sitokin profibrotik TGF- β 1 yang disebabkan oleh pajanan asap rokok, meningkatkan produksi PGE2 melalui TLR2, dan mengaktifkan

transkripsi gen IL-1 β sehingga terjadi peningkatan sekresi IL-1 β pada makrofag. *InterleukinL-1 β* memperantarai produksi *matrix metalloproteinase-1* (MMP-1), *plasminogen activator*, dan PGE2 yang penting dalam peningkatan degradasi matriks ekstrasel. Ekspresi PGE2 yang tinggi akan menghambat proliferasi fibroblas dan pembentukan kolagen yang diinduksi oleh TGF- β 1. Semua keadaan ini akan menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok.

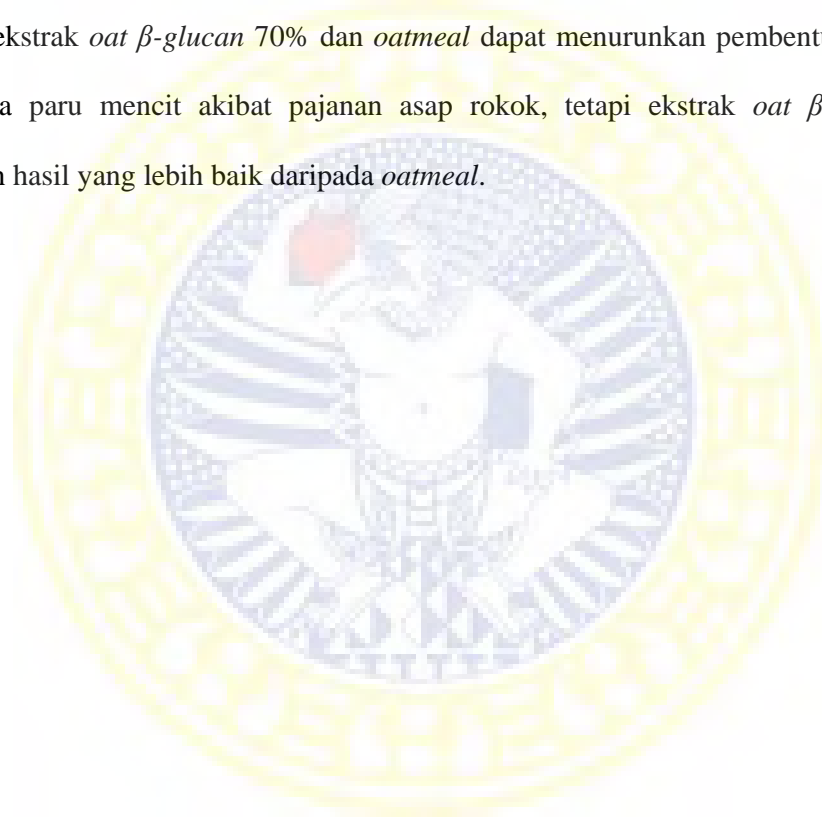
Oatmeal, dikenal sebagai makanan kesehatan, mengandung 2 komponen utama, β -*glucan* dan *Avenanthramide*. *Avenanthramide* juga mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi, sehingga mampu menurunkan produksi *reactive oxygen species* (ROS), dan mengurangi kerusakan oksidatif.

Pajanan asap rokok menyebabkan kerusakan oksidatif pada sel epitel alveoli. Kerusakan oksidatif yang berlangsung terus menerus akan menimbulkan proses pemulihan yang tidak terkontrol, dan terjadi peningkatan pelepasan sitokin profibrotik yang menyebabkan terbentuknya jaringan fibrotik. Pemberian ekstrak *oat β -glucan* 70% dan *oatmeal* yang mengandung β -*glucan* dan *Avenanthramide* melalui *selected scavenger receptor* mampu meningkatkan produksi SOD dan GSH dalam plasma dan jaringan, sehingga dapat melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif yang ditandai dengan penurunan konsentrasi MDA. Keadaan ini akan menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok.

Beta-glucan mampu menginduksi sel progenitor pada sel epitel alveoli tipe II dan sel punca mesenkim sehingga terjadi proliferasi sel-sel pluripoten yang mampu berdiferensiasi menjadi berbagai sel jaringan termasuk jaringan paru. Pada sel epitel alveoli tipe II pemberian β -*glucan* akan menurunkan aktivitas *β -catenin* yang akan mengurangi proliferasi dan hiperplasia sel epitel alveoli tipe II, sekresi mediator profibrotik, proliferasi dan hiperplasia sel basal bronkial, dan transisi epitel - mesenkim. Keadaan ini akan memberi

kesempatan terjadi regenerasi pada sel epitel alveoli dan mengurangi pembentukan jaringan fibrosis pada paru. Aktivitas *β -catenin* yang menurun akan mempertahankan produksi PGE2 sebagai sitokin antifibrotik oleh sel epitel alveoli. Efektifitas pemberian *β -glucan* pada sel punca mesenkim tampak berupa peningkatan ekspresi CD90 dan penurunan ekspresi CD45. Semua keadaan ini akan membantu menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru menciit akibat pajanan asap rokok.

Berdasarkan hasil pemeriksaan variabel penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak *oat β -glucan 70%* dan *oatmeal* dapat menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru menciit akibat pajanan asap rokok, tetapi ekstrak *oat β -glucan 70%* memberikan hasil yang lebih baik daripada *oatmeal*.



SUMMARY

THE DIFFERENCE EFFECT OF OAT β -GLUCAN 70% AND OATMEAL IN THE MICE LUNG FIBROGENIC CAUSED BY CIGARETTE SMOKE EXPOSURE

This is a true experimental study by pretest and posttest controlled group design using male mice BALB/c. The goal of this study is explaining the mechanism of decreasing the mice lung fibrogenic caused by cigarette smoke exposure with the administration of oat β -glucan 70% and oatmeal via the inflammation, oxidation, and stem cells pathway.

Male mice BALB/c randomly divided into 3 control groups, each group consist of 5 mice, and 3 treatment groups, each group consist of 8 mice. The control groups got no cigarette smoke exposure and different meal, group 1 got a standart meal, group 2 got a standart meal + oat β -glucan 70%, and group 3 got a standart meal + oatmeal. After 2 weeks, all of the mice in the control groups was sacrificed for the examinations of experimental variables as pretest data.

The expressions of TGF- β 1, PGE2, β -catenin, CD90, CD45, and collagen-1 was done by immunohistochemistry assay from the right lung. The activity of SOD and concentration of GSH and MDA was performed by ELISA from the left lung. The peripheral blood serum and BAL fluid performed the concentration of IL-1 β . The histopathological examination was done from the right lung.

In the treatment groups, two weeks before the cigarette smoke exposure until the end of the treatment, the first group got a standart meal, the second group got a standart meal + oat β -glucan 70%, and the third group got a standart meal + oatmeal. The three groups got cigarette smoke exposure for 6 weeks. At the end of the treatment, all of the mice was sacrificed to examine the experimental variables like in the control groups as posttest data.

The result of the examinations performed that oatmeal group had lower expression of TGF- β 1 and higher expression of PGE2 than the oat β -glucan 70% group. The concentration of IL-1 β look higher in the oat β -glucan 70% group. Increasing activity of SOD and GSH concentration look higher in the oatmeal group, so as the decreasing of MDA concentration.

Beta-catenin and CD45 expression decreased lower in the oat β -glucan 70% group, and so as the increasing of CD90 expression. The expression of collagen-1 decreased much lower in the oat β -glucan 70% group, and also the histopathological examination performed lighter lung fibrogenic.

Beta-glucan is a natural polysaccharide, a potent immunoregulator, and has antioxidant activity. Oat β -glucan cheaper than others β -glucan from yeast, fungi, and bacterial. Dectin-1 receptor on the macrophage is a prominent receptor that mediates the biological effect of β -glucan. Beta-glucan could decrease the releasing of profibrotic cytokine TGF- β 1 caused by cigarette smoke exposure, increase the production of PGE2 via TLR2, activate the transcription of IL-1 β gene so increase the secretion IL-1 β on the macrophage. Interleukin-1 β will mediate the production of matrix metalloproteinase-1 (MMP-1), plasminogen activator, and PGE2 that increasing the degradation of extracellular matrix. The high level of PGE2 will inhibit the fibroblast proliferation and collagen deposition which induced by TGF- β 1. All of these conditions will decrease the mice lung fibrogenic caused by cigarette smoke exposure

Oatmeal, a popular health useful food, has two major components, β -glucan and Avenanthramide. Avenanthramide also has a high scavenging activity, therefore, could decrease the production of reactive oxygen species (ROS) and relieve the oxidative damage.

Cigarette smoke exposure causes oxidative damage in the alveolar epithelial cell. Continous oxidative damage will elicit uncontrolled repair process and increase profibrotic cytokine, forming fibrotic tissue. Administration of oat β -glucan 70% and oatmeal that

consist of β -glucan and Avenanthramide, via the selected scavenger receptor could increase the production of SOD and GSH in the plasma and tissues, and protect the tissues from the oxidative damage, marked by decreasing of MDA concentration. This condition will decrease the mice lung fibrogenic caused by cigarette smoke exposure.

Beta-glucan also induces the type II alveolar epithelial cells (AECs II) as a progenitor cell and mesenchymal stem cells (MSCs), causes the proliferation of pluripotent cells that could differentiate into a variety of tissues cells including the lung. Cigarette smoke exposure will increase the activity of β -catenin in the type II alveolar epithelial cells. The high activity of β -catenin causes proliferation and hyperplasia of type II alveolar epithelial cells, secretion of profibrotic mediators, proliferation and hyperplasia of bronchial basal cells, and mesenchymal – epithelial transitions. Beta-glucan could decrease the activity of β -catenin and influence the microenvironment of MSCs. The low β -catenin activity will keep up the production of PGE2 by the alveolar epithelial cell, reduce the lung fibrogenic, and gives a chance to regenerate the alveolar epithelial cell. The effectivity of β -glucan administration in the mesenchymal stem cells was performed in the prominent expression of CD90 and light expression of CD45.

The conclusion of this study is oat β -glucan 70% and oatmeal could reduce the mice lung fibrogenic caused by cigarette smoke exposure, but oat β -glucan 70% gave a better result than oatmeal.

ABSTRAK**PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK OAT β -GLUCAN 70%
DAN OATMEAL TERHADAP FIBROGENESIS PADA PARU MENCIT
AKIBAT PAJANAN ASAP ROKOK**

Pajanan asap rokok merupakan penyebab utama penyakit fibrosis paru. Pendekatan konvensional maupun strategi mutakhir dalam mencegah penyakit fibrosis paru tetap memberikan hasil yang tidak memuaskan. Usaha pencarian terapi yang efektif dalam mengurangi pembentukan fibrotik paru yang disebabkan pajanan asap rokok masih terus berlangsung. *Beta-glucan* yang berasal dari *oat* (*oat β -glucan*), seperti halnya *β -glucan* yang berasal dari bakteri dan jamur, merupakan imunoregulator yang poten dan mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi. *Oat β -glucan* juga mampu menginduksi sel punca mesenkim dan sel epitel alveoli tipe II yang dapat meningkatkan regenerasi sel. *Oatmeal*, telah dikenal sebagai makanan kesehatan, mengandung 2 komponen utama, *β -glucan* dan *Avenanthramide*. *Avenanthramide* juga mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi.

Penelitian ini dilakukan untuk menjelaskan dan menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *oat β -glucan 70%* dan *oatmeal* terhadap fibrogenesis pada paru mencit yang terpajan asap rokok melalui jalur inflamasi, oksidasi, dan sel punca.

Penelitian ini merupakan *true experimental study* dengan *pretest and posttest controlled group design*. Tiga kelompok mencit BALB/c jantan mendapat pajanan asap rokok selama 6 minggu dan mendapat komposisi makanan yang berbeda-beda. Dua minggu sebelum mendapat pajanan asap rokok sampai berakhirnya perlakuan, pada kelompok pertama diberikan pakan standar, kelompok kedua dan ketiga mendapat tambahan ekstrak *oat β -glucan 70%* dan *oatmeal* pada pakan standarnya. Pada akhir 2 minggu pertama dilakukan pemeriksaan variabel penelitian pada 5 ekor mencit dari tiap kelompok berupa ekspresi TGF- β 1, PGE2, β -catenin, CD90, CD45, dan kolagen-1 pada jaringan paru secara imunohistokimia; aktivasi SOD, konsentrasi GSH dan MDA pada jaringan paru secara ELISA; serta pemeriksaan histopatologi jaringan paru (HE). Pada serum darah tepi dan cairan BAL dilakukan pemeriksaan konsentrasi IL-1 β secara ELISA. Hasil pemeriksaan ini digunakan sebagai data *pretest*. Pada akhir perlakuan pajanan asap rokok dilakukan pemeriksaan variabel penelitian yang sama pada 8 ekor mencit dari tiap kelompok, dan hasilnya digunakan sebagai data *posttest*.

Data *posttest* menunjukkan ada penurunan yang bermakna pada ekspresi TGF- β 1, β -catenin, CD45, kolagen-1, dan konsentrasi MDA; peningkatan yang bermakna pada ekspresi PGE2 dan CD90, aktivasi SOD, konsentrasi GSH dan IL-1 β pada kelompok yang mendapat ekstrak *oat β -glucan 70%* dan *oatmeal*. Pemeriksaan histopatologi menunjukkan fibrogenesis paru yang lebih ringan pada mencit yang mendapat ekstrak *oat β -glucan 70%* dan *oatmeal*.

Pemberian ekstrak *oat β -glucan 70%* dan *oatmeal* dapat menurunkan pembentukan jaringan fibrosa pada paru mencit akibat pajanan asap rokok, tetapi ekstrak *oat β -glucan 70%* memberikan hasil yang lebih baik pada penelitian ini.

Kata kunci: *oat β -glucan*, *oatmeal*, fibrogenesis paru, pajanan asap rokok

ABSTRACT**THE DIFFERENCE EFFECT OF OAT β -GLUCAN 70% and OATMEAL IN THE MICE LUNG FIBROGENIC CAUSED BY CIGARETTE SMOKE EXPOSURE**

Recent studies suggest that cigarette smoke exposure is the leading cause of fibrotic lung disease. Conventional approaches or novel strategies to prevent fibrotic lung disease still give unsatisfied result. The search for an effective agent to reduce the lung fibrogenic caused by cigarette smoke exposure still continues. Oat β -glucan, like others β -glucan from yeast or bacterial, is a potent immunoregulator and has a high scavenging activity. Oat β -glucan also has activity on the mesenchymal stem cells (MSCs) and type II alveolar epithelial cells (AECs II). Oatmeal, a popular health useful food, has two major components, β -glucan and avenanthramide. Avenanthramide also has a high scavenging activity, therefore, could decrease the production of reactive oxygen species (ROS) and relieve the oxidative damage.

The aim of this study is explaining and analyzing the effect of oat β -glucan 70% and oatmeal administration in the mice lung fibrogenic caused by cigarette smoke exposure through the inflammation, oxidation, and stem cell pathway.

This study is a true experimental study with pretest and posttest controlled group design. Three groups of male mice BALB/c had six weeks cigarette smoke exposures and got different meal. Since two weeks before the cigarette smoke exposure until the end of the treatment, the first group got standard meal, the second and the third group got supplementation of oat β -glucan 70% and oatmeal in their standard meal. At the end of the first two weeks, five mice from the each group were sacrificed to examine the expression of TGF- β 1, PGE2, β -catenin, CD90, CD45, and type-1 collagen in the lung by immunohistochemistry; the activation of SOD, concentration of GSH and MDA in the lung by ELISA; also lung histopathological examination by HE. The peripheral blood serum and BAL fluid performed the concentration of IL-1 β by ELISA. The result of these examinations was used as a pretest data. At the end of the cigarette smoke exposure, the same examinations were done for the eight mice from each group, and the result was used as a posttest data.

The posttest data performed significantly decreased expression of TGF- β 1, β -catenin, CD45, type- 1 collagen and concentration of MDA; increased expression of PGE2 and CD90, activation of SOD, concentration of GSH and IL-1 β from the group who got oat β -glucan 70% and oatmeal. The histopathological examination performed lighter lung fibrogenic on both of the groups.

Oat β -glucan 70% and oatmeal could reduce the mice lung fibrogenic caused by cigarette smoke exposure, but oat β -glucan 70% gave a better result in this study.

Keywords: oat β -glucan, oatmeal, lung fibrogenic, cigarette smoke exposure