

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Glaukoma merupakan kelainan yang ditandai dengan adanya neuropati optik spesifik dengan pola kerusakan pada nervus optikus, disertai disfungsi visual dengan pola yang khas. *World Health Organization (WHO)* 2010 memperkirakan 3.2 juta jiwa mengalami kebutaan akibat glaukoma. Data yang didapatkan dari Riskesdas pada tahun 2007 sekitar 4,6 dari 1000 penduduk Indonesia menderita glaukoma.^{1,2} Menurut Tham dkk., pada kelompok umur 40-80 tahun, angka tersebut diperkirakan akan terus meningkat menjadi 76 juta jiwa pada tahun 2020 dan 111.8 juta jiwa pada tahun 2040. Data dari *Global Burden of Disease Study* memperkirakan populasi global yang buta pada tahun 2015 adalah glaukoma sebanyak 2.9 juta. Berdasarkan *Rapid Assesment of Avoidable Blindness (RAAB)* 2016, glaukoma menjadi penyebab kebutaan ketiga terbanyak di Indonesia sebesar 2.5% dari angka kebutaan di Indonesia.^{3,4}

Penurunan penglihatan pada glaukoma disebabkan oleh kematian *retinal ganglion cell (RGC)*, jaringan dendritik lapisan plexiform dalam, dan akson pada lapisan serabut saraf.¹ Hilangnya sel ganglion berhubungan dengan tingkat tekanan intraokular, tetapi faktor lain mungkin juga berperan. Tekanan intraokular (TIO) dan faktor seluler yang berhubungan dengan stres oksidatif dan iskemik dipercaya mengambil peran penting dalam kerusakan RGC.⁵ Neuropati optik pada glaukoma ditandai dengan kematian sel ganglion retina yang progresif. Kerusakan

glaukوماتosa menetap pada hampir 50% pasien, walaupun tekanan intraokuler sudah diturunkan sampai dengan tekanan normal.

Sebuah penelitian dari *Mayo Clinic* menunjukkan bahwa pasien glaukoma yang sudah dilakukan terapi tetap memiliki risiko kebutaan unilateral sebesar 27% dan 9% kebutaan bilateral dalam 20 tahun.⁵ Studi lain dari *Early Manifest Glaucoma Trial* (EMGT) menunjukkan pada kasus glaukoma ringan-sedang yang baru didiagnosis dan dilakukan intervensi penurunan TIO sebesar 25% tetap terlihat adanya progresifitas sebesar 45% dalam 5 tahun.⁶

Apoptosis dari RGC berhubungan dengan Eksitotoksisitas yang dimediasi oleh N-metil-D-aspartat (NMDA) merupakan jalur umum untuk neuropati glaukoma dan oleh karena itu dapat dianggap sebagai salah satu target strategi neuroprotektif, khususnya NMDA telah dianggap sebagai agen potensial yang berfungsi sebagai instrumen untuk mempelajari kematian RGC terkait eksitotoksisitas.⁹ Eksitotoksisitas yang ditimbulkan NMDA menggambarkan pathogenesis neuropati glaukoma. N-metil-D-aspartat telah diketahui mampu menyebabkan stress oksidatif seluler melalui reseptor NMDA dan menyebabkan peningkatan kalsium dalam sel. Injeksi intravitreal NMDA menyebabkan aktivasi *caspase-3*, kerusakan *deoxyribonucleic acid* (DNA), perubahan struktural, apoptosis RGC yang terdeteksi pada pemeriksaan *immunostaining*, dan merusak sel ganglion retina sehingga mengalami penipisan sel dan pengurangan jumlah sel.¹⁰

Caspase merupakan protease sistein aspartat berperan sebagai komponen utama dari kaskade pensinyalan apoptosis, meskipun mereka juga memiliki peran non-apoptosis lainnya, termasuk peradangan. *Caspase* diaktifkan oleh dimerisasi

yang diinduksi oleh kedekatan dalam kompleks protein, *feedback loops* dan pembelahan pro-enzim.³⁰ Mekanisme apoptosis terjadi karena adanya perubahan konsentrasi produk gen yang dapat merangsang perubahan mitokondria yang pada akhirnya mengarah pada aktivasi keluarga protease sistein yang disebut caspases.

Pada apoptosis terdapat 2 (dua) jalur intrinsik dan ekstrinsik bertemu untuk mengaktifkan kaskade kaskade yang memediasi fase akhir apoptosis. Jalur intrinsik mitokondria mengaktifkan inisiator *caspase-9*, sedangkan jalur reseptor kematian ekstrinsik mengaktifkan *caspase-8* dan *caspase 10*. Bentuk aktif *caspase* ini memicu aktivasi cepat dan berurutan dari pro-caspase, seperti *caspase-3* dan *caspase-6*, yang kemudian bekerja pada banyak komponen seluler. Tenzel dan Yang mengatakan *caspases* juga telah terbukti terlibat dalam retinal kematian sel ganglion (RGC) yang disebabkan oleh *axotomy* saraf optik dan N-metil-D-aspartat. Selain itu, kematian RGC yang disebabkan oleh peningkatan tekanan intraokular melibatkan aktivasi caspase (termasuk *caspase-3* dan -8) seperti yang ditunjukkan menggunakan model tikus percobaan glaukoma.²⁶

Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study (CIGTS) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antara terapi medis awal medikamentosa dengan pembedahan dalam mempertahankan visual, tetapi subjek lebih memilih terapi medis terutama karena efek samping yang terkait dengan terapi bedah awal lebih berisiko dibandingkan terapi medis. Secara keseluruhan, terapi medis awal tetap menjadi pengobatan pilihan bagi kebanyakan pasien glaukoma sudut terbuka.⁶

Terapi pendamping glaukoma terutama neuroprotektif semakin berkembang dan menjanjikan untuk kedepannya sebagai terapi penunjang, serta

kelebihannya terutama dalam hal toksisitas dan komplikasi sistemik yang relatif rendah saat dikonsumsi. Oleh karena itu menjadi suatu keharusan untuk mengembangkan pengobatan untuk pencegahan dan perlindungan yang berkaitan dengan penyakit neurodegeneratif. Polifenol alami (termasuk flavonoid, fenolat, vitamin, dan sebagainya) telah ditemukan berkhasiat dalam beberapa manfaat kesehatan bagi manusia. Aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi dari fitokimia ini telah diperkuat dengan baik dalam beberapa penelitian.¹¹ Pemberian terapi pendamping ini dapat menunda atau menghentikan perkembangan kehilangan RGC yang diperlukan untuk mencegah kehilangan penglihatan. Di antara molekul antioksidan, flavonoid merupakan sumber pengobatan yang menjanjikan. Di antara molekul antioksidan, flavonoid mungkin merupakan sumber perawatan baru yang menjanjikan. Flavonoid adalah sekelompok senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan yang ditemukan di banyak buah dan sayuran, dan telah dilaporkan memberikan berbagai manfaat fisiologis.⁸

Hesperidin adalah glikosida flavanon (subkelas flavonoid) dan potensi antioksidan yang kuat. Hesperidin telah dilaporkan memiliki banyak sifat farmakologis, termasuk antihiperlipidemia, anti-inflamasi, analgesik, antijamur, antikarsinogenik, antioksidan, anti alergi, antidiabetes, anti-hipertensi, dan anti-aterogenik. Selanjutnya, hesperidin ditemukan efektif dalam nefropati diabetik dan kardiomiopati pada tikus diabetes tipe 2. Studi lain melaporkan bahwa berbagai efek terapeutik dan perlindungan dari hesperidin terhadap trombosis otak, hipertensi, perlemakan hati, osteoporosis, hiperkolesterolemia dan asma.^{8,9}

Penelitian terbaru melaporkan bahwa hesperidin merupakan penangkal radikal bebas yang memberikan efek dan promotor aktivitas enzim yang berhubungan dengan pertahanan antioksidan seluler. Bersama dengan banyak laporan sebelumnya yang menunjukkan bahwa hesperidin memiliki efek anti-apoptosis, anti-oksidatif, dan anti-inflamasi. Pada hewan coba glaukoma, terjadinya stress oksidatif berhubungan dengan kematian RGC pada retina tikus yang kekurangan *Glutamate Aspartate Transporter* (GLAST) atau *Excitatory Amino Acid Carrier -1* (EAAC1), serta pada tikus yang mengalami cedera retina yang diinduksi NMDA, kerusakan saraf optik, dan kerusakan retina. Pengobatan untuk mengurangi stres oksidatif mencegah kematian RGC pada model hewan setelah cedera saraf optik. Stres oksidatif juga secara langsung menyebabkan kematian RGC pada pasien glaukoma manusia, molekul antioksidan mungkin memiliki efek neuroproteksi pada glaukoma. Di antara molekul antioksidan, flavonoid mungkin merupakan sumber perawatan baru yang menjanjikan. Flavonoid adalah sekelompok senyawa polifenol yang diturunkan dari tanaman yang ditemukan di banyak buah dan sayuran, dan telah dilaporkan memberikan berbagai manfaat fisiologis, seperti perlindungan dari penyakit kardiovaskular dan kanker.⁹

Pada penelitian Maekawa dkk (2017), menemukan bahwa injeksi intravitreal dari hesperidin mencegah kematian RGC yang diinduksi oleh eksitotoksisitas dan meningkatkan fungsi visual elektrofisiologis dan perilaku tikus setelah pemberian NMDA. Studi ini menunjukkan bahwa hesperidin dapat menekan efek stres oksidatif baik in vitro dan in vivo. Penyelidikan mekanisme yang mendasari menunjukkan bahwa hesperidin menekan aktivasi berlebih calpain

di retina yang diberi NMDA, sehingga mengurangi peningkatan regulasi TNF- α , sitokin inflamasi, menghambat aktivasi calpain dengan menekan stres oksidatif, dan melemahkan aktivasi *caspase-3*.

Dalam memahami faktor-faktor yang mempengaruhi kerentanan retina terhadap faktor risiko glaukoma membutuhkan hewan uji yang sesuai. Sebagai model glaukoma, tikus lebih unggul daripada hewan lain yang pernah digunakan dalam penelitian. Dan diharapkan dapat meniru perubahan yang terjadi pada manusia.^{11, 13} Penilaian terhadap terapi neuroprotektif, tikus lebih relevan karena lebih mudah digunakan untuk memeriksa *survival* RGC. Tikus juga telah umum digunakan sebagai hewan model untuk menguji kondisi eksositotoksik pada saraf mata. Selain itu, tikus lebih mudah dipelihara di dalam laboratorium, lebih murah, cepat bereproduksi dan cepat mencapai usia dewasa.¹⁴

Penelitian mengenai Hesperedin dalam mekanisme sebagai pencegahan neurotoksisitas, antioksidatif dalam inflamasi terutama dalam bidang glaukoma masih terbatas. Penelitian mengenai ekspresi *caspase - 3* pada RGC dibidang glaukoma masih terbatas. Oleh karena itu, rancangan penelitian ini diajukan untuk menguji potensi Hesperidin sebagai agen pencegahan neurotoksisitas dan antioksidatif serta efeknya terhadap ekspresi *caspase-3* yang dapat menyebabkan terjadinya apoptosis sel ganglion retina pada tikus Wistar dengan induksi NMDA yang selanjutnya akan disebut dengan tikus model glaukoma.

I.2. Rumusan Masalah

Bagaimana ekspresi *caspase-3 retinal ganglion cell* pada tikus Wistar model glaukoma dengan diinduksi NMDA yang diberikan Hesperidin oral dibandingkan dengan kelompok kontrol?

I.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Membuktikan pengaruh pemberian Hesperidin oral terhadap ekspresi *caspase-3 retinal ganglion cell* tikus Wistar model glaukoma dengan induksi NMDA.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mendapatkan data ekspresi *caspase-3 retinal ganglion cell* tikus Wistar model glaukoma yang diberikan Hesperidin.
2. Mendapatkan data ekspresi *caspase-3 retinal ganglion cell* tikus Wistar model glaukoma yang tidak diberikan Hesperidin.
3. Membandingkan dan menganalisis ekspresi *caspase - 3 retinal ganglion cell* tikus Wistar model glaukoma yang diberikan Hesperidin dengan kontrol.

I.4. Manfaat Penelitian

I.4.1. Manfaat bagi Ilmu Pengetahuan dan Penelitian

1. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan data ilmiah mengenai pengaruh pemberian Hesperidin oral ekspresi *caspase-3* di *retinal ganglion cell* tikus Wistar model glaukoma.

2. Memberikan landasan ilmiah untuk penelitian selanjutnya tentang pengembangan dan pemanfaatan Hesperidin untuk manusia di bidang Ilmu Kesehatan Mata.

I.4.2. Manfaat bagi Klinisi

Memberikan informasi ilmiah mengenai manfaat pemberian Hesperidin oral terhadap derajat apoptosis sebagai pendamping obat anti glaukoma.

I.4.3. Manfaat bagi Masyarakat

Memberikan informasi mengenai potensi pemberian Hesperidin oral terhadap kesehatan saraf mata sehingga dapat digunakan secara luas pada penyakit mata.

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, Judul Penelitian, Nama Jurnal, Tahun Terbit	Design penelitian, Subjek Penelitian	Hasil Penelitian
1.	Kumar Binit, dkk. <i>Hesperetine rescues retinal oxidative stress, neuroinflammation and apoptosis in diabetic rats</i> . Elsevier. 2020	Studi ekperimental terhadap tikus Wistar model retinopati yang di induksi Streptozocine.	Mengevaluasi pemberian Hesperidin menurunkan stress oksidatif, neuroinflamasi dan apoptosis pada tikus karena diabetes. ²⁰

2. Maekawa S, dkk. <i>The neuroprotective effect of hesperidin in NMDA-induced retinal injury acts by suppressing oxidative stress and excessive calpain activation.</i> Scientific Reports Journal. 2017	Studi Eksperimental pada <i>Mice model NMDA induced</i> , mengamati jumlah RGC dan ketebalan retina secara histologi serta <i>apoptotic activity factor</i> secara imunohistokimia setelah pemberian injeksi hesperidin.	Hesperidin menekan kerusakan RGC akibat stress oksidatif, mencegah masuknya kalsium melalui reseptor NMDA dan melemahkan aktivitas <i>caspase-3</i> . ⁸
3. Wyane YL, dkk. <i>Protective Effects of Hesperidin (Citrus Flavonone) on High Glucose Induced Oxidative Stress and Apoptosis in a Cellular Model for Diabetic Retinopathy.</i> MDPI Nurient. 2017	Studi investigasi terhadap RCG yang diinduksi glukosa dosis tinggi	Heperidin terbukti menghambat apoptosis RGC karena induksi glukosa dosis tinggi dengan menurunkan regulasi <i>caspase 3</i> .
4. Lu B, dkk. <i>Anti-glaucoma potential of hesperidine in experimental glaucoma induced rats.</i> AMB Express. 2020	Studi eksperimental terhadap tikus albino model Hipertensi okular yang diinduksi prednisolon asetat (1%).	Pemberian hesperidin mengurangi tingkat TIO pada dekstroza dan hipertensi okular yang diinduksi prednisolon ¹¹ Hesperidin meningkatkan glutathione, mengurangi tingkat glutamat.

Penelitian yang mengkaji efek pencegahan neurotoksisitas, antioksidatif dan antiinflamasi hesperidin oral terhadap glaukoma masih terbatas. Oleh sebab itu, rancangan penelitian ini diajukan untuk menguji potensi hesperidin sebagai agen neuroprotektif terhadap ekspresi *caspase-3* pada RGC tikus Wistar model glaukoma yang diinduksi NMDA. Penelitian ini merupakan suatu studi eksperimental, yang akan meneliti dan mengukur data kualitatif ekspresi *caspase-3* dengan dan tanpa pemberian hesperidin oral pada tikus Wistar model glaukoma.

Penelitian ini menggunakan desain studi eksperimental dengan rancangan *post-test only randomized controlled group design*. Penelitian akan mengamati dan menganalisis pengaruh pemberian hesperidin oral pada ekspresi *caspase-3* RGC tikus Wistar model galukoma pada kelompok yang diberi hesperidin dengan dosis 100 mg/kgBB dibandingkan dengan kelompok kontrol.