

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Glaukoma merupakan neuropati optik progresif yang ditandai oleh degenerasi sel ganglion retina dan mengakibatkan perubahan pada nervus optikus serta hilangnya penglihatan yang ireversibel. Glaukoma merupakan penyebab utama kebutaan permanen.¹ Penyebab kebutaan terbanyak adalah katarak (34,47%), diikuti oleh gangguan refraksi yang tidak terkoreksi (20,26%), dan glaukoma (8,30%). Glaukoma dianggap sebagai salah satu penyebab kebutaan secara global setelah katarak, tetapi tidak seperti katarak, glaukoma menyebabkan kerusakan yang ireversibel dan permanen. Berdasarkan *Rapid Assesment of Avoidable Blindness* (RAAB) 2016, glaukoma menjadi penyebab kebutaan kelima terbanyak di Indonesia sebesar 2.5% dari angka kebutaan di Indonesia.² *World Health Association* (WHO) memperkirakan angka kejadian glaukoma pada kelompok umur 40-80 tahun akan meningkat menjadi 76 juta jiwa pada tahun 2020 dan 111.8 juta jiwa pada tahun 2040.³

Glaukoma terjadi akibat kematian *retinal ganglion cell* (RGC), jaringan dendritik lapisan plexiform dalam, dan akson pada lapisan serabut saraf.¹ Hilangnya sel ganglion berhubungan dengan tingkat tekanan intraokular, tetapi faktor lain mungkin juga berperan. Tekanan intraokular (TIO) dan faktor seluler yang berhubungan dengan stres oksidatif dan iskemik dipercaya mengambil peran penting dalam kerusakan RGC.⁵ *Optic neuropathy* pada glaukoma ditandai dengan kematian sel ganglion retina yang progresif. Kerusakan glaukomatosa menetap pada hampir 50% pasien, walaupun tekanan intraokuler sudah diturunkan sampai dengan tekanan normal. Kerusakan RGC bukan hanya disebabkan oleh peningkatan TIO namun faktor seluler yang berhubungan dengan stres oksidatif dan iskemik dipercaya mengambil peran penting dalam kerusakan RGC. Studi terbaru menunjukkan bahwa penurunan TIO tidak selalu mencegah hilangnya RGC dan neuropati optik. Progresifitas dapat berlanjut meskipun terjadi penurunan TIO secara efektif.⁴ Sebuah penelitian di *Mayo Clinic* menunjukkan bahwa pasien glaukoma yang sudah dilakukan terapi tetap memiliki risiko kebutaan unilateral sebesar 27% dan 9% kebutaan bilateral

dalam 20 tahun.⁵ Studi lain dari *Early Manifest Glaucoma Trial* (EMGT) menunjukkan pada kasus glaukoma ringan-sedang yang baru didiagnosis dan dilakukan intervensi penurunan TIO sebesar 25% tetap terlihat adanya progresifitas sebesar 45% dalam 5 tahun.⁶

Penggunaan obat terapi pendamping pada glaucoma digunakan lebih kepada intervensi yang tidak berhubungan dengan TIO untuk mencegah atau menghambat neurodegenerasi glaukomatosa. Meskipun peningkatan tekanan intraokular merupakan faktor risiko terpenting untuk glaukoma, pada sebagian pasien progresifitas perburukan berlanjut meskipun TIO normal, menunjukkan bahwa faktor yang tidak tergantung TIO juga mempengaruhi perkembangan glaukoma.⁵ Glaukoma menginduksi perubahan struktural permanen pada saraf optik yang mengakibatkan perubahan fungsional permanen, penurunan ketajaman visual, dan kehilangan penglihatan.

Glaukoma mempengaruhi kompleks sel ganglion di semua komponennya yaitu badan sel, dendrit, dan akson dimana dendrit menjadi bagian yang pertama rusak. *Ganglion Cell complex* (GCC) didefinisikan sebagai tiga lapisan retina terdalam: *the nerve fiber layer*, *the ganglion cell layer*, dan *the inner plexiform layer*. Inilah alasan mengapa ketebalan *ganglion cell layer* dan *the inner plexiform layer* (GC-IPL) dapat diperhitungkan sebagai prediktor awal perubahan glaukoma.⁴ Beberapa mekanisme yang diduga bertanggung jawab atas kematian RGC, diantaranya apoptosis, inflamasi, dan eksitotoksisitas. Hilangnya faktor neurotropik, peningkatan konsentrasi asam amino eksitatori, seperti glutamat dan stres oksidatif dapat berkontribusi pada apoptosis RGC. Hilangnya *retinal ganglion cell* dan *inner plexiform layer* (IPL) sangat berkorelasi dengan hilangnya lapang pandang secara keseluruhan sehingga *retinal ganglion cell* dan *inner plexiform layer* merupakan target potensial untuk mengevaluasi perkembangan glaukoma pada pasien.⁶

Stres oksidatif, yaitu kondisi ketidakseimbangan produksi *reactive oxygen species* dengan sistem pertahanan antioksidan, merupakan faktor risiko penting glaukoma. Radikal bebas menyebabkan kerusakan retina dan menimbulkan glaukoma tanpa peningkatan TIO yang prevalensinya cukup tinggi di negara-negara Asia.⁷ Stres oksidatif juga secara langsung menyebabkan kematian RGC pada pasien glaukoma sehingga molekul antioksidan memiliki efek pelindung saraf pada glaukoma.⁸

Eksitotoksisitas yang dimediasi oleh *N-metil-D-aspartate* (NMDA) merupakan jalur umum untuk neuropati glaukoma dan oleh karena itu dapat dianggap sebagai salah satu target strategi neuroprotektif, khususnya NMDA telah dianggap sebagai agen potensial yang berfungsi sebagai instrumen untuk mempelajari kematian RGC terkait eksitotoksisitas.⁹ Eksitotoksisitas yang ditimbulkan NMDA menggambarkan pathogenesis neuropati glaukoma. *N-methyl-D-aspartate* telah diketahui mampu menyebabkan stress oksidatif seluler melalui reseptor NMDA dan menyebabkan peningkatan kalsium dalam sel. Injeksi intravitreal NMDA menyebabkan aktivasi kaspase-3, kerusakan *deoxyribonucleic acid* (DNA), perubahan struktural, apoptosis RGC yang terdeteksi pada pemeriksaan *immunostaining*, dan merusak sel ganglion retina sehingga mengalami penipisan sel dan pengurangan jumlah sel.¹⁰

Studi Nakazawam dkk menunjukkan pada dosis yang lebih rendah, injeksi NMDA intravitreal akut dapat merusak GCL dan IPL, tanpa efek pada lapisan retinal lainnya. Pemeriksaan mikroskopis menunjukkan penipisan pada *inner plexiform layer retina* dan *ganglion cell layer* serta berkurangnya jumlah nukleus dalam GCL terjadi pada semua kelompok yang diinjeksi NMDA dibandingkan dengan kelompok kontrol. Jumlah nukleus per 100 μm GCL dalam kelompok NMDA 160 nmol menurun signifikan sebanyak 1,89 kali lipat dibandingkan dengan kelompok kontrol serta menunjukkan jumlah sel apoptosis yang secara signifikan 3,37 kali lipat lebih tinggi daripada kelompok kontrol.^{9,10}

Terapi pendamping glaukoma terutama neuroprotektif semakin berkembang dan menjanjikan untuk kedepannya sebagai terapi penunjang, serta kelebihan terutama dalam hal toksisitas dan komplikasi sistemik yang relatif rendah saat dikonsumsi. Oleh karena itu menjadi suatu keharusan untuk mengembangkan pengobatan untuk pencegahan dan perlindungan yang berkaitan dengan penyakit neurodegeneratif. Polifenol alami (termasuk flavonoid, fenolat, vitamin, dan sebagainya) telah ditemukan berkhasiat dalam beberapa manfaat kesehatan bagi manusia. Aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi dari fitokimia ini telah diperkuat dengan baik dalam beberapa penelitian.¹¹ Pemberian terapi pendamping ini dapat menunda atau menghentikan perkembangan kehilangan RGC yang diperlukan untuk mencegah kehilangan penglihatan. Di antara molekul antioksidan, flavonoid merupakan sumber pengobatan yang menjanjikan. Flavonoid adalah sekelompok

senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan yang ditemukan di banyak buah dan sayuran, dan telah dilaporkan memberikan berbagai manfaat fisiologis. Hesperidin adalah glikosida flavanon yang ditemukan pada buah citrus dengan potensi antioksidan yang kuat.¹⁵ Penelitian terbaru melaporkan bahwa hesperidin terkenal karena kekuatan efek pelindung sarafnya dan memiliki efek anti-apoptosis, anti-oksidatif, dan anti-inflamasi.¹⁷

Hasil penelitian Shi X dkk (2012) mengenai Hesperidin menunjukkan pengaruh pemberian hesperidin oral pada tikus diabetik. Pemberian Hesperidin secara signifikan menekan kerusakan BRB (*Blood retinal barrier*) dan meningkatkan ketebalan retina, mengurangi glukosa darah, aktivitas AR dan kadar TNF- α , ICAM-1, VEGF, IL-1 β dan AGEs retina. Data ini menunjukkan bahwa hesperidin mengurangi kerusakan retina dan plasma melalui efek anti-angiogenik, anti-inflamasi dan antioksidan, serta efek penghambatan pada jalur poliol dan akumulasi AGEs.¹⁶

Maekawa dkk (2017) menemukan bahwa injeksi intravitreal dari hesperidin mencegah kematian RGC yang diinduksi oleh eksitotoksitas dan meningkatkan fungsi visual elektrofisiologis dan perilaku tikus setelah pemberian NMDA. Investigasi rinci dari efek pengobatan hesperidin menunjukkan bahwa ia menekan efek stres oksidatif baik in vitro dan in vivo, sementara penyelidikan mekanisme yang mendasari menunjukkan bahwa hesperidin menekan aktivasi berlebihan calpain di retina yang diberi NMDA dan mengurangi peningkatan regulasi TNF- α , sitokin inflamasi.⁷

Usaha memahami faktor-faktor yang mempengaruhi kerentanan retina terhadap faktor risiko glaukoma membutuhkan hewan uji yang sesuai. Sebagai model glaukoma, tikus lebih unggul daripada hewan lain yang pernah digunakan dalam penelitian.¹³ Penilaian terhadap terapi neuroprotektif, tikus lebih relevan karena lebih mudah digunakan untuk memeriksa *survival* RGC. Tikus juga telah umum digunakan sebagai hewan model untuk menguji kondisi eksitotoksik pada saraf mata. Selain itu, tikus lebih mudah dipelihara di dalam laboratorium, lebih murah, cepat bereproduksi dan cepat mencapai usia dewasa.¹⁴

Penelitian yang mengkaji efek pencegahan dan perlindungan terhadap neurotoksisitas, efek antioksidatif serta antiinflamasi hesperidin oral masih terbatas khususnya pada bidang glaukoma. Penelitian mengenai ketebalan *ganglion cell* dan *inner plexiform layer* (GC-IPL) ini juga masih terbatas sehingga informasi efek pemberian

hesperidin oral pada GC-IPL juga masih terbatas. Oleh sebab itu, rancangan penelitian ini diajukan untuk menguji potensi hesperidin oral terhadap glaukoma akibat kerusakan RGC pada tikus model glaukoma. Penelitian ini diharapkan dapat menganalisis pemberian Hesperidin oral dalam mempengaruhi ketebalan *ganglion cell* dan *inner plexiform layer* (GC-IPL) pada tikus wistar model glaukoma yang diinduksi NMDA.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah ketebalan GC-IPL pada tikus wistar model glaukoma yang diinduksi NMDA dengan pemberian Hesperidin oral lebih tebal dibandingkan dengan kontrol?

I.3 Tujuan Penelitian

I.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan ketebalan GC-IPL pada tikus wistar model glaukoma yang diinduksi NMDA dengan pemberian Hesperidin oral lebih tebal dibandingkan dengan kontrol.

I.3.2 Tujuan Khusus

1. Memperoleh dan mengukur ketebalan GC-IPL tikus Wistar model glaukoma yang diinduksi NMDA dan tidak diberikan Hesperidin oral.
2. Memperoleh dan mengukur ketebalan GC-IPL tikus Wistar model glaukoma yang diinduksi NMDA dan diberikan Hesperidin oral.
3. Membandingkan dan menganalisis ketebalan GC-IPL tikus Wistar model glaukoma yang diinduksi NMDA yang diberikan Hesperidin dan tidak diberikan Hesperidin oral.

I.4 Manfaat Penelitian

I.4.1 Manfaat bagi Ilmu Pengetahuan dan Penelitian

1. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan data ilmiah mengenai pengaruh pemberian Hesperidin oral terhadap ketebalan GC-IPL tikus Wistar model glaukoma dengan induksi NMDA.
2. Memberikan landasan ilmiah untuk penelitian selanjutnya tentang

pengembangan dan pemanfaatan Hesperidin untuk manusia di bidang Ilmu Kesehatan Mata.

I.4.2 Manfaat bagi Klinisi

Memberikan informasi ilmiah mengenai manfaat pemberian Hesperidin oral terhadap sel ganglion retina sebagai pendamping obat anti glaukoma.

I.4.3 Manfaat bagi Masyarakat

Memberikan informasi mengenai potensi pemberian Hesperidin oral terhadap kesehatan saraf mata sehingga dapat digunakan secara luas pada penyakit mata.

I.5 Orisinalitas Penelitian

Upaya penelusuran pustaka telah dilakukan penulis dan tidak dijumpai adanya penelitian atau publikasi sebelumnya yang dapat menjawab permasalahan penelitian.

Tabel 1.1. Penelitian sebelumnya yang berhubungan dengan penelitian ini

No	Peneliti, Judul Penelitian, Tahun	Desain dan Subjek Penelitian	Hasil Penelitian
1.	Shi X, <i>et al.</i> <i>Hesperidin prevents retinal and plasma abnormalities in streptozotocin-induced diabetic rats.</i> Biomed Research International. 2012.	Studi Eksperimental pada tikus wistar model diabetik (induksi STZ) mengamati ketebalan retina secara histologi setelah pemberian hesperidin oral 100 dan 200mg/kg	Hesperidin oral mencegah hilangnya ketebalan retina pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin. ¹⁶
2.	Visnagri A, <i>et al.</i> <i>Hesperidin, a flavanoglycone attenuates experimental diabetic neuropathy via modulation of cellular and biochemical marker to improve nerve functions.</i> Pharmaceutical Biology Journal. 2014.	Studi Eksperimental pada tikus Sprague Dawley model diabetik (induksi STZ), mengamati parameter biochemical dan perubahan molekular setelah pemberian hesperidin oral 25,50, dan 100mg/kg.	Hesperidin, memberikan efek neuroprotective melalui kontrol atas hiperglikemia serta hiperlipidemia dan dengan demikian menurunkan pembentukan radikal bebas, pelepasan sitokin (TNF-a dan IL-1b) serta peningkatan enzim yang terikat membran untuk memperbaiki allodynia dan hyperalgesia. ¹⁵

3. Maekawa S, *et al.* *The neuroprotective effect of hesperidin in NMDA-induced retinal injury acts by suppressing oxidative stress and excessive calpain activation.* Scientific Reports Journal.2017.
- Studi Eksperimental pada *Mice model NMDA induced*, mengamati jumlah RGC dan ketebalan retina secara histologi serta *apoptotic activity factor* secara imunohistokimia setelah pemberian injeksi hesperidin.
- Pemberian injeksi hesperidin mencegah kematian RGC dan meningkatkan fungsi elektrofisiologi dan ketajaman visual pada model tikus dari eksitotoksisitas yang diinduksi NMDA.⁷
-

Penelitian ini akan menilai pengaruh pemberian hesperidin oral pada ketebalan GC-IPL pada tikus Wistar yang diinduksi NMDA. Penelitian ini merupakan suatu studi eksperimental, dimana akan meneliti dan mengukur ketebalan GC-IPL dengan dan tanpa pemberian hesperidin oral, serta membandingkan data ketebalan GC-IPL antara yang diberikan hesperidin oral dengan yang tidak pada tikus Wistar model galukoma yang diinduksi NMDA.

Penelitian yang mengkaji efek pencegahan dan perlindungan terhadap neurotoksisitas, efek antioksidatif serta antiinflamasi hesperidin oral masih terbatas khususnya pada bidang glaukoma. Oleh sebab itu rancangan penelitian ini diajukan untuk menguji potensi hesperidin terhadap glaukoma akibat kerusakan RGC pada tikus model glaukoma.

Penelitian ini menggunakan desain studi eksperimental dengan rancangan *post-test only randomized controlled group design*. Penelitian ini akan mengamati dan menganalisis pengaruh pemberian hesperidin oral pada ketebalan GC-IPL tikus Wistar yang diinduksi NMDA pada kelompok yang diberi hesperidin dengan dosis 100mg/kgBB dibandingkan dengan kelompok plasebo.