

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Glaukoma merupakan suatu sindroma yang ditandai dengan neuropati optik yang sesuai dengan pola kerusakan di nervus optikus dan defek visual lapang pandang dengan pola yang khas. Peningkatan tekanan intra okuler (TIO) merupakan salah satu faktor risiko utama namun ada tidaknya peningkatan tekanan intra okuler tidak mempengaruhi definisi dari penyakit ini. Glaukoma merupakan penyebab utama kebutaan permanen di dunia dan bersifat *irreversible*. *World Health Organization* (WHO) mengungkapkan bahwa glaukoma merupakan penyebab kebutaan terbesar kedua setelah katarak. Lebih dari 70 juta orang terdiagnosis glaukoma di dunia dan lebih dari 4 juta orang kehilangan visus di kedua mata. Angka kebutaan akibat glaukoma di Indonesia mencapai 0,16% dari jumlah seluruh penduduk Indonesia. Prevalensi glaukoma di Indonesia menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 adalah sekitar 4,6%.¹⁻⁴

Primary angle closure glaucoma lebih umum di Asia Timur daripada Asia Selatan, yaitu 1,22% di Asia Timur dan Asia Selatan sebesar 0,65%. Proyeksi jumlah penderita glaukoma di

Asia adalah 49,9 juta pada tahun 2020, dengan prevalensi *primary open angle glaucoma* sebesar 76,1%, dan 76,8 juta di tahun 2040 dengan rasio gender seimbang antara laki-laki dan perempuan.⁷ Prevalensi glaukoma diperkirakan mencapai 79.6 juta populasi pada tahun 2020. Sebanyak 60% populasi di dunia terdapat di Asia, sehingga studi epidemiologi yang mewakili populasi Asia sangat diperlukan untuk memperkirakan prevalensi glaukoma secara global. Namun, hingga saat ini belum terdapat studi epidemiologi yang lengkap mengenai berbagai tipe glaukoma di Indonesia.^{5,6}

Mekanisme peningkatan tekanan intra okuler pada glaukoma dipengaruhi oleh gangguan aliran outflow humor akuos. Keseimbangan antara produksi, sirkulasi, dan drainase humor akuos sangat penting untuk mempertahankan TIO pada nilai normal, dan mempertahankan bentuk bola mata. Humor akuos diproduksi di badan siliaris pada sel epitel non pigmented dengan kecepatan 2-3 μl /min, komposisinya terdiri dari ion hidrogen dan klorida, askorbat, bikarbonat dan bebas protein.^{1,8}

Aliran humour akuos melalui 2 jalur, yaitu jalur trabekular dan uveoskleral. Humour akuos keluar dari bola mata melalui *trabecular meshwork* dan kanalis Schlemm sebelum sampai ke sistem vena. Sebagian akuos keluar melalui jalur uveoskleral, melalui pangkal iris dan badan siliaris ke dalam *suprachoroidal space*. Aliran melalui trabekular bergantung kepada tekanan vena

episklera sedangkan aliran melalui jalur uveoskleral relatif tidak bergantung pada tekanan vena episklera.^{1,9,10}

Ketidakseimbangan antara produksi dan aliran humor akuos menyebabkan peningkatan TIO pada glaukoma primer sudut terbuka. Ketidakseimbangan tersebut utamanya disebabkan oleh peningkatan resistensi aliran humor akuos pada *trabecular meshwork* (TM) akibat dari degenerasi sel trabekular dan akumulasi abnormal protein matriks ekstraseluler TM. Belum diketahui secara pasti proses terjadinya degenerasi sel trabekular, namun diduga berhubungan dengan apoptosis sel TM, perubahan pada matriks ekstraseluler, stres oksidatif, dan peningkatan kadar sitokin inflamasi pada humor akuos.¹¹⁻¹³

Peningkatan TIO dapat berpotensi menyebabkan stres mekanik pada TM sehingga memicu terjadinya inflamasi dan perubahan struktural di TM pada glaukoma primer sudut terbuka. Kondisi resistensi aliran humor akuos yang ada di TM disebabkan oleh proses inflamasi menyebabkan adanya infiltrasi sel-sel radang dan dibentuknya berbagai sitokin inflamasi yang akan menginduksi perubahan matriks ekstraseluler TM. Proses inflamasi merupakan reaksi kompleks pada jaringan yang memiliki vaskularisasi akibat stimulus eksogen maupun endogen. Dalam arti sederhana, inflamasi ialah suatu respon protektif yang ditujukan untuk menghilangkan penyebab awal jejas sel serta

membuang sel dan jaringan nekrotik akibat oleh kerusakan sel.^{14,15}

Inflamasi akan mengaktivasi limfosit T, yang kemudian Limfosit T helper akan memproduksi beberapa sitokin antara lain IL-2, IFN- γ serta TNF- α . Abbas mengungkapkan, sitokin TNF- α mempunyai peran terbesar sebagai pengatur mediator imun dalam proses inflamasi yang dapat mengakibatkan lisis sel target. Wallach pada tahun 1999 menyebutkan bahwa sitokin yaitu TNF- α memang memiliki pengaruh terhadap kematian sel. Namun sampai saat ini peran sitokin tersebut khususnya terhadap kematian sel endotel TM belum pernah dijelaskan.^{16,17}

TNF- α ialah sitokin yang termasuk dalam keluarga TNF dengan 19 protein yang berbeda. TNF- α dalam level yang sedikit dapat menjaga homeostasis dan meregulasi irama sirkadian. TNF- α merupakan mediator inflamasi yang timbul akibat adanya infeksi atau trauma. TNF- α memiliki peran penting dalam respon imun lokal terhadap mikroorganisme yang menyerang dengan menginisiasi reaksi kaskade yang berujung pada inflamasi guna mengeliminasi organisme yang menyerang. TNF- α yang diproduksi dalam jangka panjang dengan konsentrasi rendah dapat menimbulkan *tissue remodeling*.¹⁸⁻²¹

TNF- α yang diproduksi oleh sel glial teraktivasi telah terbukti secara langsung menginduksi apoptosis sel ganglion retina, ada bukti bahwa sel glial retina yang diaktifkan

menginduksi produksi zat sitotoksik lain seperti *nitric oxide* (NO) dan endotelin-1 (ET1) yang mengarah ke neuronal. kerusakan. Astrosit retina in vitro mengekspresikan TNF-R1 dan stimulasinya oleh TNF- α ditemukan menginduksi nitric oxide synthase-2 (iNOS). Sel glial Muller juga telah terbukti menghasilkan *nitric oxide* sebagai respons terhadap TNF- α endogen. Peningkatan ekspresi iNOS menyebabkan pajanan kepala saraf optik terhadap jumlah berlebihan *nitric oxide* yang menyebabkan perubahan neurodestruktif pada sel ganglion retina.²⁵

Pada glaukoma sudut terbuka, terdapat hambatan pada arus keluar humor akuos. Beberapa kasus perubahan molekular belum dapat diungkapkan dengan jelas pada glaukoma sudut terbuka namun diduga bahwa salah satu penyebabnya ialah peningkatan *fibrillary bands* dari ekstra selular matriks pada TM. Sel pada TM bersifat kontraktile sehingga adanya perubahan pada TM akan berpengaruh pada aliran resistensi humor akuos. Proses patologis yang menentukan ketahanan terhadap aliran humor akuos di TM dan peningkatan TIO merupakan fase inflamasi akut, dimana didapatkan infiltrasi sel-sel inflamasi dan upregulasi dari sitokin antara lain TNF- α .^{23,24}

Hubungan antara TNF- α dan glaukoma telah diteliti pada manusia dan hewan. Menunjukkan bahwa kadar TNF- α pada pasien dengan glaukoma akan meningkat, dan memicu timbulnya

apoptosis pada sel ganglion retina. Sawada *et al* menunjukkan bahwa tingkat TNF- α di humor akuos pasien glaukoma meningkat secara signifikan dibanding pasien non-glaukoma. Injeksi intravitreal TNF- α yang dilakukan pada tikus juga menunjukkan adanya perubahan degeneratif dalam sel ganglion retina. Pada *trabecular meshwork* pasien glaukoma, makrofag memproduksi sitokin-sitokin meliputi IL-6, IL-1 β , dan TNF- α sebagai akibat dari respon inflamasi, serta menarik sel-sel imun seperti limfosit T. Madigan *et al* mengemukakan bahwa injeksi intravitreal TNF- α pada hewan coba tikus dapat menimbulkan kerusakan pada akson nervus optikus yang hampir serupa dengan kerusakan neuropati pada glaukoma. Penelitian pada dosis injeksi 200U menunjukkan kehilangan aksonal dan degenerasi terkait dengan perubahan morfologis pada syaraf optik. TNF- α pada tikus terbukti menginduksi degenerasi akson setelah 2 minggu hingga 2 bulan setelah pemberian injeksi intravitreal.^{22,24}

Jaringan retina normal menunjukkan ekspresi TNF- α yang rendah dalam vaskularisasi syaraf optikus. Produksi dan pelepasan TNF- α terjadi saat awal setelah paparan peningkatan TIO atau adanya iskemik. Penelitian lebih lanjut mengungkapkan bahwa ekspresi TNF- α berjalan sejalan dengan progresivitas degenerasi nervus optikus. TNF- α tidak hanya bertindak sebagai mediator langsung terhadap apoptosis sel ganglion sel, namun juga menjadi

mediator dalam faktor pro-apoptosis lainnya. TNF- α bertindak sebagai mediator dalam faktor pro apoptosis seperti *nerve growth factor* (NGF). Pro-NGF terbukti menginduksi ekspresi TNF- α dalam sel Muller.²⁵

Keseimbangan antara berbagai jalur pensinyalan intraseluler menentukan bioaktivitas in vivo yang dominan dari TNF- α ke sel ganglion retina. Selain neurotoksisitas langsung TNF- α ke sel ganglion retina dan aksonnya, potensi interaksi pensinyalan TNF- α dengan peristiwa seluler lain yang terkait dengan neurodegenerasi glaukoma juga dapat berkontribusi pada cedera neurodegeneratif sekunder. Penelitian ini berfokus pada bukti untuk mendukung keterlibatan pensinyalan TNF- α dalam degenerasi saraf glaukoma dan kemungkinan target pengobatan untuk memberikan perlindungan saraf. Memperlambat perkembangan penyakit dan mempertahankan kualitas hidup adalah tujuan utama pengobatan glaukoma.³⁹

Asiatic acid (AA) merupakan triterpenoid alami yang berasal dari tanaman obat tropis *Centella asiatica*. *Centella asiatica* dikenal sebagai pegagan di Indonesia merupakan tanaman obat famili *Umbelliferae* (*Apiaceae*) yang banyak tumbuh di negara Asia, Afrika Selatan dan Eropa Timur. *Asiatic acid* telah dilaporkan memiliki efek sebagai anti-inflamasi, anti-oksidan, dan neuroprotektif.^{27,28}

Studi oleh Wrobel mengemukakan pemberian *Asiatica acid* pada model hewan coba memberikan hasil penurunan mediator anti inflamasi pada traktur urinarius. Penelitian Huang *et al* pada tikus Wistar model glaukoma menunjukkan pemberian *Asiatica acid* intravitreal dapat menurunkan jumlah apoptosis di sel ganglion retina. *Asiatica acid* memberikan efek neuroprotektif dan memperbaiki disfungsi retina pada sel ganglion retina di studi tikus model glaukoma. Penelitian ini menunjukkan bahwa *Asiatica acid* dapat menjadi agen terapi untuk glaukoma. Belum terdapat studi yang berfokus pada efek pemberian *Asiatica acid* terhadap *trabecular meshwork* hewan coba. Penelitian ini diharapkan dapat menganalisis pemberian *trabecular meshwork* oral terhadap tikus model glaukoma dengan menghambat ekspresi TNF- α sehingga dapat menurunkan risiko terjadinya kerusakan di *trabecular meshwork*.^{29,66}

Penelitian ini akan menggunakan hewan coba tikus Wistar model glaukoma. Tikus memiliki anatomi mata yang hampir serupa dengan manusia. Metode yang akan digunakan dalam menaikkan TIO ialah dengan kauterisasi atau ligasi vena episklera. Kauterisasi dengan menggunakan monopolar *low temperature cautery* pada 3 vena episklera akan menyebabkan peningkatan TIO sebesar 20-30 mmHg dan bertahan selama beberapa minggu. Peningkatan TIO pada level tersebut yang bertahan dalam

beberapa minggu sangat berguna untuk studi jangka panjang.³⁰

I.2. Rumusan Masalah

Apakah ekspresi TNF- α di *trabecular meshwork* tikus Wistar model glaukoma lebih rendah pada kelompok yang diberi *Asiatic acid* oral dibanding dengan kelompok yang tidak diberi perlakuan?

I.3. Tujuan Penelitian

I.3.1. Tujuan Umum

Membuktikan ekspresi TNF- α di *trabecular meshwork* tikus Wistar model glaukoma lebih rendah pada kelompok yang diberi *Asiatic acid* oral dibanding dengan kelompok yang tidak diberi perlakuan.

I.3.2. Tujuan Khusus

1. Memperoleh data ekspresi TNF- α di *trabecular meshwork* pada tikus Wistar model glaukoma yang diberikan *Asiatic acid* oral.
2. Memperoleh data ekspresi TNF- α di *trabecular meshwork* pada tikus Wistar model glaukoma yang tidak diberikan *Asiatic acid* oral.

3. Membandingkan dan menganalisis data ekspresi TNF- α di *trabecular meshwork* pada tikus Wistar model glaukoma yang diberikan *Asiatic acid* oral dengan yang kontrol.

I.4. Manfaat Penelitian

I.4.1. Manfaat bagi Ilmu Pengetahuan

1. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan data ilmiah mengenai pengaruh pemberian *Asiatic acid* oral terhadap ekspresi TNF- α di *trabecular meshwork* pada tikus Wistar model glaukoma.
2. Memberikan landasan ilmiah mengenai kemungkinan pengembangan dan pemanfaatan *Asiatic acid* untuk manusia di bidang Ilmu Kesehatan Mata, utamanya dalam bidang Glaukoma.
3. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi acuan bagi penelitian selanjutnya mengenai terapi alternatif bagi penanganan glaukoma.

I.4.2. Manfaat bagi Klinisi

Memberikan informasi ilmiah mengenai manfaat terapi *Asiatic acid* oral sebagai kandidat agen yang menurunkan ekspresi TNF- α di *trabecular meshwork* pada tikus Wistar model glaukoma.

I.4.3. Manfaat bagi Masyarakat

Memberikan masukan dan tambahan informasi mengenai manfaat terapi *Asiatic acid* oral sebagai kandidat agen pada penyakit glaukoma.

I.5. Orisinalitas Penelitian

Penulis telah melakukan upaya penelusuran pustaka dan tidak menjumpai adanya penelitian dan publikasi sebelumnya yang telah menjawab permasalahan penelitian.

Tabel 1. Penelitian sebelumnya yang berhubungan dengan penelitian

ini.^{22,26,28-30}

No.	Peneliti, tahun	Judul penelitian	Hasil penelitian
1.	Huang W <i>et al.</i> 2018.	<i>Asiatic Acid</i> Prevents Retinal Ganglion Cell Apoptosis in a Rat Model of Glaucoma.	Pemberian <i>Asiatic acid</i> secara intravitreal dapat menurunkan jumlah apoptosis dan menurunkan

			hilangnya sel
			ganglion retina pada
			tikus Wistar model
2.	Cao, Shou-Yan		glaukoma.
	<i>et al. Microbial</i>	Asiatic Acid Inhibits	
	<i>Pathogenesis.</i>	LPS-Induced	Lipopolisakarida
	2018.	Inflammatory	menstimulasi
		Response In	mediator inflamasi
		Endometrial	seperti
		Epithelial Cells	TNF- α , IL-1 β ,
			NO,dan PGE2. Sel
			yang dikultur dan
			diinkubasi kemudian
			diberikan Asiatica
			Acid. Hasil yang
			didapatkan terbukti
3.	Chen, Hao <i>et al.</i>		Asiatica acid dapat
	<i>Int J</i>	The Anti-	menghambat
	<i>Ophthalmol.</i>	Inflammatory	mediator inflamasi
	2017.	Effects Of Asiatic	tersebut.
		Acid In	
		Lipopolysaccharide-	Efek stimulasi
		Stimulated Human	ekspresi mRNA dari

	Corneal Epithelial Cells.	IL-8, IL-6, IL-1 β , TNF- α , and TGF- β di sel epitel kornea
4.	Fong, Lai Yen <i>et al. Elsevier.</i> 2015.	Barrier protective effect of asiatic acid in TNF- α -induced activation of human aortic endothelial cells. Asiatic acid secara signifikan menekan permeabilitas endotel, meningkatkan ekspresi VCAM-1
5.	Agarwal, Renu and Puneet Agarwal, <i>Indian J Ophthalmol.</i> 2012	Glaucomatous neurodegeneration : An eye for tumor necrosis factor alpha dan peningkatan level cairan CAMs (sE-selectin, sICAM- 1, sVCAM-1 and sPECAM-1) yang dipicu oleh TNF- α . Peningkatan ekspresi

TNF- α berhubungan

dengan

neurodegenerasi

glaukoma.

Penghambatan

kenaikan TNF- α

diduga dapat menjadi

target teurapetik

dalam penanganan

glaukoma.

Pada penelitian ini akan dinilai efek *Asiatic acid* oral terhadap ekspresi TNF- α pada tikus Wistar model glaukoma. Penelitian sebelumnya telah menilai efek *Asiatic acid* intravitreal dengan dosis 0.1 mg/mL pada tikus model glaukoma terbukti menurunkan apoptosis dan hilangnya sel ganglion retina. Penelitian ini dilihat efek *Asiatic acid* oral dengan dosis konversi pada tikus sebesar 30 mg/kgBB. Pada penelitian ini menggunakan sampel tikus dengan BB rata-rata 150-300 gram.

Asiatic acid telah terbukti menjadi agen yang mencegah timbulnya berbagai faktor inflamasi seperti IL-6, IL-8, TNF- α dan TGF- β di sel epitel kornea pada manusia. Lipopolisakarida pada konsentrasi 300mg/mL secara signifikan merangsang ekspresi mRNA seperti IL-6, IL-8, TNF- α dan TGF- β . AA pada dosis 20 μ mol/L terbukti menghambat efek stimulasi tersebut. AA memiliki efek langsung dalam mengurangi peradangan di sel epitel kornea pada mata.²⁹

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan rancangan penelitian *post-test only randomized controlled group design*, dimana akan diteliti gambaran ekspresi TNF- α melalui pemeriksaan histopatologi anatomi pada jaringan *trabecular meshwork* tikus Wistar. Pemilihan dosis dan waktu pemberian AA disesuaikan dengan dosis terapi dan penelitian-penelitian pada hewan coba sebelumnya.