

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1. Latar Belakang

Glaukoma merupakan penyakit degeneratif optik neuropati dengan karakteristik kerusakan pada sel ganglion retina/*Retinal Ganglion Cell* (RGC) dan aksonnya yang bersifat progresif.<sup>1</sup> Hilangnya RGC menyebabkan hilangnya fungsi penglihatan secara bertahap sehingga glaukoma menjadi salah satu penyebab utama kebutaan permanen di dunia.<sup>2</sup> Salah satu faktor risiko terjadinya glaukoma yang telah banyak dipahami adalah tingginya tekanan intraokular/TIO, namun terdapat berbagai mekanisme lain terkait dengan degenerasi RGC sehingga berlanjut pada kerusakan dan kematian sel ganglion retina.<sup>2,3</sup>

Mekanisme utama kebutaan pada glaukoma adalah terjadinya apoptosis RGC yang menyebabkan penipisan lapisan *Inner Nuclear* dan *Retinal Nerve Fiber Layer* (RNFL) serta hilangnya akson pada nervus optikus.<sup>4</sup> Pada glaukoma, RGC mengalami apoptosis tergantung pada mekanisme yang mendasari yaitu aktivasi glia, stress oksidatif, eksitoksisitas glutamat, iskemik dan penurunan neurotropin.<sup>5</sup> Apoptosis terjadi melalui 2 jalur yaitu jalur ekstrinsik dan intrinsik. Jalur ekstrinsik terjadi melalui *death receptors* dan jalur intrinsik melalui mitokondria.<sup>2</sup> Pada kondisi normal, sel mikroglia adalah sel imunokompeten yang berperan sebagai mekanisme pertahanan pertama saat terjadi trauma/kerusakan pada sistem saraf pusat yaitu otak dan retina. Mikroglia merespons kerusakan saraf melalui aktivasi dengan mengubah morfologinya, berproliferasi, bermigrasi ke area yang mengalami trauma, dan memproduksi sitokin pro inflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- $\alpha$ ) dan Interleukin 1 *Beta* (IL-1 $\beta$ ) melalui aktivasi jalur *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activate lymphocytes B* (NF- $\kappa$ B). Produksi sitokin pro inflamasi menyebabkan peningkatan respon imun bawaan dan

adaptif sehingga memperberat kerusakan neuronal pada glaukoma. Peradangan kronis yang terjadi akan berlanjut dan memiliki efek neurotoksik sehingga menyebabkan kematian neuron. Sitokin-sitokin ini terlibat dalam apoptosis RGC melalui jalur ekstrinsik yang akan memperburuk proses neurodegeneratif.<sup>6,7</sup> Apoptosis pada jalur ekstrinsik melibatkan pengikatan TNF- $\alpha$  ke reseptor membran (TNFRs) sehingga menyebabkan aktivasi Caspase-8 yang berlanjut pada aktivasi Caspase-3.<sup>2,4</sup>

Tekanan intraokular yang tinggi, selain memicu produksi sitokin pro inflamasi (TNF- $\alpha$ ) juga menurunkan perfusi okular sehingga terjadi gangguan metabolisme energi seluler dan akumulasi radikal bebas (*Reactive oxygen species*/ROS dan *Reactive nitrogen species*/RNS). Pada retina normal, radikal bebas yang dihasilkan selama proses metabolisme akan dinetralisir oleh antioksidan.<sup>5</sup> Pada mata glaukoma, radikal bebas dihasilkan secara berlebihan akibat adanya penurunan perfusi okular dan proses inflamasi (TNF- $\alpha$ ) karena aktivasi kronik pada mikroglia.<sup>5,8</sup> Peningkatan jumlah radikal bebas tersebut melebihi kemampuan sistem antioksidan sehingga terjadi stres oksidatif yang merusak lipid, protein dan DNA sel yang pada akhirnya menyebabkan terjadinya apoptosis sel.<sup>5</sup> Stres oksidatif dapat menyebabkan kematian sel melalui jalur intrinsik yaitu dengan pelepasan *cytochrome c* mitokondria yang diinduksi oleh stres membuat kompleks dengan *apoptotic protease-activating factor-1* (Apaf-1) dan procaspase-9 yang menyebabkan aktivasi Caspase-9.<sup>2,4</sup> Kedua jalur bertemu pada aktivasi Caspase-3 yang menghasilkan degradasi nukleus, perubahan morfologi seluler dan berlanjut pada degenerasi nervus optikus.<sup>2,4</sup> Pada mata tikus model glaukoma, didapatkan peningkatan Caspase-3, 8, dan 9.<sup>2</sup> Studi Kim melaporkan bahwa peningkatan TIO secara kronis akan menginduksi aktivasi Caspase-3 dan 8.<sup>9</sup> Hal tersebut juga didapatkan pada studi Jianzhong mengenai peningkatan Caspase-3 pada mata tikus dengan TIO yang meningkat.<sup>10</sup>

*World Health Organization* (WHO) memperkirakan selama 100 tahun terakhir, pengembangan dan produksi massal obat-obatan yang disintesis secara kimia telah menimbulkan revolusi kesehatan di sebagian besar dunia.

Namun, sebagian besar penduduk di negara berkembang masih mengandalkan praktisi tradisional dan obat-obatan herbal untuk perawatan primer mereka. Di Afrika 90% dan di India 70% penduduk bergantung pada pengobatan tradisional untuk membantu memenuhi kebutuhan kesehatan mereka. Di Cina, pengobatan tradisional menyumbang sekitar 40% dari seluruh perawatan kesehatan yang diberikan dan lebih dari 90% rumah sakit umum di Cina memiliki unit untuk pengobatan tradisional. Alasan paling umum untuk menggunakan obat tradisional adalah karena lebih sesuai dengan ideologi pasien, menghilangkan kekhawatiran tentang efek samping obat kimia, dan lebih mudah didapatkan.<sup>11</sup>

Salah satu pengobatan tradisional yang banyak dibudidayakan di Asia adalah *Moringa oleifera* (MO) atau tanaman kelor. *Moringa oleifera* banyak ditemukan di daerah tropis dan sub tropis serta hampir setiap bagiannya mengandung nutrisi yang bermanfaat dan memiliki sifat farmakologis.<sup>12</sup> Bagian tanaman yang paling banyak dimanfaatkan adalah daun MO yang kaya akan berbagai vitamin, karotenoid, polifenol, asam fenolat, *flavonoid*, alkaloid, glukosinolat, *isothiocyanate*, tanin dan saponin. Daun MO sebagian besar digunakan untuk tujuan pengobatan dan asupan nutrisi karena kaya akan antioksidan dan nutrisi lain, yang biasanya kurang pada orang yang tinggal di negara berkembang.<sup>13</sup> MO memiliki efek antioksidan dengan mengaktifkan sinyal *Nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2) yang akan menyebabkan peningkatan produksi enzim antioksidan sehingga dapat menetralkan radikal bebas.<sup>14,15</sup> Selain itu, daun MO memiliki berbagai khasiat medis seperti anti inflamasi, hepatoprotektif, anti *ulcer*, anti kanker, anti hiperglikemik dan anti bakteri.<sup>12,16,17</sup> Efek anti inflamasi MO terjadi karena kandungan *flavonoid* yang dapat mencegah degradasi *NF-κB inhibitor alpha* (IKB-α) dan menekan aktivasi *NF-κB* sehingga produksi sitokin pro inflamasi seperti *TNF-α*, *IL-6*, *IL-1β* berkurang.<sup>12,16,18</sup> Daun MO telah digunakan dalam berbagai penelitian *in vivo* pada berbagai organ dan tidak menunjukkan efek samping.<sup>12,16,17</sup>

Daun MO telah dilaporkan sebagai anti inflamasi karena dapat menghambat produksi *Nitric Oxide* (NO) dan sitokin pro-inflamasi yang diinduksi Lipopolisakarida (LPS). Penelitian oleh Wadee dkk (2018) menunjukkan bahwa *Moringa oleifera* dapat menurunkan aktivitas TNF- $\alpha$  dan IL-1, serta meningkatkan IL-2 pada tikus yang diinduksi diabetes dengan preparat *Streptozotocin* (STZ-induced diabetic rats).<sup>19</sup> Pada penelitian yang dilakukan oleh Tan dkk (2015) didapatkan bahwa *Moringa oleifera* dapat menurunkan sekresi dan ekspresi TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , NF- $\kappa$ B, NO, *Prostaglandin E2* (PGE<sub>2</sub>), *Inducible NO Synthase* (iNOS), dan *Cyclooxygenase-2* (COX-2).<sup>20</sup> Pada penelitian oleh Amjiaya dkk (2013) yang dilakukan di Universitas Brawijaya didapatkan bahwa pemberian ekstrak air daun kelor (*Moringa oleifera*) dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  tikus dengan diet aterogenik secara signifikan dan dapat mengurangi kerusakan sel endotel arteri koronaria.<sup>21</sup>

Hasil studi Jannah mendapatkan bahwa ekstrak daun MO dapat meningkatkan ekspresi anti apoptosis *B-cell lymphoma 2* (Bcl-2) dan menurunkan ekspresi senyawa pro apoptosis *Bcl-2 Associated X-protein* (Bax) pada sel tubulus ginjal tikus Wistar yang diinduksi parasetamol sehingga apoptosis sel ginjal dapat ditekan.<sup>22</sup> Pada penelitian lain juga didapatkan bahwa MO dapat menekan jumlah apoptosis sel granulosa mencit model endometriosis, apoptosis sel hepar tikus dengan model Diabetes melitus dan menekan ekspresi Caspase-3 jaringan hepar pada tikus model sindrom metabolik.<sup>23-25</sup> Menurut Igado, MO juga memiliki efek neuroprotektif yaitu menurunkan kerusakan seluler, meningkatkan tingkat diferensiasi neuron, memperbanyak percabangan neuron sehingga memodulasi perkembangan akson dan sinaptogenesis.<sup>26</sup>

Penelitian Fathy (2021) membuktikan bahwa pemberian MO oral dengan dosis 400 mg/kgBB dapat mencegah peningkatan TNF- $\alpha$  dan memiliki efek anti apoptosis dengan menurunkan ekspresi Caspase-3 jaringan hipokampus dan korteks serebri pada tikus model ensefalopati hepatikum.<sup>27</sup> Pada studi Kirisattayakul (2013), pemberian MO oral dengan dosis 100, 200

dan 400 mg/kgBB selama 3 minggu memiliki efek neuroprotektif pada tikus model stroke iskemik. Efek protektif optimum didapatkan pada dosis 400 mg/kgBB di mana MO bekerja sebagai anti inflamasi dan antioksidan.<sup>28</sup> Hal serupa juga dibuktikan pada studi Mahaman (2018) dimana MO oral dengan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB dapat mencegah dan melindungi kerusakan neuron akibat stres oksidatif serta memperbaiki neurodegenerasi tikus model Alzheimer terutama pada pemberian MO dosis 400mg/kgBB.<sup>29</sup> Pada penelitian oleh Pristiwati (2020), telah dilakukan analisa pengaruh MO oral terhadap ekspresi TNF- $\alpha$  pada RGC tikus model glaukoma dengan dosis pemberian MO oral 300mg/kgBB namun tidak didapatkan perbedaan signifikan pada ekspresi TNF- $\alpha$  antara kelompok kontrol dan perlakuan.<sup>30</sup>

Ekstrak daun *Moringa oleifera* telah terbukti di beberapa penelitian memiliki efek anti inflamasi, antioksidan dan anti apoptosis pada berbagai organ.<sup>12,13,16,17</sup> Hal ini menimbulkan pertanyaan apakah obat herbal ini memiliki efek yang baik dalam menekan inflamasi dan apoptosis pada RGC hewan coba model glaukoma. Diharapkan inflamasi dan apoptosis pada RGC dapat ditekan sehingga progresifitasnya dapat diperlambat serta kerusakan jaringannya dapat berkurang. Maka ekstrak daun *Moringa oleifera* dapat dipertimbangkan untuk menjadi terapi alternatif dalam mengontrol inflamasi dan mengurangi kerusakan RGC pada glaukoma.

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian yang telah dilakukan oleh Pristiwati (2020). Pada penelitian tersebut tidak didapatkan perbedaan yang signifikan pada ekspresi TNF- $\alpha$  antara kelompok kontrol dan perlakuan, maka penelitian lanjutan ini akan menggunakan dosis yang berbeda yaitu 400mg/kgBB. Berdasarkan referensi, dosis tersebut merupakan dosis optimal pada jaringan lain tikus Wistar. Pada penelitian ini juga akan diamati efek lain MO pada jaringan retina karena pada jaringan lainnya MO telah terbukti memiliki berbagai efek seperti anti inflamasi, antioksidan dan neuroprotektor. Oleh karena itu, pada penelitian ini juga menilai ekspresi Caspase-3 sebagai indikator apoptosis suatu jaringan, dimana Caspase-3

merupakan caspase *executioner* dan berada paling akhir dari jalur apoptosis intrinsik dan ekstrinsik.

## **I.2. Rumusan Masalah**

### **I.2.1. Rumusan Masalah Umum**

Apakah aktivitas apoptosis sel ganglion retina pada tikus Wistar model glaukoma yang diberi ekstrak daun *Moringa Oleifera* oral lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol?

### **I.2.2. Rumusan Masalah Khusus**

1. Apakah ekspresi TNF- $\alpha$  pada sel ganglion retina tikus Wistar model glaukoma yang diberi ekstrak daun *Moringa Oleifera* oral lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol?
2. Apakah ekspresi Caspase-3 pada sel ganglion retina tikus Wistar model glaukoma yang diberi ekstrak daun *Moringa Oleifera* oral lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol?
3. Apakah terdapat korelasi antara ekspresi TNF- $\alpha$  dan Caspase-3 pada Tikus Wistar model Glaukoma yang diberi *Moringa Oleifera* oral?

## **I.3. Tujuan Penelitian**

### **I.3.1. Tujuan Umum**

Membuktikan aktivitas apoptosis sel ganglion retina pada tikus Wistar model glaukoma yang diberi ekstrak daun *Moringa Oleifera* oral lebih rendah daripada kontrol

### **I.3.2. Tujuan Khusus**

Tujuan khusus pada penelitian ini sebagai berikut :

1. Membuktikan ekspresi TNF- $\alpha$  pada sel ganglion retina tikus Wistar model glaukoma yang diberi ekstrak daun *Moringa Oleifera* oral lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol

2. Membuktikan ekspresi Caspase-3 pada sel ganglion retina tikus Wistar model glaukoma yang diberi ekstrak daun *Moringa Oleifera* oral lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol
3. Membuktikan bahwa terdapat korelasi antara ekspresi TNF- $\alpha$  dan Caspase-3 pada Tikus Wistar model Glaukoma yang diberi *Moringa Oleifera* oral

#### **I.4. Manfaat Penelitian**

##### **I.4.1. Manfaat untuk Ilmu Pengetahuan**

1. Memberikan informasi mengenai pengaruh ekstrak daun *Moringa Oleifera* oral terhadap ekspresi TNF- $\alpha$  pada sel ganglion retina pada tikus Wistar model glaukoma.
2. Memberikan informasi mengenai pengaruh ekstrak daun *Moringa Oleifera* oral terhadap ekspresi Caspase-3 pada sel ganglion retina pada tikus Wistar model glaukoma.

##### **I.4.2. Manfaat bagi Klinisi**

Hasil penelitian ilmiah ini diharapkan dapat :

1. Memberikan dasar ilmiah mengenai potensi ekstrak daun *Moringa Oleifera* oral terhadap penekanan ekspresi TNF- $\alpha$  pada sel ganglion retina
2. Memberikan dasar ilmiah mengenai potensi ekstrak daun *Moringa Oleifera* oral terhadap penekanan ekspresi Caspase-3 pada sel ganglion retina
3. Melengkapi data terkait potensi anti inflamasi ekstrak daun *Moringa Oleifera* pada kondisi inflamasi intraokular dan potensi anti apoptosis pada kondisi glaukoma.
4. Sebagai pertimbangan pemberian ekstrak *Moringa Oleifera* sebagai terapi *adjuvant* pada kondisi inflamasi (dalam penelitian ini dalam kondisi glaukoma).

### I.4.3. Manfaat bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat tentang potensi anti inflamasi dan anti apoptosis ekstrak daun *Moringa Oleifera* oral apabila digunakan secara luas untuk penyakit glaukoma.

### I.5. Orisinalitas Penelitian

Telah dilakukan upaya penelusuran pustaka namun tidak dijumpai adanya penelitian atau publikasi sebelumnya yang telah menjawab permasalahan penelitian.

Tabel 1.1 Penelitian Sebelumnya yang Berhubungan dengan Penelitian Ini

No.	Peneliti, Judul, Desain Penelitian	Hasil Penelitian	Persamaan/Perbedaan
1.	Samah M. Fathy, 2021 <i>Protective effect of Moringa oleifera Lam. leaf extract against carbon tetrachloride-induced neuroinflammation in a mouse model of hepatic encephalopathy</i>	Pemberian ekstrak daun <i>Moringa oleifera</i> oral dengan dosis 400 mg/kgBB menurunkan kadar TNF- $\alpha$ dan menurunkan ekspresi Caspase-3 pada hipokampus dan korteks serebri tikus model ensefalopati hepatikum	Penelitian ini melihat pengaruh pemberian ekstrak daun MO dosis 400mg/kgBB terhadap ekspresi TNF- $\alpha$ dan Caspase-3 pada sel ganglion retina tikus Wistar model glaukoma.
2.	Novika P, 2020 Pengaruh Ekstrak Daun <i>Moringa oleifera</i> Oral Terhadap Ekspresi TNF- $\alpha$ Pada Retina Tikus Wistar Model Glaukoma	Pemberian ekstrak daun <i>Moringa oleifera</i> oral dengan dosis 300mg/KgBB dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$ pada retina Tikus	Penelitian ini melihat pengaruh pemberian ekstrak daun MO dosis 400mg/kgBB terhadap ekspresi TNF- $\alpha$ dan Caspase-3 pada sel

		Wistar model glaukoma ganglion retina tikus namun tidak bermakna	Wistar model glaukoma.
3.	Dinabestika R, 2019	Pemberian ekstrak <i>Moringa oleifera</i> Lam. Terhadap Jaringan Hepar Tikus Putih ( <i>Rattus Norvegicus</i> ) Model Sindrom Metabolik dengan induksi STZ-NA dan Diet Tinggi Lemak	Pada penelitian ini akan melihat pengaruh pemberian ekstrak daun MO terhadap ekspresi TNF- $\alpha$ dan Caspase-3 pada sel ganglion retina tikus Wistar model glaukoma.
4.	Lestari YD, 2018	Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kelor ( <i>Moringa Oleifera</i> Lam.) Terhadap Apoptosis Sel Granulosa Pada Mencit ( <i>Mus Musculus</i> ) Model Endometriosis	Pemberian ekstrak daun kelor dapat menekan jumlah apoptosis sel granulosa pada mencit model endometriosis. Penelitian ini menggunakan tikus Wistar model Glaukoma dan menganalisa ekspresi TNF- $\alpha$ dan Caspase-3 pada sel ganglion retina tikus Wistar tersebut.
5.	Suresh Kumar, dkk. 2013	<i>Retinoprotective Effects of Moringa oleifera Via Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Anti-Angiogenic Mechanisms</i>	Pemberian MO menekan TNF- $\alpha$ dan IL-1 $\beta$ pada retina Wistar yang diinduksi Streptozotocin. Pada penelitian ini akan melihat pengaruh pemberian ekstrak daun MO terhadap ekspresi TNF- $\alpha$ dan Caspase-3 pada sel ganglion retina

	<i>in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats</i>	MO bermanfaat dalam mencegah disfungsi retina akibat diabetes.	tikus Wistar model glaukoma.
6.	Amijaya, 2013  Efek Ekstrak Air Daun Kelor Terhadap Kadar TNF- $\alpha$ dan Gambaran Histopatologi Sel Endotel Arteri Coronaria Pada Tikus Putih yang Diberi Diet Aterogenik	Pemberian ekstrak air daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ) dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$ tikus dengan diet aterogenik secara signifikan.	Penelitian ini menggunakan tikus Wistar model Glaukoma dan menganalisa ekspresi TNF- $\alpha$ dan Caspase-3 pada sel ganglion retina tikus Wistar tersebut.

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah pada dosis ekstrak daun *Moringa oleifera* yang digunakan, variabel antara, variabel akhir penelitian dan jaringan yang diperiksa. Penelitian ini merupakan studi eksperimental dimana akan dilakukan pengamatan dan analisis ekspresi TNF- $\alpha$  dan Caspase-3 melalui pemeriksaan imunohistokimia. Penelitian dilakukan pada jaringan sel ganglion retina tikus Wistar model glaukoma dengan dan tanpa pemberian ekstrak daun *Moringa oleifera* oral dosis 400mg/kgBB/24jam selama 4 minggu.