

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Neuropati optik traumatika (NOT) merupakan suatu kondisi patologis pada nervus optikus yang disebabkan oleh cedera langsung maupun tidak langsung, yang sering menyebabkan gangguan penglihatan parsial hingga permanen akibat hilangnya sel ganglion retina dan serabut axon.¹ Patofisiologi NOT hingga saat ini masih belum jelas. Mekanisme NOT saat ini dapat dikategorikan menjadi primer dan sekunder.²⁻⁵ Mekanisme primer dapat disebabkan oleh cedera langsung (*direct*) maupun tidak langsung (*indirect*). Cedera langsung terhadap saraf optik disebabkan oleh lepasnya saraf atau laserasi saraf optik oleh fragmen tulang atau trauma penetrans. Cedera tidak langsung dapat disebabkan oleh transmisi tekanan ke saraf optik tanpa disertai disrupsi anatomis. Kondisi tersebut sering terjadi akibat cedera kepala ringan, trauma tulang wajah, maupun trauma langsung bola mata yang tekanannya merusak saraf optik pada apeks orbita.^{4,5} Mekanisme sekunder dapat disebabkan oleh vasospasme, edema, perdarahan, dan kompresi pada pembuluh darah yang mengakibatkan nekrosis saraf optik.⁴

Insidensi NOT sebesar 0,7% hingga 2,5%. Prevalensi cedera tidak langsung lebih tinggi dibandingkan dengan cedera langsung. Prevalensi NOT *indirect* sebesar 0,5% hingga 5% pada trauma kepala dan 2,5% pada trauma maksilofasial. Saraf optik pars intrakanalikuli merupakan lokasi tersering terkena cedera, dengan insidensi sebesar 71,4%. Delapan puluh persen pasien dengan NOT berjenis kelamin laki-laki dan 21% diantaranya berusia kurang dari 18 tahun. Kecelakaan kendaraan bermotor merupakan penyebab utama NOT pada kasus trauma sebesar 26%.² Hasil penelitian di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo ditemukan 34 kasus NOT selama tahun 2014 hingga 2015,

dengan 82,4% berjenis kelamin laki-laki, 61,8% disebabkan kecelakaan lalu lintas dan 58,5% datang dengan tajam penglihatan *no light perception*.⁶

Neuropati optik traumatika merupakan penyebab utama kebutaan pada trauma kraniookular. Sel ganglion retina merupakan penyusun akson saraf optik dan satu-satunya neuron yang mengantarkan informasi dari retina ke otak. Kematian sel ganglion retina terjadi apabila terjadi kerusakan akson saraf optik akibat cedera. Neuron retina merupakan perpanjangan neuron pada sistem saraf pusat yang memiliki keterbatasan sistem regenerasi akson endogen, sehingga cedera pada saraf optik bersifat *irreversible* yang berakhir pada kebutaan permanen.^{7,8}

Saraf optik yang terkena cedera sangat rentan mengalami kerusakan hingga kematian, baik akibat mekanisme cedera primer maupun mekanisme sekunder, seperti apoptosis, nekrosis, autofagi, stres oksidatif, *excitotoxicity*, ketidakseimbangan homeostatis, dan influk ion kalsium. Nervus optikus yang cedera akan mengalami gesekan mekanis yang menimbulkan *axonal stress* yang berlanjut menjadi iskemi, edema, dan kompresi sehingga terjadi *compartment syndrome* yang menyebabkan kerusakan akson permanen akibat degenerasi sel ganglion retina dan apoptosis. Apoptosis merupakan kematian sel terprogram yang melibatkan proses seluler aktif.⁹

Mekanisme apoptosis terjadi melalui dua jalur, yaitu *caspase-dependent* dan *caspase-independent*. Beberapa penelitian hewan coba menyimpulkan terjadinya peningkatan caspase 3 aktif setelah aksotomi sel ganglion retina. Caspase 3 meningkat signifikan pada hari ke 3 dan mencapai titik puncak pada hari ke 4. Migallón *et al* pada penelitiannya menyimpulkan bahwa 50% kematian sel ganglion retina pada tikus model *optic nerve transection* dan 42% kematian sel ganglion retina pada tikus model *optic nerve crush* terjadi melalui jalur *caspase-dependent*.^{7,8}

Cedera saraf optik maupun kerusakan akut pada retina akan merangsang sel Müller glia untuk mengekspresikan *Brain-Derived Neurotrophic Factor*

(BDNF) dan *basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF).¹⁰ *Brain-Derived Neurotrophic Factor* diekspresikan pada sel ganglion retina, astrosit, sel Muller, microglia dan sel lamina cribosa pada lapisan dalam retina dan dapat ditemukan pada nukleus genikulatum laterale, kolikulus superior, korteks visual primer, dan papil saraf optik.¹¹ *Brain-Derived Neurotrophic Factor* berperan sebagai neuroprotektan poten pada mata mamalia melalui peranannya yang tidak hanya menginduksi regenerasi sel ganglion retina, tetapi juga membantu mempertahankan integritas struktur neuron yang tersisa akibat kerusakan saraf optik melalui induksi ekspresi mRNA yang memproduksi bFGF, *ciliary neurotrophic factor*, dan *glial cell line-derived neurotrophic factor*.^{11,12} *Brain-Derived Neurotrophic Factor* merupakan neurotropik yang dikenal berperan memiliki efek neuroprotektif melalui mekanisme anti apoptosis, anti oksidan, menurunkan autofagi, antagonis *excitotoxicity* glutamat, dan induksi regenerasi dendrit.^{13,14}

Mature BDNF (mBDNF) disekresikan pada post sinaps dan berikatan dengan reseptornya p75 dan *tyrosine kinase B* (TrkB). *Mature* BDNF berikatan sangat kuat pada TrkB (BDNF/TrkB *signalling*) yang akan mengaktifkan beberapa jalur kaskade, yaitu *Ras-mitogen-activated protein kinase* (MAPK), *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3K), dan *phospholipase C gamma* (PLC- γ). Sinyal BDNF/TrkB yang teraktivasi akan memberikan sejumlah efek, diantaranya: diferensiasi neuronal, perkembangan neurit, peningkatan kelangsungan hidup neuron, regenerasi akson dan penguatan sinaps.¹¹⁻¹³

Aktivasi BDNF/TrkB merupakan salah satu respon endogen terhadap kerusakan retina. Penelitian oleh Chen dan Weber pada mata kucing dengan model cedera saraf optik menunjukkan bahwa injeksi BDNF intravitreal meningkatkan 60% kepadatan sel ganglion retina. Tiga puluh mikrogram BDNF injeksi intravitreal dapat meningkatkan viabilitas sel ganglion retina sebesar 81%.¹⁵ Penelitian lainnya pada tikus dan kucing dengan model cedera

saraf optik yang mendapatkan injeksi BDNF berulang menunjukkan efek proteksi sel ganglion retina dari apoptosis hingga 6 minggu.¹¹ Penelitian oleh Feng dan Puyang juga menyimpulkan bahwa upregulasi BDNF dapat meningkatkan 1,38 kali regenerasi akson dalam 2 minggu setelah cedera saraf optik.¹⁶

Brain-Derived Neurotrophic Factor mencegah apoptosis melalui penghambatan aktivasi caspase 3.¹⁷ Peranan dalam menjaga ketahanan sel ganglion retina dan regenerasi akson didapat melalui regulasi jalur PI3K/Akt dan MAPK/ERK1/2.^{14,17,18} Penelitian oleh Migallón *et al* juga menyimpulkan bahwa injeksi tunggal BDNF pada tikus model neuropati optik traumatika terbukti menghambat kematian sel ganglion retina melalui inhibisi caspase 3.¹⁹

Sinyal BDNF/TrkB juga menginduksi remielinisasi melalui aktivasi jalur MAPK/ERK1/2. Beberapa penelitian menyimpulkan bahwa PI3K-Akt, MAPK/ERK dan mTOR berperan dalam elongasi neurit. Selain itu, fosforilasi MAPK dan Akt akibat induksi BDNF terjadi dalam 1 jam dan bertahan dalam 2 minggu di retina.^{14,20,21}

Quercetin (3,3',4',5,7-pentahydroxy flavonoid) merupakan salah satu flavonol pada kelompok flavonoid. Quercetin telah banyak terbukti bermanfaat sebagai anti oksidan kuat bahkan lebih poten dibandingkan dengan vitamin C dan E, anti inflamasi, anti fibrosis, imunomodulatori, anti kanker, anti arthritik, antibiotik, anti virus, menurunkan gula darah, menurunkan hiperlipidemia, anti *angiogenic*, neuroproteksi dan anti apoptosis. Quercetin juga memproteksi organisme melawan neurotoksik dan memperlambat derajat keparahan cedera saraf dan neurodegenerasi. Quercetin merupakan salah satu flavonol terbaik yang ditemukan pada banyak buah dan sayur seperti bawang merah, apel merah, anggur merah, *cranberry*, kangkung, paprika, tomat, ceri, dan brokoli.²²⁻²⁶

Quercetin di bidang oftalmologi telah digunakan sebagai terapi untuk keratoconus, *Graves' ophthalmopathy*, konjungtivitis, katarak, *dry eye disease*, retinopati, glaukoma, *aged related macular degeneration*, dan lainnya.²² Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa quercetin berperan menghambat apoptosis melalui aktivasi jalur ERK yang selanjutnya menginduksi fosforilasi protein *cAMP response element-binding* (CREB), upregulasi BCL-2, sehingga menurunkan ekspresi caspase 3, dan regenerasi neurit melalui aktivasi PI3K/Akt.^{22,27,28} Turedi et al dalam penelitiannya dengan tikus model cedera saraf optik menyimpulkan bahwa quercetin bermanfaat dalam regenerasi neuron dan memperpendek durasi penyembuhan paska trauma.²⁸

Pada beberapa penelitian menyebutkan bahwa quercetin dapat meningkatkan ekspresi BDNF. Penelitian oleh Rahvar *et al* menyimpulkan bahwa quercetin dapat meningkatkan ekspresi mRNA BDNF secara signifikan. Peran BDNF dalam pengaktifan sinyal kaskade memiliki peranan penting dalam proses neuroproteksi.²⁹ Penelitian Yao *et al* pada iskemi otak fokal model oklusi arteri cerebri media membuktikan bahwa quercetin secara signifikan meningkatkan ekspresi BDNF, TrkB dan p-Akt, sehingga dapat menurunkan ekspresi caspase 3 dan menurunkan apoptosis.³⁰ Sehingga, berdasarkan beberapa penelitian tersebut membuktikan bahwa quercetin memiliki efek poten neuroprotektif yang dapat dipertimbangkan sebagai terapi komplementer pada degenerasi neuron.

Penganganan neuropati optik traumatika sampai saat ini masih kontroversial. Hingga saat ini belum terdapat pedoman dan modalitas yang efektif dalam tatalaksana NOT. Salah satu upaya penatalaksanaan NOT yang saat ini sering diteliti adalah melalui pendekatan farmakologis, manfaat neuroproteksi dan regenerasi akson. Neuroproteksi adalah upaya mencegah kematian sel ganglion retina. Suplementasi nutrisi dengan neuroprotektor ini berfungsi sebagai antioksidan, anti inflamasi dan anti apoptosis yang efektif dalam mencegah kematian sel ganglion retina pada model degenerasi retina in

vivo dan in vitro.^{11,31,32} Quercetin telah dikenal luas sebagai anti inflamasi, anti oksidan, dan anti apoptosis esensial yang bermanfaat dalam proses ketahanan neuron. Quercetin secara alamiah mudah didapatkan pada sayur dan buah. Sehingga diharapkan penelitian ini dapat mengetahui efek terapeutik quercetin dan pengaruhnya terhadap ekspresi BDNF pada cedera saraf optik.

Penelitian sebelumnya menyimpulkan pemberian quercetin dosis 20 dan 50 mg/kg per oral selama 30 hari secara signifikan meningkatkan ekspresi mRNA BDNF pada hipocampus tikus.²⁹ Penelitian Turedi pada tikus model cedera saraf optik dengan pemberian quercetin dosis 200 mg/kg yang dilarutkan dalam DMSO 0,5% per oral dalam dua kelompok perlakuan, yaitu pemberian quercetin selama 7 hari dan selama 28 hari menunjukkan bahwa terdapat perbaikan signifikan pada struktur akson, penurunan kerusakan sel, dan penurunan indeks apoptosis pada kedua kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol.²⁸ Pada manusia intake harian quercetin yang diperbolehkan hingga 500 mg. Beberapa penelitian klinis menggunakan dosis quercetin 500 – 1000 mg per hari dalam beberapa dosis terbagi. Penelitian menggunakan quercetin dosis > 1000 mg/hari selama beberapa bulan tidak menunjukkan adanya tanda-tanda toksisitas pada serum elektrolit, fungsi ginjal, hati, dan darah.³³

Penelitian mengenai efek quercetin oral terhadap ekspresi BDNF pada cedera saraf optik belum pernah dilakukan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah quercetin dapat berperan dalam beberapa mekanisme yaitu modulasi faktor neuroproteksi BDNF, regenerasi akson, mencegah apoptosis sel ganglion retina melalui upregulasi BCL-2, perbaikan fungsi mitokondria dan menekan stress oksidatif sehingga dapat dijadikan modalitas tatalaksana kasus NOT.

1.2. Rumusan Masalah

1.2.1 Rumusan Masalah Umum

Apakah pemberian quercetin oral menyebabkan ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina tikus *Sprague dawley* model neuropati optik traumatika lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol ?

1.2.2 Rumusan Masalah Khusus

1. Apakah ekspresi BDNF pada kelompok tikus *Sprague dawley* model neuropati optik traumatika yang diberikan quercetin oral lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol ?
2. Apakah densitas sel ganglion retina pada kelompok tikus *Sprague dawley* model neuropati optik traumatika yang diberikan quercetin oral lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol ?
3. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi BDNF dengan densitas sel ganglion retina pada tikus *Sprague dawley* model neuropati optik traumatika yang diberikan quercetin oral?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah membuktikan pemberian quercetin oral menyebabkan ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina tikus *Sprague dawley* model neuropati optik traumatika lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan dan menganalisis ekspresi BDNF pada tikus *Sprague dawley* model neuropati optik traumatika yang diberikan quercetin oral dibandingkan kelompok kontrol.

2. Membuktikan dan menganalisis densitas sel ganglion retina pada tikus *Sprague dawley* model neuropati optik traumatika yang diberikan quercetin oral dibandingkan kelompok kontrol.
3. Membuktikan dan menganalisis hubungan antara ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina tikus *Sprague dawley* model neuropati optik traumatika.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan

Memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian quercetin oral terhadap ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina tikus *Sprague dawley* model neuropati optik traumatika.

1.4.2 Manfaat Bagi Klinisi

Memberikan informasi ilmiah mengenai manfaat pemberian quercetin oral terhadap ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina sebagai terapi neuropati optik traumatika.

1.4.3 Manfaat Bagi Penelitian Selanjutnya

Sebagai landasan ilmiah pengembangan dan pemanfaatan quercetin oral untuk manusia di bidang Ilmu Kesehatan Mata.

1.5 Orisinalitas Penelitian

Tabel 1. Penelitian sebelumnya yang berhubungan dengan penelitian ini

No	Peneliti, Judul, Tahun terbit	Desain dan Subjek penelitian	Hasil penelitian
1	Rahvar M, <i>et al. Effect of Quercetin on The Brain-Derived</i>	Studi eksperimental pada tikus <i>Sprague</i>	Quercetin dosis 20 dan 50 mg/kg

	<i>Neurotrophic Factor Gen Expression in The Rat Brain.</i> 2018	<i>dawley</i> yang terbagi menjadi lima kelompok, yaitu salin, Ethanol 10%, dan quercetin dosis 10mg/kg, 20mg/kg, dan 50mg/kg diberikan selama 7 hari.	secara signifikan meningkatkan mRNA BDNF.
2	Yao, RQ, <i>et al.</i> <i>Quercetin Attenuates Cell Apoptosis in Focal Cerebral Ischemia Rat Brain via Activation of BDNF-TrkB-PI3K/Akt Signalling Pathway.</i> 2012	Studi eksperimental menilai pengaruh quercetin terhadap ekspresi BDNF, TrkB, Akt dan derajat apoptosis tikus <i>Sprague dawley</i> model <i>focal cerebral ischemia</i>	Quercetin secara signifikan meningkatkan ekspresi BDNF, TrkB, p-Akt. Quercetin juga menurunkan ekspresi Caspase 3 dan derajat apoptosis.
3	Turedi S, <i>et al.</i> <i>A Morphological and Biochemical Evaluation of The Effect of Quercetin on Experimental Sciatic Nerve Damage In Rats.</i> 2017	Studi eksperimental pada tikus <i>Sprague dawley</i> model <i>optic nerve crush</i> mengenai efek pemberian quercetin oral dosis	Pemberian quercetin berpengaruh terhadap regenerasi <i>axon bundle</i> , mielinisasi serabut saraf,

		200 mg/kg selama 7 hari dan 28 hari dengan parameter <i>histomorphometric</i> berupa jumlah serabut saraf yang termieliniasi, ketebalan lapisan mielin, diameter saraf optik, dan derajat apoptosis dengan TUNEL assay level ekspresi Malondialdehyde (MDA), serum catalase (CAT), serum superoxide dismutase (SOD) dan glutathione (GSH).	diameter serabut saraf, menurunkan <i>apoptosis index</i> , menurunkan kadar MDA, meningkatkan kadar SOD, dan meningkatkan serum CAT.
4	Feng L, et al. <i>Overexpression of Brain-Derived Neurotrophic Factor Protects Large Retinal Ganglion Cells After Optic Nerve Crush in Mice</i> . 2017	Studi eksperimental pada tikus model <i>Cre-recombinase transgenic system</i> (untuk meningkatkan BDNF pada retina	Upregulasi BDNF meningkatkan ketahanan sel ganglion retina dan memperpanjang ketahanan sel

		tikus) terhadap ketahanan sel ganglion retina setelah <i>optic nerve crush</i> .	ganglion retina terutama subgroup SM-32-positif.
5	Harada <i>et al. TrkB Signaling in Retinal Glia Stimulates Neuroprotection After Optic Nerve Injury</i> . 2016	Studi eksperimental pada tikus strain <i>glial fibrillary acidic protein (GFAP)-Cre+</i> (<i>TrkB^{GFAP}</i>) <i>knockout</i> (KO) model cedera saraf optik terhadap jumlah sel ganglion retina pada SD-OCT.	Sinyal BDNF-TrkB berperan penting dalam proteksi sel ganglion retina neuropati optik traumatik. Degenerasi sel ganglion retina pada tikus <i>TrkB^{GFAP}</i> KO lebih berat dibandingkan dengan kontrol.
6	Arikan S, <i>et al. Quercetin Protects the Retina by reducing apoptosis due to ischemia-reperfusion injury rat model</i> . 2015	Studi eksperimental tikus Wistar Albino model cedera iskemi-reperfusi yang diberikan terapi quercetin 20mg/kg intraperitoneal dan menilai ketebalan	Pemberian quercetin mencegah penipisan lapisan retina. Terdapat penurunan signifikan level caspase 3 dan TUNEL pada

		lapisan retina serta derajat apoptosis sel ganglion retina.	kelompok yang mendapat terapi quercetin.
7	Migallon <i>et al. Apoptotic Retinal Ganglion Cell Death After Optic Nerve Transection or Crush In Mice: Delayed RGC Loss With BDNF or a Caspase 3 Inhibitor.</i> 2015	Studi eksperimental efek injeksi BDNF intravitreal dan injeksi Z-DEVD-fmk (caspase 3 inhibitor) intravitreal terhadap sel ganglion retina pada tikus Swiss albino model cedera saraf optik	Injeksi BDNF intravitreal dan injeksi Z-DEVD-fmk (caspase 3 inhibitor) intravitreal meningkatkan ketahanan sel ganglion retina setelah cedera saraf optik.
8	Gao F, <i>et al. Quercetin Declines Apoptosis, Ameliorates Mitochondrial Function and Improves Retinal Ganglion Cell Survival and Function in In Vivo Model of glaucoma in Rat and Retinal Ganglion Cell Culture In Vitro.</i> 2017	Studi eksperimental mengenai efek injeksi quercetin intravitreal terhadap sel ganglion retina pada tikus Wistar dan <i>Sprague dawley</i> model okular hipertensi kronik in vivo dan model hipoksia in vitro	Quercetin meningkatkan derajat ketahanan sel ganglion retina melalui peningkatan fungsi mitokondria dan mencegah <i>mitochondrial-mediated apoptosis.</i>

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah pada variabel antara dan variabel terikat yang diperiksa. Penelitian ini merupakan studi eksperimental dimana akan dilakukan pengamatan dan analisis ekspresi BDNF melalui pemeriksaan imunohistokimia dan densitas sel ganglion retina melalui pemeriksaan histopatologi. Penelitian dilakukan pada jaringan sel ganglion retina tikus *Sprague dawley* model neuropati optik traumatika dengan dan tanpa pemberian quercetin oral dosis 200 mg/kg/hari selama 14 hari.