

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Glaukoma adalah penyakit neurodegeneratif yang ditandai dengan hilangnya *retinal ganglion cell* (RGC) yang progresif, perubahan karakteristik *optic nerve head* (ONH), dan defek lapang pandang yang sering dihubungkan dengan peningkatan tekanan intraokular.<sup>1,2</sup> Glaukoma merupakan penyakit sosial; prevalensinya diyakini terus bertambah, dan sekitar 80 juta pasien glaukoma diprediksi pada tahun 2020 dan 112 juta pada tahun 2040.<sup>3,4</sup> Lebih dari 7 juta orang di seluruh dunia mengalami kebutaan karena glaukoma, dan prevalensi kebutaan bilateral yang disebabkan oleh glaukoma bervariasi dari 6 hingga 16% di negara-negara barat.<sup>5</sup>

Berbagai stimulus termasuk stres mekanik kronis yang disebabkan oleh peningkatan tekanan intraokular (TIO), hipoksia/iskemia, dan stres oksidatif, ditambah dengan kekurangan faktor neurotropik dapat menyebabkan disfungsi dan kematian RGC.<sup>6</sup> Peningkatan stres selama periode yang berkepanjangan dan kumulatif dapat menyebabkan kegagalan dalam regulasi respon imun protektif lokal yang dimediasi oleh sel glial dan sistem komplemen yang mengarah ke proses degeneratif neuroinflamasi yang berkontribusi pada perkembangan penyakit.<sup>7</sup> Ada juga bukti yang berkembang bahwa hilangnya sistem kekebalan dan perlindungan saraf oleh sel glial di lapisan RGC dan/atau retina lapisan pleksiform menyebabkan neurodegenerasi.<sup>8</sup>

Caspase merupakan keluarga protease sistein aspartat, memiliki peran dalam pemangkasan saraf selama proses pengembangan, menginduksi kematian RGC (melalui apoptosis dan piroptosis) setelah trauma dan penyakit, dan mempromosikan regenerasi akson RGC. Caspase dapat dibagi menjadi dua subfamili filogenik mayor, yaitu *interleukin (IL)-1 $\beta$ -converting enzyme* (inflamasi) dan salinan mamalia dari caspase-3 (apoptosis).<sup>9,10</sup> Caspase adalah komponen utama dari kaskade pensinyalan apoptosis dan juga berperan dalam non-

apoptosis lainnya, termasuk inflamasi.<sup>11,12</sup> Piroptosis adalah bentuk kematian sel terprogram yang telah diidentifikasi dalam dekade terakhir. Piroptosis sangat penting untuk pertahanan imun bawaan yang terjadi pada makrofag dan sel lain. Berbeda dengan apoptosis, piroptosis dikaitkan dengan peradangan. Beberapa karakteristik piroptosis adalah pembengkakan sel, dan pelepasan IL-1 $\beta$  dan IL-18 dari pori-pori gasdermin di membran. Pada piroptosis, jalur yang bergantung caspase-1 ini disebut jalur inflamasi kanonik, dan jalur yang bergantung pada caspase-4/5/11 digambarkan sebagai jalur nonkanonik. IL-1 $\beta$  dan IL-18 termasuk ke dalam jalur yang bergantung caspase-1.<sup>13</sup>

Peningkatan TIO akut yang berat menginduksi cedera *ischemia/reperfusion* (I/R). Caspase apoptosis -3, -8 dan -9 dibelah di RGC setelah periode peningkatan TIO dan caspase inflamasi -1, -4 dan -12 juga diregulasi. Akibat peningkatan TIO akut, inflamasi NLRP3 dan produksi IL-1 $\beta$  diinduksi, dimediasi melalui *high-mobility group box-1* (HMGB1) melalui jalur NF- $\kappa$ B. HMGB1 mempromosikan elevasi NLRP3 dan ASC yang mengarah ke pematangan caspase-1. Caspase-8 bertindak di hulu jalur NF- $\kappa$ B HMGB1-caspase-8 dan menginduksi aktivasi produksi NLRP3 dan IL-1 $\beta$ . Aktivasi *Toll-like receptor 4* (TLR4) meningkatkan ekspresi makrofag caspase-8 yang meningkatkan pembentukan IL-1 $\beta$  jalur NF- $\kappa$ B dan menyebabkan kematian RGC melalui jalur ekstrinsik.<sup>8</sup>

Penelitian Wooff, *et al* mendapatkan adanya peningkatan kadar gen IL-1 $\beta$  dalam darah dan ekspresi protein IL-1 $\beta$  dalam akuos humor secara signifikan dibanding dengan kontrol, namun pada air mata dari pasien *Primary Open Angle Glaucoma* (POAG) tidak signifikan berbeda dari kontrol. mRNA IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  ditemukan meningkat pada *trabecular meshwork* di mata glaukoma dibandingkan dengan kontrol, bertindak sebagai *feedback* untuk mengontrol *endothelial leukocyte adhesion molecule 1* (ELAM-1), penanda awal plak aterosklerotik yang terbentuk pada glaukoma. Selanjutnya, pengobatan dengan IL-1Ra, antagonis IL-1R, menurunkan regulasi ekspresi ELAM-1. Studi-studi ini menunjukkan bahwa IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  mungkin terlibat dalam patologi glaukoma. IL-1 $\beta$  berperan pada tahap pertama dari reaksi inflamasi dan bertanggung jawab dalam induksi ekspresi sitokin lain seperti IL-6 dan IL-8.<sup>11</sup> Akan tetapi, pemeriksaan akuos humor membutuhkan volume sampel yang sangat sedikit (biasanya 50 – 150  $\mu$ l) dan volume ini tidak bisa

diperiksa dengan *enzyme-linked immunosorbent assay* tradisional. Pemeriksaan sitokin dengan menggunakan volume sampel akuos yang kecil hanya bisa menggunakan *multiple bead immunoassays* dan keberadaan alat ini belum tersedia di beberapa tempat. Çomaklı, *et al* pada penelitiannya menggunakan tikus model neuroinflamasi pada mata yang diinduksi dengan *glufosinat* mendapatkan peningkatan faktor inflamasi IL-1 $\beta$  dan faktor apoptosis c-Fos bersamaan dengan meningkatnya TIO.<sup>12</sup>

Pengobatan glaukoma berfokus pada penurunan TIO dengan tujuan menunda perburukan penyakit dan memperlambat atau mencegah perkembangan hipertensi okular menjadi glaukoma. Pada pasien yang baru didiagnosis dengan glaukoma biasanya diresepkan agen hipotensi okular topikal dalam upaya untuk mengontrol TIO. Glaukoma dapat diobati dengan obat-obatan topikal maupun oral, terapi laser, dan pembedahan. Zhou, *et al* membandingkan obat-obat antiglaukoma yang sering digunakan yaitu latanoprost, timolol,  $\beta$ -blockers lainnya, *Carbonic anhydrase inhibitors*, miotik, dan simpatomimetik didapatkan *failure rates* yang terendah 13% (latanoprost) dan yang tertinggi 45% (simpatomimetik). Kontrol TIO tidak selalu dapat mencegah kematian RGC; dengan demikian, mekanisme lain seperti neuroinflamasi mungkin terlibat dalam kerusakan glaukoma yang progresif.<sup>14</sup>

*Moringa oleifera* (MO) (*Family–Moringaceae*, juga dikenal sebagai *drumstick* atau *horseradish tree* atau Kelor) dibudidayakan secara luas di Asia dan Afrika. Hampir setiap bagian MO memberikan nutrisi yang bermanfaat dan sifat farmakologis.<sup>15</sup> Secara khusus, Daun MO telah dilaporkan menjadi sumber yang kaya b-karoten, protein, mineral, dan flavanoid (zeatin, rutin, quercetin, beta-sitosterol, asam caffeoylquinic, dan kaempferol).<sup>16,17</sup> Berdasarkan literatur ilmiah, MO telah ditemukan memiliki sifat hipoglikemik, anti-inflamasi, antioksidan, dan hipolipidemik. Bioaktif dari ekstrak daun MO, secara signifikan menghambat ekspresi iNOS, IL-1 $\beta$ , NO, dan TNF- $\beta$ . Daun MO telah digunakan dalam berbagai penelitian *in vivo* dan tidak menunjukkan efek samping.<sup>18</sup> Dari penelitian Suryani disimpulkan bahwa ekstrak methanol MO dosis 5  $\mu$ g/ml, 15  $\mu$ g/ml, dan dosis 25  $\mu$ g/ml menunjukkan efek atau pengaruh terhadap kadar MDA pada kultur sel trabekular glaukoma kongenital primer, dimana semakin tinggi dosis yang

diberikan akan semakin menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA) pada kultur sel trabekular tersebut. Penelitian Al Kahfi didapatkan ekstrak air MO dapat menurunkan kadar IL-1 $\beta$  dan dapat mengurangi derajat kerusakan pada gambaran histopatologi pulau Langerhans pankreas tikus Wistar yang diberikan diet aterogenik selama 8 minggu.<sup>19</sup>

Belum ada penelitian tentang efek ekstrak daun MO terhadap ekspresi IL-1 $\beta$  (piroptosis) di retina, penelitian sebelumnya membuktikan efek ekstrak daun MO terhadap ekspresi TNF- $\alpha$  (apoptosis) di retina dan *trabecular meshwork*. Piroptosis merupakan kombinasi antara apoptosis dan nekrosis karena secara mekanismenya mengikuti apoptosis sampai ke fase kematiannya, namun ketika sel mati, ia mengeluarkan konten inflamasi, sama seperti nekrosis sehingga dapat memicu inflamasi ke sel dan jaringan sekitarnya. Oleh sebab itu penting untuk meneliti ekspresi IL-1 $\beta$  (piroptosis) di retina tikus Wistar model glaukoma karena efeknya yang lebih berat dibanding apoptosis. Pada penelitian ini akan digunakan hewan coba tikus Wistar model glaukoma untuk memicu terjadinya inflamasi dan mengetahui efek ekstrak daun MO terhadap ekspresi IL-1 $\beta$  di retina. Penurunan mediator inflamasi IL-1 $\beta$  pada keadaan tekanan intraokuler yang tinggi diharapkan dapat mencegah penipisan dari *ganglion cell – inner plexiform layer*.

## **1.2. Rumusan Masalah**

### **1.2.1. Rumusan Masalah Umum**

Apakah terdapat efek ekstrak daun *Moringa oleifera* oral terhadap ekspresi IL-1 $\beta$  dan ketebalan *ganglion cell – inner plexiform layer* retina tikus Wistar model glaukoma?

### **1.2.2. Rumusan Masalah Khusus**

1. Apakah ekspresi IL-1 $\beta$  sel ganglion retina tikus Wistar model glaukoma yang diberikan ekstrak daun *Moringa oleifera* oral lebih rendah dibanding kontrol?
2. Apakah lapisan *ganglion cell – inner plexiform layer* retina tikus Wistar model glaukoma yang diberikan ekstrak daun *Moringa oleifera* lebih tebal dibanding kontrol?

3. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi IL-1 $\beta$  dengan ketebalan *ganglion cell – inner plexiform layer* retina tikus Wistar model glaukoma yang diberikan ekstrak daun *Moringa oleifera*?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

Membuktikan terdapat efek ekstrak daun *Moringa oleifera* oral terhadap ketebalan *ganglion cell – inner plexiform layer* dan ekspresi IL-1 $\beta$  retina tikus Wistar model glaukoma

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Membuktikan ekspresi IL-1 $\beta$  sel ganglion retina tikus Wistar model glaukoma yang diberikan ekstrak daun *Moringa oleifera* oral lebih rendah dibanding kontrol
2. Membuktikan lapisan *ganglion cell – inner plexiform layer* retina tikus Wistar model glaukoma yang diberikan ekstrak daun *Moringa oleifera* lebih tebal dibanding kontrol
3. Membuktikan terdapat hubungan antara ekspresi IL-1 $\beta$  dengan ketebalan *ganglion cell – inner plexiform layer* tikus Wistar model glaukoma yang diberikan ekstrak daun *Moringa oleifera*

### **1.4. Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1. Manfaat untuk Ilmu Pengetahuan**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efek ekstrak daun *Moringa oleifera* oral terhadap ketebalan *ganglion cell – inner plexiform layer* retina Tikus Wistar model glaukoma.

#### **1.4.2. Manfaat untuk Klinisi**

Memberikan informasi ilmiah mengenai potensi ekstrak daun *Moringa oleifera* oral terkait dengan penurunan ekspresi IL-1 $\beta$  (piroptosis) sel ganglion retina tikus Wistar model glaukoma dan menjadi bahan pertimbangan untuk menjadikan *Moringa oleifera* oral sebagai pendamping

obat anti inflamasi saat ini.

### 1.4.3. Manfaat untuk Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai potensi penggunaan ekstrak daun *Moringa oleifera* oral apabila sudah diujicobakan di tingkat manusia untuk digunakan secara luas pada penyakit mata.

### 1.5. Orisinalitas Penelitian

Terdapat berbagai penelitian yang telah dilakukan terkait manfaat ekstrak daun *Moringa oleifera* di bidang kesehatan, namun penelitian terkait efek penggunaannya di bidang ilmu kesehatan mata masih belum banyak dilakukan. Pada tabel di bawah ini akan dijelaskan berbagai penelitian terdahulu yang telah dilakukan.

Tabel 1. Penelitian sebelumnya yang berhubungan dengan penelitian ini

No.	Peneliti, Judul Penelitian, Nama Jurnal, Tahun Terbit	Desain Penelitian	Hasil Penelitian
1.	Kirisattayakul, <i>et al.</i> <i>Cerebroprotective Effect of Moringa oleifera against Focal Ischemic Stroke Induced by Middle Cerebral Artery Occlusion.</i> Hindawi. 2013. <sup>21</sup>	Studi eksperimental pada tikus model <i>focal ischemic stroke</i> , membuktikan efek neuroprotektif ekstrak <i>Moringa oleifera</i> dengan dosis 100, 200, dan 400 mg/kgBB selama 3 minggu terhadap kerusakan otak dan stres oksidatif pada tikus model <i>focal ischemic stroke</i> .	Ekstrak daun MO menghasilkan perubahan optimal dari enzim antioksidan seperti <i>superoxide dismutase</i> (SOD) dan <i>catalase</i> (CAT) pada tikus yang diberikan ekstrak daun MO dengan dosis 400mg/kgBB
2.	Joshua, <i>et al.</i> <i>Exploring Moringa Oleifera Usefulness In Ameliorating Induced Retinopathy In Experimental Animals.</i> IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS). 2017. <sup>22</sup>	Studi eksperimental pada tikus model retinopati, mempelajari efek pengobatan oral dari ekstrak etanol <i>Moringa oleifera</i> Iodate pada tikus Wistar yang diinduksi retinopati dengan <i>Sodium Iodate</i> .	Penelitian pada retina hewan coba yang diberikan sodium iodate untuk menginduksi retinopati diberikan ekstrak MO dan dibandingkan dengan kelompok kontrol,

		didapatkan hasil bahwa kandungan antioksidan pada MO dapat memperlambat tingkat keparahan retinopati.
3.	Çomaklı <i>et al.</i> <i>Acute glufosinate-based herbicide treatment in rats leads to increased ocular interleukin-1<math>\beta</math> and c-Fos protein levels, as well as intraocular pressure.</i> Toxicology Reports. 2019. <sup>17</sup>	Studi eksperimental pada tikus model neuroinflamasi, menyelidiki apakah herbisida <i>glufosinate</i> bertindak merangsang jalur IL1- $\beta$ dan c-Fos dalam model toksisitas pestisida akut di saraf optik tikus dan untuk menentukan apakah mediator ini memodulasi TIO.

Perbedaan penelitian yang akan dilakukan dengan penelitian sebelumnya adalah penelitian ini secara spesifik akan menilai secara langsung peran ekstrak daun *Moringa oleifera* terhadap ekspresi IL-1 $\beta$  dan ketebalan GC-IPL tikus Wistar model glaukoma, dimana pada penelitian sebelumnya belum ada yang menilai secara spesifik peran ekstrak daun *Moringa oleifera* terhadap ekspresi IL-1 $\beta$  dan indeks piroptosis *retinal ganglion cell* tikus Wistar model glaukoma. Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa MO dapat memperlambat tingkat keparahan retinopati dan memiliki efek neuroprotektif pada kerusakan otak. Penelitian ini akan menilai kemampuan antiinflamasi pada MO dengan menilai ekspresi IL-1 $\beta$  dan indeks piroptosis *retinal ganglion cell* tikus Wistar model glaukoma. Pada penelitian sebelumnya menggunakan tikus model neuroinflamasi yang diinduksi herbisida *glufosinate* didapatkan peningkatan dari IL-1 $\beta$  pada saraf optik. Pada penelitian ini menggunakan tikus Wistar model glaukoma yang diinduksi dengan Kauterisasi vena episklera kemudian diperiksa ekspresi IL-1 $\beta$  dan ketebalan *ganglion cell – inner plexiform layer*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dimana akan diamati dan dianalisis ekspresi IL-1 $\beta$  melalui pemeriksaan imunohistokimia dan ketebalan *ganglion cell – inner plexiform layer* melalui pewarnaan HE pada

jaringan retina tikus Wistar model glaukoma dengan dan tanpa pemberian ekstrak daun *Moringa oleifera* oral dosis 400mg/kgBB/hari selama 4 minggu.