

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Glaukoma merupakan penyebab kebutaan kedua terbanyak di seluruh dunia. Penyakit ini bersifat kronis yang dapat menyebabkan kebutaan permanen. Hal ini menjadi tantangan dalam penanganan dan pencegahan glaukoma. Angka kebutaan di Indonesia sebesar 1,5%, dimana 13,4% disebabkan oleh glaukoma. Data terakhir dari Riskedas 2007 menunjukkan prevalensi penderita glaukoma di Indonesia adalah 4,6 per 1000 penduduk. Pada tahun 2013, jumlah penderita glaukoma di dunia sekitar 64,3 juta, meningkat menjadi 76 juta pada tahun 2020 dan diperkirakan akan mencapai 118,8 juta pada tahun 2040. Jumlah penderita glaukoma ini diperkirakan akan meningkat sebanyak 16,0% menjadi 59,21 juta pada tahun 2020, dan meningkat 57,6% menjadi 80,87 juta pada tahun 2040.¹⁻⁵

Glaukoma memiliki karakteristik optik neuropati akibat kematian sel ganglion retina yang berhubungan dengan kelainan lapang pandang yang khas. Pada glaukoma, peningkatan TIO merupakan suatu faktor risiko utama. Peningkatan TIO disebabkan oleh ketidakseimbangan dinamika humor akuos (antara produksi dan ekskresi) pada *trabecular meshwork* (TM), dan menjadi faktor risiko utama terhadap onset dan progresivitas glaukoma. Mekanisme ini terjadi terutama pada jalur konvensional, yang melibatkan TM dan kanalis *Schlemm* (regio jukstakanalikular). Regio ini terdiri atas susunan matriks ekstraseluler yang tersusun longgar, yang mana apabila terjadi regulasi abnormal dari humor akuos

yang melalui TM dan regio tersebut maka akan menyebabkan peningkatan TIO. Sebaliknya, TIO yang tinggi atau berfluktuasi akan menyebabkan stres meningkat dan terjadi iskemia dan hipoperfusi pada sel TM yang mengakibatkan perubahan struktur jaringan TM, seperti hilangnya sel-sel endotel, penyempitan ruang intertrabekular, penebalan lamela trabekular dan adanya material trabekular di jaringan jukstakanalikular.^{6,7,8,9}

Apoptosis merupakan kematian sel yang terprogram terjadi secara normal selama proses perkembangan dan penuaan, yang dapat dipercepat oleh agen pada sel yang mengalami stres. Peningkatan dan fluktuasi TIO menyebabkan kondisi stres yang memicu terjadinya iskemia pada jaringan TM dan sel ganglion retina berupa stres mekanik, fagositik, dan oksidatif. Kondisi stres ini selanjutnya menyebabkan reaksi apoptosis yang patologis.^{8,10-12}

Kondisi stres mekanik akan merangsang ekspresi matriks metalloprotein (MMP) sehingga mengakibatkan perubahan struktur matriks ekstraseluler TM. Stres fagositik menyebabkan kemampuan kerja sel fagosit menjadi terganggu. Stres oksidatif terjadi karena ketidakseimbangan antara produksi oksidan dan antioksidan. Peningkatan TIO memicu pemecahan oksigen aerob sehingga menghasilkan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) berupa radikal superoksida (O_2^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Senyawa yang dikenal sebagai radikal bebas ini dapat menyebabkan kerusakan jaringan oksidatif berupa reaksi peroksidasi pada membran lipid. Secara alami, tubuh akan mengaktifkan mekanisme penghambat kondisi stress oksidatif yaitu enzim antioksidan endogen seperti *enzim superoxide*

dismutase (SOD) untuk mencegah penimbunan O_2 , *glutathione peroxidase* (GPx), dan *catalase* (CAT) untuk mencegah penimbunan H_2O_2 .^{13,14}

Stres oksidatif pada sel TM bermanifestasi dengan ditemukannya kerusakan DNA pada mitokondria sel TM, baik berupa kematian sel atau perubahan fungsi TM. Adanya peningkatan stres oksidatif pada TM ini dapat menggambarkan mekanisme terjadinya kerusakan pada glaukoma, dimana stres oksidatif memiliki kontribusi terhadap hilangnya selularitas di TM dengan menginduksi apoptosis. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa terdapat peningkatan kerusakan oksidatif pada nukleus dan mitokondria *deoxyribonucleic acid* (DNA) pada penderita glaukoma dibandingkan dengan orang normal. Adanya peningkatan stres oksidatif pada penderita glaukoma merupakan penyebab reaksi apoptosis pada TM dan sel ganglion retina.^{7,9,11}

Caspase merupakan protease sistein yang mempunyai peran utama dalam apoptosis, yaitu pembelahan protein target menuju kematian sel. Caspase digolongkan ke dalam inisiator (Caspase-2,-8,-9,-10), efektor / eksekutor (Caspase-3,-6,-7), dan caspase inflamator (Caspase-1,-4,-5). Caspase-3 telah lama dikenal sebagai protease kunci yang paling banyak memprakarsai jalur-jalur dalam penghancuran sel selama proses apoptosis. Pembongkaran sel melalui apoptosis intrinsik sebagian besar dimediasi oleh Caspase-3. Fragmentasi DNA yang terlihat pada apoptosis juga dipicu oleh Caspase-3 yang memotong *inhibitor of caspase activated DNAase* / *DNA fragmentation factor 45* (ICAD / DFF45). Ini memungkinkan masuknya *caspase-activated DNAase* (CAD) ke dalam inti untuk

fragmentasi DNA. Caspase-3 ini bertanggung jawab untuk pembelahan berbagai protein seluler yang mengarah ke apoptosis.¹⁵

Jalur ekstrinsik apoptosis melibatkan interaksi yang dimediasi oleh *death reseptor*. Urutan peristiwa pada jalur ini dimulai dengan pengikatan ligand, disusul oleh rekrutmen protein-protein adaptor sitoplasmik yang merupakan *death dominan* yang akan berikatan dengan protein tersebut. Ligand FasL atau FasR akan merekrut *fas associated death domain* (FADD) sedangkan ligand TNF akan merekrut *TNF reseptor associated death domain* (TRADD). FADD dan TRADD kemudian akan berikatan dengan Procaspase-8 dan selanjutnya akan mengaktifkan Caspase-8.^{12,32}

Jalur intrinsik tidak melibatkan mediasi reseptor, tetapi menghasilkan sinyal intraselular yang langsung beraksi dengan sasaran intrasel dan berkaitan erat dengan mitokondria. Inisiasi apoptosis dimulai dari kadar kalsium yang tinggi pada sitosol dan produk biokimia yang berasal dari stres oksidatif. Stimulus ini akan menyebabkan perubahan pada permukaan membran mitokondria sehingga menjadi permeabel dan melepaskan protein pro-apoptosis ke dalam sitosol yaitu sitokrom C. Sitokrom C akan berada di dalam sitosol akan mengikat *apoptosis inducing factor-1* (Apaf-1) dan Procaspase-9 untuk membentuk apoptosom. Apoptosom akan memfasilitasi pembelahan Procaspase-9 menjadi Caspase-9 yang aktif, kemudian Caspase-9 akan mengaktifkan Caspase-3 dan Caspase-7, selanjutnya memicu kaskade caspase yang sama dengan jalur ekstrinsik.^{12,32}

Antioksidan merupakan senyawa yang melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas oksigen reaktif. Di dalam tubuh manusia telah tersedia antioksidan

alami yang sering disebut sebagai antioksidan endogen. Tetapi saat terjadi ketidakseimbangan antara kadar oksidan dan antioksidan, maka tubuh memerlukan antioksidan eksogen. Pemberian antioksidan eksogen menjadi salah satu upaya untuk mencegah stres oksidatif. Telah banyak studi mengenai manfaat antioksidan terhadap stres oksidatif. Penelitian Ammar dkk (2012) secara *in vitro* pada TM hewan coba menyatakan antioksidan mempunyai efek proteksi pada sel TM setelah paparan H₂O₂. Penelitian Mayasari A. (2017), menyebutkan adanya penurunan indeks apoptosis yang signifikan pada hewan coba model glaukoma yang diberi antioksidan.¹⁵⁻¹⁷

Asiatic acid (AA) yang berasal dari tanaman obat tropis *Centella asiatica*, merupakan triterpenoid pentasiklik. AA lebih dikenal dengan nama pegagan, merupakan jenis tanaman obat famili *Umbelliferae* (*Apiaceae*). AA memiliki senyawa aktif primer dalam bentuk saponin (triterpenoid), seperti *asiatic acid*, *madecassoside*, dan *muriatic acid*. Saat ini AA diketahui memiliki spektrum aktivitas biologis yang luas, baik sebagai antioksidan, antiinflamasi, antifibrosis, dan neuroprotektif. Penelitian mengenai efek AA banyak dilakukan dan dilaporkan mempunyai efektif sebagai antioksidan dan toleran terhadap pencegahan apoptosis. Penelitian Huang dkk (2018) menunjukkan bahwa pemberian AA intravitreal dapat menurunkan indeks apoptosis sel ganglion retina pada tikus Wistar model glaukoma. *Asiatic acid* mempunyai efek protektif terhadap sel ganglion retina melalui peningkatan antiapoptosis *Bcl-2* dan penurunan proapoptosis *Bax* dan *Caspase-3*. Penelitian Kumar, dkk (2011) menyebutkan efek *Centella asiatica* pada fungsi kognitif tikus Wistar jantan membuktikan bahwa ekstrak *Centella asiatica*

mampu meningkatkan fungsi belajar dan memori dan menunjukkan efek protektif terhadap disfungsi mitokondria. Penelitian Soumyanath, dkk (2010) menunjukkan bahwa *Centella asiatica* dapat meningkatkan perbaikan fungsional yang lebih cepat dan peningkatan regenerasi aksonal. Penelitian Khotimah, dkk (2009) menunjukkan bahwa pemberian *Centella asiatica* mampu menurunkan apoptosis dengan meningkatkan ekspresi *Bcl-2* yang merupakan antiapoptosis.^{18,19}

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus Wistar dengan induksi peningkatan TIO sehingga menyerupai kondisi glaukoma pada mata manusia. Tikus merupakan model eksperimental yang cukup baik karena memiliki fisiologi okular yang menyerupai manusia. Harga yang terjangkau, pemeliharaannya mudah, siklus hidup relatif singkat, dan kemampuan untuk manipulasi genetik merupakan alasan penggunaan tikus sebagai hewan coba. Selain itu, mata tikus dan manusia secara anatomi memiliki karakteristik yang serupa termasuk struktur drainase bilik mata depan dan fisiologi dinamika humor akuos yang dapat dimanipulasi untuk meningkatkan TIO. Pembuatan tikus model glaukoma dapat dilakukan dengan berbagai macam cara. Namun terdapat beberapa metode yang sering digunakan antara lain kauterisasi atau ligasi vena episklera. Respon peningkatan TIO pada kauterisasi vena episklera bergantung pada jumlah vena yang dikauterisasi. Kauterisasi 1 vena episklera tidak menyebabkan peningkatan TIO, namun kauterisasi 2 atau 3 vena episklera pada tikus akan menyebabkan peningkatan TIO sebesar 20-30 mmHg dan bertahan selama beberapa minggu.²⁰⁻²²

Patogenesis penyakit glaukoma bersifat multifaktorial, dimana stres oksidatif diyakini berperan penting pada kerusakan sel TM. Terapi medikamentosa

glaukoma bertujuan untuk menurunkan TIO dengan obat-obatan penurun TIO. Namun walaupun obat-obatan telah digunakan secara maksimal, ternyata progresivitas penyakit masih tetap berlangsung. Faktor selular yang berhubungan dengan stres oksidatif diyakini mengambil peran penting pada kerusakan sel TM dan ganglion retina akibat terjadinya apoptosis. Pencegahan dan pengobatan glaukoma pada tingkat seluler TM menjadi suatu hal yang menjadi pertimbangan, dengan harapan dapat berperan mengurangi progresivitas penyakit glaukoma selain pengobatan secara medikamentosa ataupun tindakan operatif.

Adanya antioksidan sebagai salah satu spektrum biologis AA menimbulkan pertanyaan bagi peneliti apakah AA memiliki pengaruh sebagai antioksidan yang baik dalam mencegah apoptosis pada sel TM. Penelitian ini diharapkan dapat menganalisis pemberian AA oral terhadap indeks apoptosis sel TM pada tikus Wistar model glaukoma. Sehingga apabila apoptosis TM akibat peningkatan atau fluktuasi TIO dapat ditekan dengan antioksidan ini, maka diharapkan perubahan morfologi dan fungsi dari TM yang dapat menyebabkan resistensi aliran humor akuos dapat dicegah.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh *Asiatic acid* oral terhadap indeks apoptosis sel *trabecular meshwork* tikus Wistar model glaukoma?

I.3 Tujuan Penelitian

I.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan pengaruh *Asiatic acid* oral terhadap indeks apoptosis sel *trabecular meshwork* tikus Wistar model glaukoma.

I.3.2 Tujuan Khusus

1. Memperoleh data indeks apoptosis sel *trabecular meshwork* tikus Wistar model glaukoma yang diberi *Asiatic acid* oral.
2. Memperoleh data indeks apoptosis sel *trabecular meshwork* tikus Wistar model glaukoma yang tidak diberi *Asiatic acid* oral.
3. Membandingkan dan menganalisis indeks apoptosis sel *trabecular meshwork* tikus Wistar model glaukoma yang diberi dan tidak diberi *Asiatic acid* oral.

I.4 Manfaat Penelitian

I.4.1 Manfaat bagi Ilmu Pengetahuan dan Penelitian

1. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah mengenai pengaruh *Asiatic acid* oral terhadap indeks apoptosis *trabecular meshwork* tikus Wistar model glaukoma.
2. Memberikan landasan ilmiah untuk penelitian selanjutnya tentang pengembangan dan pemanfaatan *Asiatic acid* untuk manusia di bidang Ilmu Kesehatan Mata.

I.4.2 Manfaat bagi Klinisi

Memberikan informasi ilmiah mengenai manfaat *Asiatic acid* oral terhadap indeks apoptosis sel *trabecular meshwork* sebagai terapi adjuvan obat anti glaukoma.

I.4.3 Manfaat bagi Masyarakat

Memberikan informasi mengenai potensi *Asiatic acid* oral terhadap indeks apoptosis sel *trabecular meshwork* sehingga dapat digunakan secara luas sebagai terapi adjuvan penyakit glaukoma.

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. Penelitian sebelumnya yang berhubungan dengan penelitian ini.

No.	Peneliti, Tahun	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
1.	Baleriola J., <i>et al</i> , 2008.	<i>Apoptosis in the Trabecular Meshwork of Glaucomatous Patients</i>	Indeks apoptosis pada <i>trabecular meshwork</i> (TM) penderita glaukoma dapat dievaluasi. Indeks apoptosis TM pada penderita POAG lebih tinggi dibandingkan PACG. ⁷

2. Ammar D.A., et al., 2012.	<i>Antioxidant Protect Trabecular Meshwork Cells from Hydrogen Peroxide-induced Cell Death</i>	Antioksidan dapat meningkatkan metabolisme sel <i>trabecular meshwork</i> (TM), sehingga akan memberikan proteksi terhadap TM setelah paparan H ₂ O ₂ . ¹⁷
3. Huang W., et al., 2018.	<i>Asiatic acid Prevents Retinal Ganglion Cell (RGC) Apoptosis in a Rat Model of Glaucoma</i>	Pemberian <i>Asiatic acid</i> secara intravitreal terbukti menurunkan indeks apoptosis serta mampu menurunkan hilangnya sel ganglion retina pada tikus Wistar model glaukoma. ²⁰
4. Yuliani, Sapto, dkk, 2012.	Efek Protektif Ekstrak Etanol Herbal Pegagan (<i>Centella asiatica</i>) Terhadap Pembentukan Katarak Tikus Wistar Yang Diinduksi Sodium Selenit	Ekstrak etanol <i>Centella asiatica</i> mempunyai efek protektif terhadap kejadian katarak pada tikus yang diinduksi sodium selenit dengan dosis 300mg/kgBB injeksi secara subkutan. ²⁴

Pada penelitian ini akan menilai pengaruh pemberian *Asiatic acid* oral terhadap indeks apoptosis TM tikus Wistar model glaukoma. Penelitian sebelumnya menilai bahwa indeks apoptosis *trabecular meshwork* pada pasien glaukoma dapat dievaluasi. Penelitian lain menyebutkan bahwa antioksidan dapat meningkatkan metabolisme sel TM sehingga akan memberikan proteksi terhadap TM setelah paparan stres oksidatif. Penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian *Asiatic acid* secara intravitreal terbukti menurunkan indeks apoptosis serta hilangnya sel ganglion retina pada tikus Wistar model glaukoma. Penelitian ini merupakan suatu studi eksperimental yang menganalisis pengaruh *Asiatic acid* oral terhadap indeks apoptosis *trabecular meshwork* melalui pemeriksaan histopatologi terhadap tikus Wistar model glaukoma secara *in vivo*, pada kelompok yang diberi dan tidak diberi *Asiatic acid* oral. Pemilihan dosis dan waktu pemberian AA disesuaikan dengan dosis terapi dan penelitian-penelitian pada hewan coba sebelumnya.