

DISERTASI

ANALISIS EFEK RESVERATROL TERHADAP MARKER APOPTOSIS CASPASE-7 DAN SEL GANGLION RETINA PADA MODEL TIKUS DENGAN TRAUMATIC OPTIC NEUROPATHY

**ANALYSIS OF RESVERATROL EFFECT'S ON APOPTOTIC MARKER
CASPASE-7 AND RETINAL GANGLION CELL IN RAT MODEL WITH
TRAUMATIC OPTIC NEUROPATHY**



YUNITA

(P 0200315006)

**PROGRAM S-3 ILMU KEDOKTERAN
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
2020**

DISERTASI

ANALISIS EFEK RESVERATROL TERHADAP MARKER APOPTOSIS CASPASE - 7 DAN SEL GANGLION RETINA PADA MODEL TIKUS DENGAN *TRAUMATIC OPTIC NEUROPATHY*

Disusun dan diajukan oleh

YUNITA
P0200315006

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 8 Oktober 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat,

Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
Promotor

dr. A. Muhammad Ichsan, Ph.D, Sp.M(K)
Ko-Promotor

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

dr. Agussalim Bukhan, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)

Dr. dr. Habibah S. Muhiddin, Sp.M(K)
Ko-Promotor

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin

Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed

DAFTAR TIM PENGUJI

1. Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed (Promotor)
2. dr. Andi Muhammad Ichsan, Ph.D, Sp.M(K) (Ko-promotor)
3. Dr. dr. Habibah S. Muhiddin, Sp.M(K) (Ko-promotor)
4. Dr. dr. Bambang Setiadji, Sp.M(K) (Penguji eksternal)
5. Prof. dr. Mochammad Hatta, Sh.D, Sp.MK(K) (Penguji)
6. dr. Agussalim Bukhari, M.Med, PhD, SpGK(K) (Penguji)
7. Dr. dr. Batari Todja Umar, Sp.M(K) (Penguji)
8. dr. Upik A. Miskad, Ph.D, Sp.PA(K) (Penguji)
9. Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS (Penguji)

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yunita
Nomor Mahasiswa : P0200315006
Program Studi : Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Oktober 2020

Yang Menyatakan



Yunita

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Alhamdulillahirabbil'alamin saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayahNya sehingga saya mampu menyelesaikan disertasi ini. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada junjungan kita Nabi Besar Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat, dan pengikutNya sampai akhir zaman.

Pertama-tama saya panjatkan doa yang teristimewa kepada mendiang orang tua saya tercinta, ayahanda **Drs. Mansyur Toba** dan ibunda **Ratna Sila** yang telah membesarkan, mendidik, membimbing dan selalu mendoakan saya sejak kecil, sehingga saya mampu seperti sekarang ini.

Penyusunan dan penyelesaian disertasi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Dalam kesempatan ini saya dengan tulus menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada yang terhormat **Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed** selaku promotor yang senantiasa memberikan arahan serta meluangkan waktunya untuk membimbing ditengah-tengah kesibukannya yang sangat padat untuk penyelesaian disertasi ini. Kepada **dr. Andi Muhammad Ichsan, Ph.D, Sp.M(K)** selaku ko-promotor yang senantiasa memotivasi, membimbing dan memberikan ide-ide inspiratif dalam penyusunan disertasi ini. Kepada **Dr. dr. Habibah S. Muhiddin, Sp.M(K)** selaku ko-promotor yang saya anggap seperti ibu saya sendiri, senantiasa memberikan arahan , bimbingan dan nasehat sejak masa studi spesialis hingga S3 ini.

Saya juga mengucapkan terima kasih kepada :

1. **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA** selaku rektor Universitas Hasanuddin (UNHAS) yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti program pendidikan S3 di Program Pascasarjana Unhas.
2. Direktur, Wakil Direktur dan Staf Program Pascasarjana yang telah banyak membantu terutama dalam pengurusan administrasi perkuliahan.

3. Dekan Fakultas Kedokteran (FK) Unhas, **Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K) M.Med.Ed**, dan Dekan FK Unhas periode 2014-2018, **Prof. DR. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS (K)** atas izin dan dukungannya dalam mengikuti pendidikan doktor.
4. **dr. Agussalim Bukhari, PhD, M.Med, SpGK(K)** selaku Ketua Progam Studi (KPS) Pascasarjana Ilmu Kedokteran UNHAS, dan **Prof. dr. Mochamad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)** sebagai KPS Pascasarjana Ilmu Kedokteran UNHAS sebelumnya, yang telah berkenan memberikan saya kesempatan mengikuti Program Pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran.
5. **Dr. dr. Bambang Setiadji, Sp.M(K)**, selaku penguji eksternal, atas koreksi dan masukan dalam penyusunan disertasi ini dan kesediaan beliau meluangkan waktu untuk menghadiri rangkaian ujian yang saya jalani.
6. **Prof. dr. Mochammad Hatta, Sh.D, Sp.MK(K), dr. Agussalim Bukhari, M.Med, PhD, SpGK(K), Dr. dr. Batari Todja Umar, Sp.M(K), dr. Upik A. Miskad, Ph.D, Sp.PA(K)**, dan **Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS** atas kesediaan dan telah meluangkan waktu untuk menguji sekaligus memberikan bimbingan, arahan dan bantuan dalam penyelesaian disertasi ini.
7. Semua **Dosen dan Staf administrasi program studi S3 Kedokteran** yang telah banyak membantu dari awal studi hingga tahap akhir penyelesaian studi saya.
8. **Staf Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran UNHAS** dan **Staf laboratorium Patologi Anatomi RSPTN Universitas Hasanuddin** atas bantuan dan fasilitas penelitian yang diberikan.
9. Ketua departemen Ilmu Kesehatan Mata, **dr. Andi Muhammad Ichsan, Ph.D, Sp.M(K)**, yang selalu memberi dukungan dan semangat menyelesaikan pendidikan S3 saya.
10. Kepada sahabat saya **Dr. dr. Marliyanti Akib, Sp.M(K),M.Kes**, terima kasih atas segala bantuan, dan motivasi yang diberikan bukan hanya saat studi S3 saja melainkan selama menempuh pendidikan dari spesialis. Terima kasih telah menjadi saudara saya di bagian ilmu kesehatan mata.
11. Kepada **dr. Yoeke Dewi Rasita, Sp.MK**, atas bantuan dan dukungannya, masih menyempatkan membantu disela-sela kesibukan memeriksa sample covid se-Makassar. Terima kasih sudah menjadi tempat berkeluh kesah dan penyemangat dalam menyelesaikan studi saya dan menjadi sahabat sejak 24 tahun lalu.
12. Sahabat-sahabat staf dosen Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Unhas ; **dr. M. Abrar Ismail, Sp.M(K), M.Kes., dr Ahmad Ashraf, Sp.M(K),M.Kes., dr.**

A. Ahmad Faisal, Sp.M, M.Kes., dr. Hasnah, Sp.M(K),M.Kes., dr. Andi Pratiwi, Sp.M, M.Kes., dr. Suryanita Tajuddin, Sp.M, M.Kes., dr. M. Irfan, Sp.M,M.Kes., dr. Dyah Ayu Windy, Sp.M,M.Kes., dr. Ririn Nislawati, Sp.M, M.Kes., dr. Rani Yunita Patong, Sp.M, M.Kes., dr. Azhar Farid M, Sp.M,M.Kes, dr. Adelina Poli, Sp.M,M.Kes., dr. Ratih Natasha, Sp.M, M.Kes. Terima kasih atas bantuan, dukungan semangat dan keceriaannya kepada saya.

13. **Staf administrasi Departemen Ilmu Kesehatan Mata Universitas Hasanuddin** yang banyak membantu dan memberi semangat dari awal studi hingga penyelesaian studi saya.
14. **Teman-teman S3 Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran angkatan 2015** dan atas bantuan, motivasi dan kebersamaan dalam menempuh studi di Program S3 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Terkirim doa untuk ketua angkatan **Dr. dr. Adnan Ibrahim, Sp.PD** yang selalu memberikan nasehat dan memotivasi kami dalam penyelesaian studi.

Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya dan tak terhingga kepada suami tercinta **Jirana Sarifuddin, ST** dan putri tersayang **Einarsufi Khumairah Jirana**, atas semua pengertian, kesabaran dan kasih sayang serta senantiasa mendoakan, memberikan motivasi kepada saya dari awal pendidikan hingga akhir penyelesaian disertasi ini.

Banyak pihak yang telah membantu penyelesaian Pendidikan Doktor dan penerbitan disertasi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu. Dengan ketulusan hati, saya sampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan Bapak, Ibu, Saudara dan Saudari dengan pahala yang berlipat ganda. Amin.

Saya menyadari tentunya terdapat kekurangan dan keterbatasan selama penelitian dan penyusunan disertasi ini, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati saya menyampaikan maaf yang sebesar-besarnya. Kiranya hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi kepentingan ilmu pengetahuan dan aplikasi kepada masyarakat.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Makassar, Oktober 2020

Yunita

ABSTRAK

YUNITA. Analisis Efek Resveratrol Terhadap Marker Apoptosis Caspase-7 Dan Sel Ganglion Retina Pada Model Tikus Dengan *Traumatic Optic Neuropathy*. (Dibimbing oleh : Budu, Andi Muhammad Ichsan, Habibah Muhiddin)

Tujuan penelitian untuk menganalisis efek Resveratrol terhadap marker apoptosis caspase-7 dan sel ganglion retina pada model tikus dengan *traumatic optic neuropathy* (TON).

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan hewan coba tikus wistar. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok. Satu kelompok kontrol normal, 1 kelompok kontrol TON, dan 2 kelompok TON resveratrol. Induksi TON dengan penjepitan saraf mata intra-orbita menggunakan klem *Hartmann Mosquito 2,5 inci*. Terapi resveratrol diberikan dengan dosis 10 mg/kgBB dan 20 mg/kgBB pada 2 kelompok TON resveratrol. Enukleasi dilakukan 1 hari setelah induksi dan dievaluasi untuk ekspresi caspase-7 dengan imunohistokimia dan densitas sel ganglion retina dengan pewarnaan hematoxylin Eosin. Uji T independen menilai perbedaan rerata ekspresi caspase-7 dan rerata densitas sel ganglion retina. Uji korelasi Pearson untuk menilai hubungan caspase-7 dengan densitas sel ganglion retina.

Ekspresi caspase-7 didapatkan paling rendah pada kelompok resveratrol 20mg/kgBB (4.00 ± 2.00) dibandingkan kelompok resveratrol 10 mg/kgBB (6.00 ± 2.23), kelompok kontrol TON (6.00 ± 6.78) dan kelompok kontrol normal (7.20 ± 2.58). Densitas sel ganglion retina didapatkan paling tinggi pada kelompok resveratrol 10 mg/kgBB (27.23 ± 2.75) dibandingkan kelompok resveratrol 20 mg/kgBB (24.89 ± 5.83), kelompok kontrol normal (24.19 ± 2.39) dan paling rendah pada kelompok kontrol TON (22.96 ± 4.62). Berdasarkan tes korelasi Pearson, tidak ditemukan hubungan kadar caspase-7 dengan densitas sel ganglion retina pada model tikus dengan TON ($p: 0.178$; $r = 0.314$). Disimpulkan bahwa pemberian resveratrol dapat menurunkan apoptosis yang ditandai dengan ekspresi caspase-7 lebih rendah dan memelihara densitas sel ganglion retina Pada Model Tikus dengan *Traumatic Optic Neuropathy*.

Kata kunci : resveratrol, *traumatic optic neuropathy*, TON, caspase-7, sel ganglion retina

ABSTRACT

YUNITA. Analysis Of Resveratrol's Effect On Apoptosis Marker Caspase-7 And Retinal Ganglion Cell In Rat Model With *Traumatic Optic Neuropathy*. (supervised by : Budu, Andi Muhammad Ichsan, Habibah Muhiddin)

The aim of this study is to analyze the effect of resveratrol on apoptosis marker caspase-7 and retinal ganglion cell in rat model with *Traumatic Optic Neuropathy* (TON).

This was an experimental study using Wistar rats. Samples were divided into 4 groups. One normal control group, 1 TON control group and 2 TON resveratrol groups. TON induced by clamping the optic nerve intra-orbital with Hartmann Mosquito 2,5 inch. Resveratrol was given 10 mg/Kg and 20 mg/Kg in two resveratrol groups. Enucleation was performed 1 day after to evaluate the expression of Caspase-7 by immunohistochemistry and density of retinal ganglion cell by hematoxilin eosin staining. Independent T test was used to rate the difference on caspase-7 and retinal ganglion cell density. Pearson correlation test to assessed the correlation between caspase-7 and retinal ganglion cell density.

Caspase-7 expression was the lowest in the resveratrol 20 mg/kgBW treatment group (4.00 ± 2.00) compared to resveratrol 10 mg/kgBW treatment group (6.00 ± 2.23), TON control group (6.00 ± 6.78) and normal control group (7.20 ± 2.58). Retinal ganglion cell density was the highest in the resveratrol 10 mg/kgBW treatment group (27.23 ± 2.75) compared to resveratrol 20 mg/kgBW treatment group (24.89 ± 5.83), normal control group (24.19 ± 2.39) and the lowest in TON control group (22.96 ± 4.62). Based on the Pearson correlation test, it was found that there was no correlation between Caspase-7 expression and retinal ganglion cell density in a rat model with TON ($p: 0.178$; $r = 0.314$). It can be concluded that resveratrol is decreasing apoptosis marker caspase-7 expression and preserving retinal ganglion cell in rat model with *Traumatic Optic Neuropathy*.

Keywords : resveratrol, *traumatic optic neuropathy*, TON, caspase-7, retinal ganglion cell

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
LEMBAR PERSETUJUAN	i
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	ii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Saraf Optik	8
B. <i>Traumatic Optic Neuropathy</i> (TON)	13
1. Etiologi dan patomekanisme	13
2. Epidemiologi	16
3. Penatalaksanaan kasus TON	17
C. Apoptosis dan <i>Traumatic Optic Neuropathy</i>	20
D. Caspase- 7	24
E. Resveratrol	28
F. Kerangka Teori	38
G. Kerangka Konsep	39
H. Hipotesis	39
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Desain Penelitian	40

B.	Tempat dan Waktu Penelitian	40
C.	Sample Penelitian	40
D.	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	40
E.	Prosedur Kerja	40
F.	Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	43
G.	Analisis data	44
H.	Etik Penelitian	45
I.	Alur Penelitian	46
BAB	IV HASIL PENELITIAN	
A.	Hasil Penelitian	47
B.	Pembahasan	52
C.	Keterbatasan Penelitian	59
BAB	V PENUTUP	
A.	Ringkasan	61
B.	Kesimpulan	61
C.	Saran	61

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Arti dan keterangan
TON	<i>Traumatic optic neuropathy</i>
ROS	<i>Reactive Oxigen Species</i>
iROS	<i>Intracellular Reactive Oxigen Species</i>
ELAM-1	<i>Endothel-Leukocyte adhesion molecule-1</i>
SIRT1	<i>Sirtuin-1</i>
AP-1	<i>Activation Protein-1</i>
AMD	<i>age macular degeneration</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
TGF-1	<i>Transforming Growth Factor-1</i>
COX-2	cyclo-oxygenase-2
IL	<i>Interleukin</i>
EIU	<i>endotoxin-induced uveitis</i>
NF- <i>kB</i>	<i>Necroting Factor kappaBeta</i>
MCP-1	<i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
RPE	<i>Retinal Pigment Epithelium</i>
ROP	<i>Retinopathy Of Prematurity</i>
NO	<i>Nitric Oxide</i>
GABA	<i>Gamma-Aminobutyric acid</i>
LP	<i>Light Perception</i>
NLP	<i>No Light Perception</i>
RAPD	<i>Relative afferent pupillary defect</i>
ISS	<i>Injury Severity Score</i>
HAIS	<i>Head injury Abbreviated Score</i>
EPO	<i>Eritropoetin</i>
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
FADD	<i>Fas-associated protein with death domain</i>
DISC	<i>Death Inducing Signalling Complex</i>
Bcl	B cell Lymphoma
ATP	<i>Adenosine triphosphate</i>
CARD	<i>Caspase-Associated Recruitment Domain</i>
IAP	<i>Inhibitor Of Apoptosis Proteins</i>
GSH	<i>Ester-glutathione</i>
MDA	<i>malondialdehyde</i>
HCl	<i>Hidrochloric Acid</i>

PBS	<i>Phosphate-Buffered saline</i>
DAB	<i>chromogen Diaminobenzidine</i>
RGC	<i>Retinal Ganglion Cell</i>
IPL	<i>Inner Plexiform Layer</i>
INL	<i>Inner Nuclear Layer</i>
OPL	<i>Outer Plexiform Layer</i>
ONL	<i>Outer Nuclear Layer</i>
OS	<i>Outer Segments</i>

DAFTAR TABEL

No Tabel	Judul Tabel	Halaman
Tabel 1.	Tingkatan TON	19
Tabel 2	Jenis caspase pada mamalia	25
Tabel 3	Aktivitas biologis dari resveratrol dalam mekanisme in vivo dan in vitro	33
Tabel 4	Ekspresi Caspase-7 pada Model Tikus dengan TON Berdasarkan Kelompok	48
Tabel 5	Perbedaan Ekspresi Caspase-7 pada Model Tikus dengan TON antar kelompok	50
Tabel 6	Densitas sel ganglion retina pada Model Tikus dengan TON Berdasarkan Kelompok	50
Tabel 7	Perbedaan Densitas Sel Ganglion Retina pada Model Tikus dengan TON antar Kelompok	51
Tabel 8	Korelasi ekspresi Caspase-7 dan densitas sel ganglion retina pada Model Tikus dengan TON	52

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
Gambar 1	Gambaran orientasi dari akson sel ganglion retina di lapisan serabut saraf dari retina	9
Gambar 2	Vaskularisasi dari saraf optik dan juga papil saraf optik....	11
Gambar 3	<i>Blood-nerve barrier</i> yang merupakan bentuk pembuluh darah pada papil saraf optik.....	12
Gambar 4	Jalur ekstrinsik dan intrinsik apoptosis.....	24
Gambar 5	Mekanisme aktivase caspase.....	26
Gambar 6	Struktur kimia resveratrol.....	30
Gambar 7	Mekanisme molekular resveratrol dalam sel retina normal yang diinduksi stress oksidatif.....	34
Gambar 8	Gambaran mikroskopik ekspresi caspase-7 dengan imunohistokimia	48
Gambar 9	Gambaran mikroskopik sel ganglion retina dengan pewarnaan H&E.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Lembar persetujuan etik	xxiii
2. Tabel hasil penelitian	xxiv
3. Daftar riwayat hidup penulis	xxviii
4. Dokumentasi saat melakukan penelitian	xxix

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Traumatic optic neuropathy (TON) adalah gangguan saraf optik yang diakibatkan oleh cedera akut dengan gambaran klinis berupa penurunan tajam penglihatan secara mendadak (Kumaran et al, 2015). Prevalensi penyakit ini relatif rendah dan umumnya berhubungan dengan kasus cedera kepala yang berkisar 2 hingga 5 % dari seluruh kasus cedera kepala (Lee AG, et al, 2003). Penelitian yang dilakukan di rumah sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta mendapati 34 kasus TON dalam rentang 2 tahun dengan data demografi yang menyerupai penelitian sebelumnya (Naibaho H, dkk, 2016). Dan di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar, terdapat 51 kasus TON dari rentang waktu Januari 2016-Desember 2018.

Patofisiologi TON melibatkan beberapa faktor yang dihubungkan dengan konsep tentang cedera primer dan cedera sekunder yang menjadi awal kematian sel ganglion retina (Yu-Wai-Man P et al, 2015). Cedera primer umumnya diakibatkan cedera langsung terhadap saraf optik baik penekanan maupun pemotongan jaringan sedangkan pada cedera sekunder adalah mekanisme kerusakan saraf optik yang diakibatkan inflamasi atau gangguan vaskularisasi (Harris JN, et al, 2017; Corredor RG et al, 2009).

Kematian sel ganglion retina dapat terjadi akibat mekanisme apoptosis dan nekrosis. Apoptosis merupakan suatu mekanisme seluler untuk kematian sel yang terprogram namun dapat dipicu oleh beberapa faktor diantaranya seperti iskemia, zat toksik, dan juga radiasi (Corredor RG et al, 2009; Kaur C et al 2015). Dalam banyak

kasus, terjadinya apoptosis mengarahkan pada aktivasi caspase, yang berperan sebagai molekul efektor kematian dalam banyak sel. Pada saat teraktivasi, caspase menguraikan beberapa varietas substrat pada di sitoplasma atau nukleus yang mengarah pada tanda morfologi pada sel apoptosis (Fulda S, et al, 2006).

Caspase merupakan bidang penelitian yang sangat menarik pada kelainan perkembangan, kanker, infeksi, dan penyakit degeneratif. Pentingnya, baik untuk organisme multiseluler dan bagi para peneliti, dapat disimpulkan dari berbagai respons biologis dan perubahan yang berkaitan dengan apoptosis, misalnya perkembangan embrionik, pembaruan dan pergantian sel, dan kematian sel yang disebabkan secara eksternal (bahan kimia, radiasi, dll.). Satu fungsi apoptosis yang banyak dieksplorasi dalam bidang biomedis adalah penghapusan sel kanker sebagai respons untuk stimuli yang menginduksi apoptosis ekstrinsik seperti obat molekul kecil. Dengan apoptosis dalam penelitian, potensi terapi mendalam dari apoptosis telah memungkinkan para peneliti untuk berkembang solusi terapi yang menjanjikan yang berfokus pada kematian sukarela sel menyimpang. Spektrum obat dan terapi yang mengeksplorasi apoptosis telah terbukti efektif melawan penyakit (Xu X, et al 2019).

Sampai saat ini, dua jenis caspases telah ditentukan, yaitu inisiator caspase dan efektor / *caspase executioner*. Seperti disebutkan sebelumnya, caspase-8 dan -9 adalah caspases inisiator sementara caspase 3 adalah caspase efektor. Selanjutnya, caspase lain seperti caspase-2, -10, dan -11 termasuk dalam inisator caspase sedangkan caspase-6 dan -7 termasuk dalam kategori efektor (Xu X, et al 2019; Choudhury S et al, 2015). Sangat sedikit yang diketahui tentang keterlibatan caspase unik, caspase-7, dalam apoptosis sel ganglion retina. Sampai saat ini, kontribusi caspase-7 pada apoptosis neuron masih kontroversial. Sebelumnya,

secara umum diyakini bahwa caspase-7 tidak ditemukan dalam sistem saraf pusat, tidak diaktifkan jika ada, atau bahkan jika diaktifkan, tidak efektif dalam menginduksi apoptosis. Lebih lanjut, karena caspase-7 menunjukkan tingkat homologi yang tinggi dengan caspase-3, spekulasi bahwa caspase-7 hanya berfungsi sebagai versi berlebihan dari caspase-3, dan dengan demikian tidak memainkan peran penting dalam kaskade apoptosis (Choudhury S et al, 2015). Larner dkk, (2015). menunjukkan bahwa caspase-7 diregulasi dan diaktifkan di otak tikus setelah cedera otak traumatis. Tidak seperti caspase lain, hanya caspase-7 yang dapat diaktifkan oleh calpain-1 (Gafni J et al 2009), menunjukkan bahwa caspase-7 mungkin merupakan sensor bersamaan dari disregulasi Ca²⁺, melalui perubahan aktivitas calpain-1, dan aktivasi caspase klasik, dua hal penting dalam proses kematian di sel ganglion retina. Cedera pada saraf optik disebabkan oleh himpitan saraf optik intraorbital, yang memulai onset yang cepat dan perkembangan kematian apoptosis sel ganglion retina. Penurunan caspase-7 secara signifikan baik secara morfologis dan fungsional melindungi dari kerusakan saraf optik akibat kematian sel ganglion retina (Choudhury S et al, 2015).

Resveratrol (3,5,4-trihydroxystilbene) telah diidentifikasi sebagai penghambat karsinogenesis dengan cara pleiotropik. Struktur *stilbenanya* berhubungan dengan sintesis estrogen diethylstilbestrol (Fulda S, et al, 2006; Pervaiz, 2003). Banyak literatur mengenai aktivitas antikanker, dilakukan dalam model seluler, menunjukkan potensi antiproliferatif dan apoptogenik dari *stilbene*. Resveratrol diproduksi oleh spesies anggur dan beberapa spesies tanaman lainnya. Konsentrasi anggur resveratrol berkisar dari 50 hingga 400 mg/g bobot segar dalam daun. Phytoalexin juga disintesis dalam buah dan dalam jaringan tanaman lignin (misalnya pada tangkai dan buah kernel). Konsentrasi resveratrol dalam buah perikarp tinggi dibandingkan dengan yang ada dalam daging. Phytoalexin telah diuji untuk fungsi

terapi putatif mereka baik dalam model eksperimental in vitro dan in vivo. Di antara senyawa-senyawa ini, sejumlah bukti yang dikumpulkan menunjukkan bahwa resveratrol mungkin memiliki kegunaan klinis. Tidak jarang, laporan yang berbeda menggambarkan kegiatan yang bergantung pada resveratrol yang saling bertentangan bahkan menggunakan model seluler yang identik (Cucciolla V,et al 2007).

Beberapa penelitian telah meneliti efek resveratrol pada mata dan gangguan terkait. Mirip dengan efek yang diamati pada penyakit lain, seperti kanker, jantung dan penyakit neurodegeneratif, tindakan biologis utama pada mata meliputi: anti-oksidatif, anti-apoptosis, anti-tumorogenik, anti-inflamasi, anti-angiogenik dan vasodilator. Studi yang menginvestigasi efek ini dan peran potensial mereka dalam perkembangan penyakit mata. Resveratrol secara efektif menurunkan produksi ROS intraseluler (iROS) dan penanda inflamasi seperti interleukin-1 alpha (IL-1a), interleukin (IL) -6, IL-8 dan molekul adhesi-leukosit endotel-leukosit-1 (ELAM-1) (Abu-Amero et al, 2018). Resveratrol berpotensi memiliki peran anti-apoptosis yang signifikan dalam mencegah kerusakan sel-sel trabekular *meshwork* yang secara konsisten diamati pada pasien glaukoma primer sudut terbuka tanpa memiliki efek yang merugikan pada proliferasi sel (Luna C et al, 2009). Resveratrol melindungi terhadap degenerasi retina yang diinduksi cahaya, dengan membalikkan aktivasi protein pengaktif retina-1 (AP-1) dan penghambatan aktivasi SIRT1 yang diatur oleh paparan cahaya. AP-1 mengatur proliferasi sel dan apoptosis; dan ekstrak retina tikus yang diobati dengan resveratrol ditemukan untuk meregulasi ekspresi c-fos, yang pada gilirannya menekan aktivasi AP-1 mencegah kematian sel fotoreseptor. Aktivitas anti-apoptosis resveratrol tampaknya menjadi faktor penting dalam pencegahan penyakit yang bersifat neurodegeneratif, seperti *age macular degeneration* (AMD) (Kubota S, 2017).

Resveratrol berperan dalam menghambat peradangan sel RPE yang disebabkan oleh hiperglikemia in vitro. Studi ini melaporkan bahwa sel yang diobati dengan resveratrol secara signifikan menghambat akumulasi VEGF, TGF-1, cyclo-oxygenase-2 (COX-2), IL-6 dan IL-8 dalam cara yang tergantung pada dosis (Losso JN et al, 2010).

Beberapa penelitian lain juga menunjukkan peran pencegahan potensial resveratrol pada penyakit terkait mata lainnya. Doganay dkk (2006) menunjukkan peran resveratrol terhadap pembentukan katarak yang diinduksi selenite. Pemberian resveratrol ke model tikus endotoxin-induced uveitis (EIU) menunjukkan penurunan yang signifikan dalam kerusakan oksidatif (8-hydroxy-21-deoxyguanosine generation) dan penekanan *NF-kB p65 translocation (NF-kB activation)*, yang mengarah ke efek anti-inflamasi okular (penurunan kadar MCP-1 dan ICAM-1) di retina dan RPE-koroid (Kubota S et al, 2009). Perawatan resveratrol juga telah terbukti menyebabkan kematian dan regresi sel tumor. Resveratrol ditemukan untuk menghambat pertumbuhan tumor melanoma uveal melalui disfungsi mitokondria dini dan aktivasi caspase-3 (Van Gonkel PR et al, 2008). Demikian pula, Sareen (2006) dan rekannya menunjukkan bahwa resveratrol menghambat pertumbuhan garis sel retinoblastoma secara tergantung waktu dan dosis dengan mempromosikan penangkapan fase-S siklus sel dan apoptosis. Dalam penelitian lain, Kim dkk. (2010), telah menunjukkan efektivitas resveratrol sebagai pengobatan potensial dalam model tikus in-vivo dan in vitro retinopati yang diinduksi oksigen melalui jalur termediasi nitrat oksida (NO), menunjukkan peran protektif dalam retinopati prematuritas (ROP) pada bayi yang lahir prematur. Suplementasi resveratrol tidak menunjukkan efek pada neovaskularisasi kornea pada model kelinci percobaan luka bakar alkali (Doganay S et al, 2013). Penelitian mengenai pengaruh resveratrol terhadap saraf mata masih sangat jarang

terutama berkaitan dengan kematian saraf mata akibat trauma, salah satu penyebab kebutaan ireversibel dan belum memiliki regimen terapi yang tetap.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas maka dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut; Bagaimana efek Resveratrol terhadap marker apoptosis caspase-7 dan sel ganglion retina pada model tikus dengan *traumatic optic neuropathy* (TON).

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Menganalisis efek Resveratrol terhadap marker apoptosis caspase-7 dan sel ganglion retina pada model tikus dengan *traumatic optic neuropathy* (TON).

2. Tujuan Khusus

- a. Mengukur ekspresi caspase-7 pada model tikus dengan TON dengan pemberian resveratrol dan kontrol
- b. Menilai sel ganglion retina pada model tikus dengan TON dengan pemberian resveratrol dan kontrol
- c. Menganalisis efektifitas resveratrol terhadap ekspresi caspase-7 dan sel ganglion retina pada model tikus dengan TON

D. Manfaat Penelitian

1. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat memberikan gambaran yang lebih jelas tentang apoptosis oleh caspase-7 dan gambaran sel ganglion retina pada TON.

2. Hasil yang diperoleh diharapkan menjadi faktor prediktor penyakit TON dan menjadi bahan pertimbangan target terapi, khususnya resveratrol, dalam penatalaksanaan TON yang lebih maksimal dan komprehensif.