

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Data laporan tuberkulosis (TBC) global 2020 dari *World Health Organization* (WHO), total kasus TBC di dunia mencapai 10 juta kasus pada tahun 2019, dimana Indonesia berada di posisi kedua terbanyak sekitar 8,5% kasus. Insidensi *Ethambutol Toxic Optic Neuropathy* (E-TON) di rumah sakit Sanglah, Denpasar pada bulan Mei-Agustus 2018 didapatkan 5 orang (16.7%) dengan lesi nervus optikus dan 7 orang (23.3%) dengan penurunan tajam penglihatan dan gangguan penglihatan merah hijau dari 30 penderita TBC dengan terapi etambutol. Hasil penelitian Juzwi *et al*, di Makasar dilaporkan 3 orang menderita E-TON dari 119 pasien TB paru dengan terapi etambutol. Di puskesmas rawat inap panjang, Lampung dilaporkan pada bulan Oktober-Desember 2017 dari 41 pasien TBC dengan terapi etambutol didapatkan 7 orang (17%) dengan gangguan persepsi warna dan 10 orang (24.4%) dengan penurunan tajam penglihatan. Insiden terkait dengan dosis toksisitas etambutol yang dilaporkan sebesar 18% pada pasien yang menerima > 35 mg/kg/hari, 5-6% dengan 25 mg/kg/hari, dan < 1% dengan 15 mg/kg /hari selama lebih dari dua bulan pengobatan.¹⁻⁹

Toxic Optic Neuropathy (TON) merupakan gangguan tajam penglihatan akibat kerusakan saraf optik yang disebabkan oleh zat toksik. Zat toksik yang dapat menyebabkan TON yaitu etambutol, linezolid, isoniazid, kloramfenikol, hidroksikuinolin, penisilamin, amiodaron, methanol, dan ethanol. Etambutol

merupakan salah satu penyebab TON dan sering digunakan sebagai terapi lini pertama pada kasus TBC di Indonesia. *Ethambutol Toxic Optic Neuropathy* ditandai hilangnya tajam penglihatan, gangguan lapang pandang, penurunan sensitivitas kontras, dan penurunan penglihatan warna.¹⁻⁹

Mekanisme terjadinya E-TON masih belum diketahui secara pasti. Mekanisme kerusakan saraf yang terjadi pada E-TON yang telah terbukti secara *in vivo* dan *in vitro* pada tikus, yaitu terjadi kematian sel-sel ganglion retina akibat gangguan aktivitas mitokondria dan jalur eksitotoksik glutamat yang diinduksi ethambutol. Etambutol adalah *chelator* logam yang bersifat anti-mikobakteri dengan menghambat *arabinosyltransferase*. Etambutol dapat mengganggu kompleks I yang mengandung *Ferrum* (Fe) dan kompleks IV yang mengandung *Cuprum* (Cu) sehingga terjadi gangguan *Oxidative Phosphorylation* (OXPHOS) dan fungsi mitokondria. Gangguan OXPHOS dan fungsi mitokondria akan meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Etambutol juga menginduksi jalur eksitotoksik glutamat yang akan mengaktifkan ionotropik reseptor seperti *N-Methyl D-aspartate* (NMDA), *α-amino-3-hydroxy-5-metylisoxazole-4-propionate* (AMPA), dan *kainic acid* (KA) sehingga terjadi aktivasi Ca^{2+} channel dan enzim-enzim lisosom yang menyebabkan disfungsi mitokondria, pembentukan radikal bebas, dan stres oksidatif. Gangguan fungsi dari membran mitokondria dan lisosom menyebabkan peningkatan ROS. Peningkatan ROS memicu reaksi *lipid peroxidation* (LPO) yang akan meningkatkan ekspresi *Malondialdehyde* (MDA) dan memicu aktivasi *p53* yang akan menginduksi keluarnya *cytocrom C* dari mitokondria. *Cytocrom C* akan mengaktifkan *Caspase 3* sehingga terjadi apoptosis

sel ganglion retina. Apoptosis sel ganglion retina juga terjadi akibat gangguan proses autofagi yang terjadi oleh *Phosphoinositide 3-kinase* (PI3K). Hasil penelitian Agustini L, didapatkan secara signifikan penurunan *Superoxide Dismutase 2* (SOD2) dan peningkatan MDA, *p53*, *cytocrom C*, *Caspase 3* pada E-TON yang merupakan biomarker penting untuk mendeteksi apoptosis pada sel ganglion retina.¹⁰⁻¹³

Manajemen terapi pada E-TON yang terbaik adalah dengan menghentikan terapi etambutol. Saat ini masih belum ada terapi medikamentosa yang efektif untuk E-TON. Toksisitas etambutol dapat bersifat *reversible* dan *irreversible*. Dilaporkan 20-80% kasus mengalami perbaikan tajam penglihatan setelah penghentian etambutol, meskipun tidak maksimal. Perbaikan tajam penglihatan setelah penghentian etambutol dapat terjadi dalam beberapa bulan sampai tahun tergantung dosis dan lama pemakaian obat. Kasus E-TON sering tidak terdiagnosis atau didiagnosis pada tahap lanjut sehingga kerusakan yang terjadi bersifat permanen sehingga perlu terapi profilaksis. Dalam kedokteran, istilah profilaksis merupakan prosedur dan pengobatan untuk mencegah dampak negatif yang akan terjadi. Terapi profilaksis pada E-TON seperti antioksidan dimaksudkan untuk mencegah atau mengurangi kerusakan permanen yang terjadi akibat toksisitas etambutol.^{1,2,14}

Asam folat adalah bentuk sintetis dari vitamin B9 yang ditemukan dalam suplemen dan makanan yang diperkaya, sedangkan folat terjadi secara alami dalam makanan. Vitamin B9 sangat penting untuk berbagai fungsi tubuh mulai dari sintesis nukleotid ke remetilasi homosistein. Vitamin ini penting pada masa pembelahan dan pertumbuhan sel. Asam folat merupakan antioksidan dan

penangkal radikal bebas yang efektif. Secara signifikan asam folat menghambat LPO di mikrosom hati tikus Wistar. Bentuk *tetrahydrofolate* (THF) dan *5-methyltetrahydrofolate* (5-MTHF) dapat menangkal radikal bebas secara efektif dan menghambat LPO in vivo. Hambatan pada reaksi LPO ditandai dengan menurunnya ekspresi MDA yang diharapkan akan menurunkan apoptosis sel. Aktivitas penangkal radikal bebas asam folat dinyatakan sebagai nilai *trolox equivalent antioxidant capacity* (TEAC) dan *ferric ion antioxidant potential* (FRAP) sebanding dengan vitamin C dan E. Aktivitas folat tereduksi dalam uji *2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate* (DPPH) hanya 2-6 kali lipat lebih rendah daripada vitamin C dan E. 5-MTHF secara signifikan meningkatkan resistensi VLDL dan LDL terhadap oksidasi in vitro. Asam folat juga dapat menurunkan *Homocysteine* (Hcy) dan meningkatkan kadar *reduced Glutathione* (GSH) sebagai antioksidan pada kondisi stress oksidatif. Hasil penelitian Yilmaz dan Yinglan *et al*, didapatkan pemberian asam folat secara signifikan menurunkan ekspresi MDA pada retinopati dan neuropati perifer diabetik. Hasil penelitian Prayitnaningsih *et al*, didapatkan pemberian asam folat secara signifikan menurunkan ekspresi *Caspase 3* dan indeks apoptosis sel ganglion retina pada intoksikasi metanol sel ganglion retina.¹⁵⁻²¹

Asam folat yang tereduksi menjadi bentuk aktif seperti THF dan 5-MTHF mempunyai peranan penting dalam patogenesis E-TON. Bentuk aktif tersebut dapat menangkap radikal bebas, meningkatkan GSH, dan meningkatkan resistensi *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) sehingga menghambat LPO dan menurunkan ROS. Terhambatnya proses LPO akan menurunkan ekspresi MDA sebagai produk

akhir dari LPO dan menghentikan stress oksidatif sehingga akan menurunkan apoptosis sel yang terjadi. Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan secara signifikan adanya efek profilaksis asam folat oral sebagai antioksidan melalui analisis ekspresi MDA dan apoptosis sel ganglion retina.¹⁵⁻²¹

1.2.Rumusan Masalah

1.2.1 Rumusan Masalah Umum

Apakah terdapat pengaruh pemberian profilaksis asam folat terhadap ekspresi MDA dan densitas sel ganglion retina pada tikus Wistar yang diberikan etambutol?

1.2.2 Rumusan Masalah Khusus

1. Apakah ekspresi MDA sel ganglion retina lebih rendah pada tikus Wistar yang diberikan etambutol dan profilaksis asam folat dibandingkan tikus Wistar yang diberikan etambutol tanpa asam folat?
2. Apakah densitas sel ganglion retina lebih tinggi pada tikus Wistar yang diberikan etambutol dan profilaksis asam folat dibandingkan tikus Wistar yang diberikan etambutol tanpa asam folat?
3. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi MDA dan densitas sel ganglion retina pada tikus Wistar yang diberikan etambutol dan profilaksis asam folat?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Membuktikan pengaruh pemberian profilaksis asam folat terhadap ekspresi MDA dan densitas sel ganglion retina pada tikus Wistar yang diberikan etambutol.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Menganalisis ekspresi MDA sel ganglion retina pada tikus Wistar yang diberikan etambutol dan profilaksis asam folat dibandingkan kelompok kontrol.
2. Menganalisis densitas sel ganglion retina pada tikus Wistar yang diberikan etambutol dan profilaksis asam folat dibandingkan kelompok kontrol.
3. Menganalisis hubungan antara ekspresi MDA dan densitas sel ganglion retina pada tikus Wistar yang diberikan etambutol dan profilaksis asam folat?

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat bagi Ilmu Pengetahuan

1. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan data ilmiah mengenai pengaruh pemberian profilaksis asam folat oral terhadap ekspresi MDA dan kerusakan sel ganglion retina pada E-TON.
2. Memberikan landasan ilmiah mengenai kemungkinan pengembangan dan pemanfaatan profilaksis asam folat oral pada E-TON.

1.4.2. Manfaat bagi Klinisi

Memberikan masukan dan tambahan informasi mengenai manfaat terapi profilaksis asam folat oral pada E-TON, namun perlu penelitian lebih lanjut pada manusia.

1.4.3. Manfaat bagi Penelitian

Memberikan manfaat sebagai landasan untuk penelitian selanjutnya mengenai manfaat terapi profilaksis asam folat oral pada manusia dengan E-TON.

1.5. Orisinalitas Penelitian

Tabel 1. Penelitian Sebelumnya yang Berhubungan dengan Penelitian ini.^{12,17-19}

No.	Peneliti/ Publikasi/ Tahun	Judul penelitian	Hasil penelitian	Persamaan/ perbedaan
1.	Yinglan L et al/ Chinese Journal Of Experimental Ophthalmology/ 2020	<i>Protective effects of folic acid on retina in diabetic mice and its anti- oxidative stress mechanism</i>	Terdapat penurunan secara signifikan konsentrasi 8- OHdG dan MDA di retina pada kelompok perlakuan (diberi asam folat dosis 71mcg/kgBB/hari	Pada penelitian ini akan dilakukan penilaian ekspresi MDA dan derajat apoptosis sel ganglion retina dengan pemberian asam folat dosis 18 mcg/ 200gramBB / hari pada tikus

			oral) dibanding kelompok kontrol (tanpa perlakuan)	wistar yang diberikan etambutol 32mg /200gramBB/ hari.
2.	Prayitnaningsih S, et al / Jurnal Kedokteran Brawijaya/ 2005	Perbandingan antara pemberian asam folat, ekstrak ginkgo biloba, dan methyl cobalamin terhadap indeks apoptosis dan ekspresi <i>Caspase 3</i> pada intoksikasi metanol sel ganglion retina.	Pemberian Asam Folat menurunkan ekspresi <i>Caspase 3</i> dan indeks apoptosis (IA) terbanyak dan bermakna.	Penelitian tersebut menilai pemberian asam folat terhadap indeks apoptosis intoksikasi metanol sel ganglion retina. Penelitian ini akan dilakukan pemberian asam folat dengan dosis sama pada tikus wistar yang diberikan etambutol dan juga menilai ekspresi MDA.
3.	Yilmaz M/ Sage Journals, Toxicology and	<i>Neuroprotective effects of folic acid on</i>	Terdapat penurunan secara signifikan level	Pada penelitian ini akan dilakukan pemberian asam

	Industrial Health/ 2013	<i>experimental diabetic peripheral neuropathy</i>	MDA pada kelompok perlakuan (diberi asam folat dosis 10mg/kg/hari intraperitoneal) dibanding kelompok kontrol (tanpa perlakuan)	folat dosis 18 mcg/200gramBB/hari secara oral pada tikus Wistar yang diberikan etambutol 32mg /200gramBB/hari, bukan pada tikus model <i>diabetic peripheral neuropathy</i> .
4.	Agustini L/ belum dipublikasi/ 2020	Mekanisme Apoptosis pada Kerusakan Sel Ganglion Retina akibat Pemberian Etambutol pada Tikus <i>Rattus Norvegicus</i>	Paska pemberian etambutol dosis 15mg/kgBB/hari pada hari ke-5, hari ke-10, dan hari ke-15 mengakibatkan penurunan SOD2, peningkatan MDA, p53, <i>Cyt c</i> , <i>Caspase 3</i> yang merupakan biomarker penting	Penelitian ini menilai apoptosis sel ganglion retina pada tikus wistar yang diberikan etambutol dosis 32mg/200gramBB/hari melalui ekspresi MDA, serta untuk mengetahui adanya efek profilaksis

			untuk mendeteksi adanya apoptosis pada sel ganglion retina.	asam folat oral selama 30 hari.
--	--	--	---	---------------------------------

Pada penelitian ini akan dinilai efek pemberian profilaksis asam folat oral terhadap ekspresi MDA dan densitas sel ganglion retina pada tikus Wistar yang diberikan etambutol 32mg/200gramBB/hari dikarenakan sudah dibuktikan pada teori terdahulu bahwa asam folat menurunkan ekspresi MDA pada retinopati diabetik dan neuropati perifer diabetik, serta asam folat dapat menurunkan indeks apoptosis pada intoksikasi methanol sel ganglion retina.

Penelitian ini dilakukan dengan pemberian profilaksis asam folat dosis 18mcg/200gramBB/hari pada tikus yang akan diberikan bersamaan dengan pemberian etambutol dosis 32mg/200gramBB/hari pada tikus wistar dengan berat badan 200-300 gram. Pemilihan dosis asam folat dan etambutol disesuaikan dengan pemberian dosis asam folat sebagai antioksidan dan dosis maksimal etambutol pada manusia dengan konversi dosis menurut *Laurance and Bacharach*. Pemilihan waktu pemberian etambutol dan asam folat dilakukan selama 30 hari dikarenakan apoptosis sel ganglion retina pada E-TON sudah terjadi pada kurun waktu 30 hari.

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan rancangan penelitian *post-test only randomized controlled group design*, dimana akan diteliti ekspresi MDA dan densitas sel ganglion retina dengan pemeriksaan imunohistokimia dan histopatologi pada tikus Wistar yang diberikan etambutol 32mg/200gramBB/hari.

Pemilihan ekspresi MDA berdasarkan penelitian atau teori sebelumnya bahwa peningkatan MDA sebagai biomarker meningkatnya stres oksidatif yang akan menginduksi apoptosis sel saraf dimana proses apoptosis sel ganglion retina sama dengan apoptosis sel saraf pada umumnya.