



**PENGARUH *ASIATIC ACID* ORAL TERHADAP
INDEKS APOPTOSIS SEL *TRABECULAR MESHWORK*
(Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar Model Glaukoma)**

LAPORAN PENELITIAN TESIS

**Diajukan sebagai salah satu persyaratan dalam menempuh
Program Pendidikan Dokter Spesialis - I Ophthalmology**

Handayan Hutabarat

22040617310007

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS OPHTHALMOLOGY
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2022

**LEMBAR PENGESAHAN
LAPORAN PENELITIAN TESIS**

**“PENGARUH *ASIATIC ACID* ORAL TERHADAP
INDEKS APOPTOSIS SEL *TRABECULAR MESHWORK*
(Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar Model Glaukoma)”**

Disusun Oleh:
Handayan Hutabarat
22040617310007

Telah dibacakan dan disetujui
Semarang, 17 Mei 2022

Pembimbing I,

Pembimbing II,

dr. Maharani Cahyono, Sp.M(K)
NIP. 197907142008122001

dr. Arief Wildan, MSi.Med, Sp.M(K)
NIP. 197304302006041002

Penguji I,

Penguji II,

Prof. Dr. dr. Winarto, DMM, Sp.MK, Sp.M(K)
NIP. 194906171978021001

dr. Andhika Guna Dharma, Sp.M(K)
NIP. 198407312019011001

Ketua Bagian
Ophthalmology FK UNDIP,

Ketua Program Studi
Ophthalmology FK UNDIP,

dr. Maharani Cahyono, Sp.M(K)
NIP. 197907142008122001

dr. Arief Wildan, MSi.Med, Sp.M(K)
NIP. 197304302006041002

HALAMAN PERNYATAAN

Yang bertanda-tangan di bawah ini,

Nama : Handayan Hutabarat
NIM : 22040617310007
Alamat : Jl. Kintelan Baru No. 68A Semarang
Program Studi : Program Pendidikan Dokter Spesialis-I, Departemen
Ophthalmology, Fakultas Kedokteran Universitas
Diponegoro
Judul Penelitian : Pengaruh *Asiatic Acid* Oral Terhadap Indeks Apoptosis Sel
Trabecular Meshwork (Studi Eksperimental Pada Tikus
Wistar Model Glaukoma)

Dengan ini menyatakan bahwa,

- a) Penelitian saya ini adalah asli dan belum pernah dipublikasi atau diajukan untuk mendapatkan gelar akademik di Universitas Diponegoro maupun di perguruan tinggi lain.
- b) Penelitian ini adalah murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan orang lain, kecuali pembimbing dan pihak lain sepengetahuan pembimbing
- c) Dalam penelitian ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan judul buku aslinya serta dicantumkan dalam daftar pustaka.

Semarang, April 2022

Yang membuat pernyataan,

Handayan Hutabarat

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas karunia dan berkat-Nya, sehingga laporan penelitian dengan judul “Pengaruh *Asiatic Acid* Oral Terhadap Indeks Apoptosis Sel *Trabecular Meshwork* (Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar Model Glaukoma)” dapat diselesaikan guna memenuhi persyaratan dalam memperoleh keahlian di bidang Ophthalmology, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Penulis menyadari bahwa laporan penelitian ini dapat diselesaikan berkat bantuan berbagai pihak, terutama bimbingan para guru, dorongan dan semangat dari keluarga dan rekan-rekan penulis. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

1. Rektor Universitas Diponegoro Semarang, Prof. Dr. Yos Johan Utama, SH, M.Hum beserta jajarannya yang telah memberikan izin bagi penulis untuk menempuh PPDS I Ophthalmology Fakultas Kedokteran Semarang.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro periode tahun 2015-2019: Prof. Dr. dr Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro tahun 2020: Dr. dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes, Sp.S(K) beserta jajarannya yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti PPDS I Ophthalmology Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
3. Direktur Utama Rumah Sakit Pusat dr. Kariadi Semarang, dr Agus Suryanto, Sp.PD-KP, MARS periode tahun 2017-2020 dan Direktur Utama Rumah Sakit Umum Pusat dr. Kariadi Semarang periode tahun 2021-sekarang : drg. Farichah Hanum, M.Kes beserta jajarannya yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti PPDS I Ophthalmology di RSUP dr. Kariadi Semarang.
4. Kepala KSM Ophthalmology RSUP dr. Kariadi Semarang periode tahun 2015-2019: dr. Sri Inakawati, MSi.Med, Sp.M(K) dan Kepala KSM Ophthalmology RSUP dr. Kariadi Semarang periode tahun 2020-sekarang :

- dr. Afrisal Hari Kurniawan, Sp.M(K) dan selaku dosen wali II atas bimbingan, arahan, dan motivasi selama masa pendidikan.
5. dr. Arief Wildan, Msi. Med, Sp.M(K), selaku Ketua Program Studi PPDS I Ophthalmology Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang tahun 2017-sekarang dan selaku pembimbing II penelitian ini, atas bimbingan, arahan, dan doa selama masa pendidikan dan pelaksanaan penelitian.
 6. dr. Maharani Cahyono, Sp.M(K), selaku Ketua Bagian Program Studi PPDS I Ophthalmology Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang dan selaku pembimbing utama penelitian ini, atas bimbingan, arahan, motivasi, semangat, dan doa selama masa pendidikan dan pelaksanaan penelitian.
 7. Prof. Dr. dr. Winarto, DMM, Sp.M(K) selaku penguji I penelitian, atas bimbingan, arahan, motivasi, dan doa selama masa pendidikan dan pelaksanaan penelitian.
 8. dr. Andhika Guna Dharma, Sp.M(K) selaku penguji II penelitian, atas bimbingan, arahan, motivasi, semangat dan doa selama masa pendidikan dan pelaksanaan penelitian.
 9. Dr. dr. Trilaksana Nugroho, MKes. FISCAM, Sp.M(K) selaku dosen wali I atas bimbingan, arahan, motivasi, dan doa selama masa pendidikan dan pelaksanaan penelitian.
 10. Staf pengajar bagian Ophthalmology Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro: dr. Sri Inakawati, MSi.Med Sp.M(K); Dr. dr. Fifin Luthfia Rahmi, MS, Sp.M(K); dr. A. Kentar Arimadyo Sulakso, MSi.Med Sp.M(K); dr. Fatimah Dyah Nur Astuti, MARS Sp.M(K); dr. Liana Ekowati, MSi.Med, Sp.M(K); dr. Dina Novita, Sp.M(K), dr. Riski Prihatningtias, Sp.M(K); dr. Wisnu Sadasih, Sp.M(K); dr. A.Rizal Fanany, Sp.M(K); dr. Arnita Novitasari Saubig, Sp.M(K); dr. Satya Hutama Pragnanda, Sp.M(K); dr. Raja Erinda Simargolang, Sp.M; dan dr. Denti Puspasari, Sp.M yang telah berperan besar dalam memberikan ilmu, keterampilan, keteladanan, bimbingan, dan arahan selama penulis menempuh pendidikan.

11. Staf pengajar di rumah sakit jejaring: dr. Y. Priyo Triyono, Sp.M dan dr. Sigit Arihandoko, Sp.M yang telah memberikan ilmu, keterampilan, dan keteladanan selama penulis menjalani proses pendidikan di RSUD dr. R. Soetrasno Rembang.
12. dr. Novan Adi Setiawan, Sp.PA, selaku dokter spesialis Patologi Anatomi di Laboratorium Patologi Anatomi FK Universitas Negeri Surakarta Sebelas Maret (UNS) beserta staf, yang telah membantu dalam proses pembuatan dan pembacaan preparat.
13. dr. Hermawan Istiadi, M.Si, Med, Sp.PA, selaku dokter spesialis Patologi Anatomi di Laboratorium Patologi Anatomi FK Universitas Diponegoro Semarang, yang telah membantu proses pembuatan dan pembacaan preparat.
14. Staf Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES) yang telah menyediakan tempat untuk pemeliharaan hewan coba, dan membantu penulis dalam melakukan perawatan dan pemeliharaan hewan coba dan membantu penulis dalam melakukan perawatan dan pemeliharaan hewan coba selama proses pelaksanaan penelitian.
15. Teman sejawat PPDS-I Ophthalmology angkatan Juli 2017 (Angkatan 68): Angkatan Srikandi terkasih, dr.Dea Prita Caesarita, dr.Marisa Rachim, dr.Lady Pranodia Sukmawidowati, dr.Adelia Bayu Isfandiari, dr.Riskha Pangestika, dr.Farah Maulida, dr.Dyah Mustika Kurniatri, dan dr.Disti Hardianti, atas segala persahabatan, kerjasama, semangat, bantuan, dan dorongan moral selama proses pendidikan.
16. Rekan-rekan sejawat residen PPDS-I Ophthalmology Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, baik senior maupun junior yang telah memberikan semangat dan dukungan moral selama masa pendidikan.
17. Staf medis dan paramedis, Bapak Andi, Ibu Intan, Ibu Andien, Ibu Djumronah, Bapak Yani. Bapak Eko, Ibu Dwi, Ibu Yuli, Ibu Nur, Ibu Hera, Ibu Maret, Ibu Ainun, dan lain-lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu di Bagian Ophthalmology Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, atas bantuan dan kerjasamanya selama menjadi residen.

18. Staf administrasi Ophthalmology Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro: Bapak Sugeng Riyadi, Saudara Sem Jumbana, Ibu Eko, Saudari Hana, Saudari Lia, Saudari Rahma atas kerjasama dan dukungan.
19. Perawat dan paramedik RSUD dr. R. Soetrasno Rembang (Bapak Praniti, Bapak Sudianto), RS Nasional Diponegoro, dan Puskesmas Gunung Pati atas bantuan dan kerjasama.
20. Kedua orang tua, Bapak Alm. Ir. Marhinsa Yohanes Hutabarat, BE dan Ibu St. Megawati Silaen, SH, MKn, yang penuh kasih sayang dan pengorbanan luar biasa telah memberikan doa, dorongan, semangat, dan motivasi yang tidak berkesudahan kepada penulis.
21. Suami penulis, Adolf Silvanus Panggabean Manurung, ST dan anak penulis Adriel Simon Maruli Manurung yang penuh kasih sayang dan pengorbanan luar biasa telah memberikan doa, dorongan, semangat, dan doa yang tidak berkesudahan kepada penulis. Saudari Siti Arifah yang juga turut berperan besar dalam membantu dan mendoakan penulis selama masa pendidikan.
22. Saudara-saudari penulis, Cory Hutabarat, SE, Mieke Irene Hutabarat, SH, MKn, Wismoyo Hutabarat, ST, dan Utama Hutabarat, ST yang penuh kasih selalu mendoakan dan memberikan semangat kepada penulis.
23. Mertua penulis, Alm. Pdt. Lumbanraja Manurung, STh dan Ibu Surungan Sitorus yang ikut mendukung dan mendoakan penulis selama pendidikan.
24. Pasien-pasien yang penulis temui dan rawat selama menempuh pendidikan spesialis. Kerelaan dan kepercayaan yang diberikan kepada penulis telah menjadikan anda sebagai guru dan pengalaman paling berharga.
25. Segenap pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah berjasa dan berperan serta hingga terselesaikannya pendidikan dan penelitian.

Penulis menyadari bahwa penelitian dan laporan penelitian ini tidak sempurna, sehingga penulis dengan senang hati menerima saran dan kritik demi

perbaikan dan kemajuan bersama. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat untuk ilmu pengetahuan dan kesehatan di bidang mata. Kiranya Tuhan YME melimpahkan berkat-Nya yang berlipat ganda kepada kita semua. Amin.

Semarang, April 2022

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
HALAMAN PERNYATAAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
ABSTRAK	xiii
BAB I	PENDAHULUAN	1
I.1	Latar Belakang	1
I.2	Rumusan Masalah	6
I.3	Tujuan Penelitian	7
I.3.1	Tujuan Umum	7
I.3.2	Tujuan Khusus	7
I.4	Manfaat Penelitian	7
I.4.1	Manfaat bagi Ilmu Pengetahuan dan Penelitian	7
I.4.2	Manfaat bagi Klinisi	8
I.4.3	Manfaat bagi Masyarakat	8
I.5	Orisinalitas Penelitian	8
BAB II	TINJAUAN PUSTAKA	11
II.1	<i>Trabecular Meshwork</i>	11
II.1.1	Anatomi <i>Trabecular Meshwork</i>	11
II.1.2	Fisiologi <i>Trabecular Meshwork</i>	13
II.2	Glaukoma	15
II.2.1	Dinamika <i>Aqueous Humor</i>	15
II.2.2	Kerusakan <i>Trabecular Meshwork</i> pada Glaukoma	16
II.3	Apoptosis	19
II.3.1	Definisi Apoptosis	19

II.3.2	Mekanisme Apoptosis	20
II.4	Stress Oksidatif, Apoptosis Sel <i>Trabecular Meshwork</i> , dan Glaukoma	23
II.5	Antioksidan	26
II.5.1	Mekanisme Antioksidan pada <i>Trabecular Meshwork</i>	26
II.5.2	<i>Asiatic Acid</i>	27
II.5.2.1	Farmakodinamik <i>Asiatic Acid</i>	28
II.5.2.2	Farmakokinetik <i>Asiatic Acid</i>	28
II.5.2.3	<i>Asiatic Acid</i> pada <i>Retina Ganglion Cell</i>	30
II.5.2.4	Toksistas dan Keamanan <i>Asiatic Acid</i>	31
II.6	Hewan Coba	32
II.6.1	Model Hewan Coba Glaukoma	32
II.6.2	Konversi Umur dan Dosis Hewan Coba	34
BAB III	KERANGKA PENELITIAN	37
III.1	Kerangka Teori	37
III.2	Kerangka Konsep	38
III.3	Hipotesis	38
BAB IV	METODE PENELITIAN	39
IV.1	Rancangan dan Ruang Lingkup Penelitian	39
IV.2	Tempat dan Waktu Penelitian	39
IV.3	Populasi dan Sampel Penelitian	39
IV.3.1	Populasi Penelitian	39
IV.3.2	Sampel Penelitian	39
IV.3.2.1	Cara Pemilihan Sampel	39
IV.3.2.2	Besar Sampel	42
IV.4	Variabel Penelitian	42
IV.4.1	Variabel Bebas	42
IV.4.2	Variabel Terikat	42

IV.5	Definisi Operasional	43
IV.6	Alat dan Bahan	45
IV.6.1	Alat	45
IV.6.2	Bahan	45
IV.7	Cara Kerja	46
IV.8	Analisis Data	48
IV.9	Etika Penelitian	48
IV.10	Alur Penelitian	49
BAB V	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	50
V.1	Hasil Penelitian	50
V.2	Pembahasan	52
BAB VI	SIMPULAN DAN SARAN	59
VI.1	Simpulan	59
VI.2	Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	65

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Penelitian Sebelumnya yang Berhubungan dengan Penelitian ini	8
Tabel 2.	Hubungan Umur Manusia dengan Tikus berdasarkan Fase Kehidupan	34
Tabel 3.	Konversi Dosis Hewan Coba berdasarkan <i>Human Equivalent Dose</i> (HED) dan BSA	36
Tabel 4.	Defenisi Operasional	43
Tabel 5.	Uji ICC Pembacaan Ekspresi Apoptosis Sel <i>Trabecular Meshwork</i> pada Tikus Wistar	51
Tabel 6.	Uji Normalitas Shapiro-Wilk Caspase-3	52
Tabel 7.	Hasil <i>Independent T-test</i> Caspase-3	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Anatomi <i>Trabecular Meshwork</i>	12
Gambar 2.	Aliran Humor Akuos	16
Gambar 3.	Proses apoptosis	19
Gambar 4.	Aktivasi <i>Caspase-3</i> melalui jalur apoptosis intrinsik dan ekstrinsik	21
Gambar 5.	Skema proses radikal bebas, apoptosis, dan kerusakan <i>Trabecular Meshwork</i>	23
Gambar 6.	Apoptosis dan Glaukoma	25
Gambar 7.	<i>Centella asiatica</i> dan Struktur Molekul <i>Asiatic acid</i>	27
Gambar 8.	Oklusi dari Vena Episklera Tikus Wistar dengan Kauterisasi	33
Gambar 9.	Rumus Konversi Dosis berdasarkan BSA	35
Gambar 10.	Kerangka Teori	37
Gambar 11.	Kerangka Konsep	38
Gambar 12.	Skema Rancangan Penelitian	39
Gambar 13.	Alur Penelitian	49
Gambar 14.	Pengecatan IHC <i>Caspase-3</i> Sel <i>Trabecular Meshwork</i> pada kelompok yang tidak diberi <i>Asiatid acid</i> oral	54
Gambar 15.	Pengecatan IHC <i>Caspase-3</i> Sel <i>Trabecular Meshwork</i> pada kelompok yang diberi <i>Asiatid acid</i> oral	55

ABSTRAK

Pendahuluan : Glaukoma merupakan penyebab kebutaan kedua terbanyak di seluruh dunia. Peningkatan atau fluktuasi tekanan intraokular (TIO) merupakan faktor risiko utama progresivitas glaukoma, yang menyebabkan terjadinya peningkatan stres oksidatif sehingga memicu apoptosis sel *trabecular meshwork* (TM). *Asiatic acid* (AA) efektif sebagai antioksidan dan toleran terhadap pencegahan apoptosis dengan meningkatkan antiapoptosis dan menurunkan proapoptosis (Caspase-3). Studi ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh AA oral terhadap indeks apoptosis sel TM tikus Wistar model glaukoma.

Metode : Penelitian eksperimental dengan *post-test only randomized controlled group design* ini dilakukan selama bulan September 2021 – Februari 2022. Empat belas tikus Wistar model glaukoma yang memenuhi kriteria dibagi menjadi dua kelompok. Kelompok perlakuan diberi AA oral dosis 30mg/kgBB setiap 24 jam selama 2 minggu. Pemeriksaan TIO dilakukan sebelum dan setelah intervensi, sedangkan pemeriksaan indeks apoptosis dilakukan setelah intervensi. Data dikumpulkan, diolah, dan dilakukan analisis data dengan uji beda.

Hasil : Indeks apoptosis didapatkan lebih rendah secara signifikan pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol. Rerata ekspresi Caspase-3 pada kelompok perlakuan adalah $3,57 \pm 0,70$, dan pada kelompok kontrol adalah $6,04 \pm 0,93$. Hasil uji beda ekspresi *Caspase-3* antara kelompok perlakuan dan kontrol dengan *Independent T-test* berbeda secara signifikan ($p < 0,001$).

Kesimpulan : *Asiatic acid* oral mempengaruhi indeks apoptosis sel *trabecular meshwork* tikus Wistar model glaukoma secara signifikan.

Kata kunci : Glaukoma, indeks apoptosis, *trabecular meshwork*, *Asiatic acid*

ABSTRACT

Introduction : Glaucoma is the second most common cause of blindness worldwide. Increased or fluctuation of intraocular pressure (IOP) is a major risk factor for glaucoma progression, as they causes an increase in oxidative stress that triggers apoptosis of trabecular meshwork (TM) cells. Asiatic acid (AA) is effective as an antioxidant and tolerant to the prevention of apoptosis by increasing antiapoptosis agent and decreasing proapoptosis agent (Caspase-3). This study aims to determine the effect of oral AA on the apoptotic index of TM cells of Wistar glaucoma model.

Method : An experimental study with post-test only randomized controlled group design was conducted during September 2021 – February 2022. Fourteen Wistar glaucoma models that met our study criteria were divided into 2 groups. The treatment group was given oral AA at a dose of 30mg/kgBW every 24 hours for 2 weeks. IOP examination was performed before and after intervention, and apoptotic index was examined after intervention. The data were collected, processed, and analyzed by using a different test.

Results : Apoptosis index was significantly lower in treatment groups compared to control group. The mean of Caspase-3 expression was 3.57 ± 0.70 in the treatment group, and 6.04 ± 0.93 in the control group. The results of the Caspase-3 expression difference test between the treatment and control groups were significantly different using the Independent T-test ($p < 0.001$).

Conclusion : Oral Asiatic acid significantly affected the apoptotic index of trabecular meshwork cells in Wistar glaucoma models.

Keywords : Glaucoma, apoptotic index, trabecular meshwork, *Asiatic acid*