

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

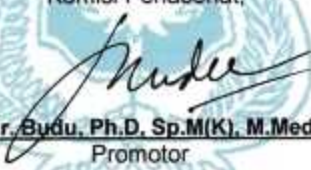
ANALISIS EFEK RESVERATROL TERHADAP MARKER APOPTOSIS CASPASE - 7 DAN SEL GANGLION RETINA PADA MODEL TIKUS DENGAN TRAUMATIC OPTIC NEUROPATHY

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

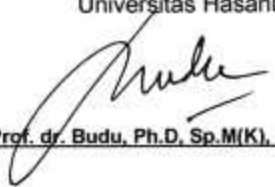

dr. A. Muhammad Ichsan, Ph.D, Sp.M(K)
Ko-Promotor

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 kehadiran 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 Sarifuiddin, 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. E nukleasi 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 hematoxylin 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 Oxygen Species</i>
iROS	<i>Intracellular Reactive Oxygen 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	<i>cyclo-oxygenase-2</i>
IL	<i>Interleukin</i>
EIU	<i>endotoxin-induced uveitis</i>
<i>NF-kB</i>	<i>Necrotizing 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	<i>B cell Lymphoma</i>
ATP	<i>Adenosine triphosphthate</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>Hydrochloric 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 dieksploitasi 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 mengeksploitasi 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 Ca^{2+} , melalui perubahan aktivitas calpain-1, dan aktivasi caspase klasik, dua hal penting dalam proses kematian 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 *stilbenenya* berhubungan dengan sintesis estrogen diethylstilbestrol (Fulda S, et al, 2006; Pervaiz, 2003). Banyak literatur mengenai aktivitas antikanker, dilakukan dalam model seluler, menunjukkan potensi antiproliferasi 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-tumorigenik, 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.

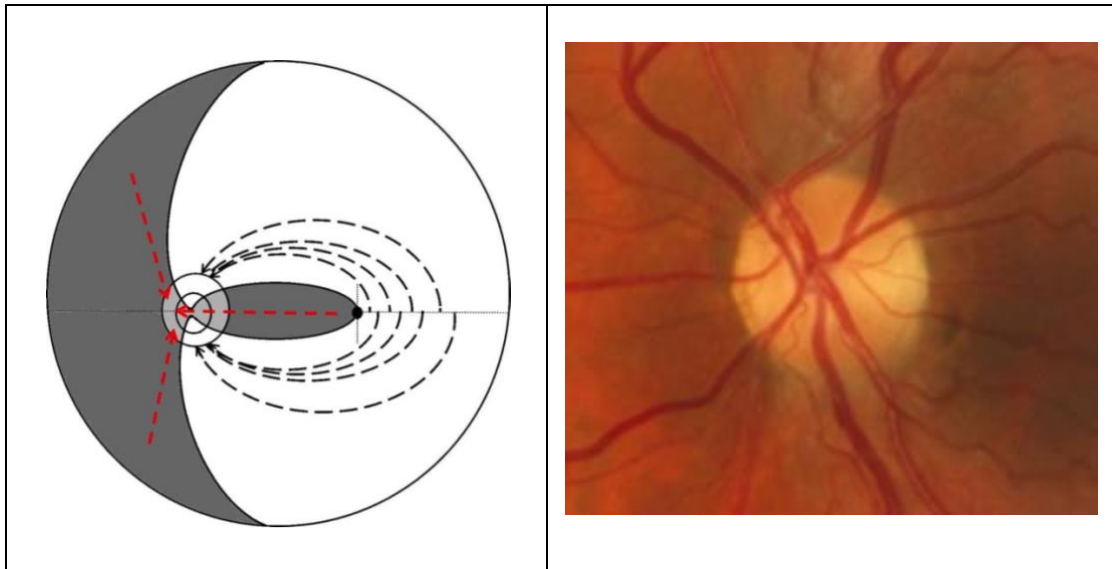
2. Hasil yang diperoleh diharapkan menjadi faktor prediktor penyakit TON dan menjadi bahan pertimbangan target terapi, khususnya resveratrol, dalam penatalaksanaan TON yang lebih maksimal dan komprehensif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. SARAF OPTIK

Saraf optik bermula pada papil saraf optik, jika dilihat dari bagian depan mata. Terdapat bagian dengan ukuran 1 mm dari saraf optik yang berada didalam intarsklera yang juga meliputi lamina kribrosa. Saat tiba di diskus optik, akson dari sel ganglion akan berbelok dari arah vitreus ke dalam diskus optik dan menuju ke otak. Akson yang bermula pada bagian perifer retina akan tersusun di daerah perifer dari saraf optik. Saraf optik memiliki kandungan serabut saraf di daerah perifer dan membentuk suatu struktur yang dinamakan neuroretinal rim, dan dibagian sentral yang dinamakan cup. Bagian cup tidak mengandung akson dari sel ganglion retina. Rasio dari cup dan diskus dapat bervariasi dari 0 hingga 1.0, tergantung dari variasi normal ukuran diskus dan jika telah terjadi penurunan jumlah akibat kerusakan dari suatu keadaan patologis seperti glaucoma (Goldberg JL, 2012).



Gambar 1. Gambaran orientasi dari akson sel ganglion retina di lapisan serabut saraf dari retina mata kiri. Di fovea, terdapat garis vertikal yang membagi jaras dari serabut di nasal (yang menyatu di daerah nasal dari saraf optik) dengan serabut arkuata temporal yang bergabung dengan polus superior dan inferior dari saraf optik. Raphe horizontal terdapat pada aksis horizontal. Daerah abu-abu muda pada diskus membentuk atrofi *bow-tie* (*band/pita*) pada lesi kiasma yang akan membuat neuroretinal rim di arah jam 9 dan 3 menjadi pucat. Gambar. Band atrofi pada papil. Tampak arah jam 3 dan 9 dari papil saraf optik yang pucat (Yaquub M, 2012).

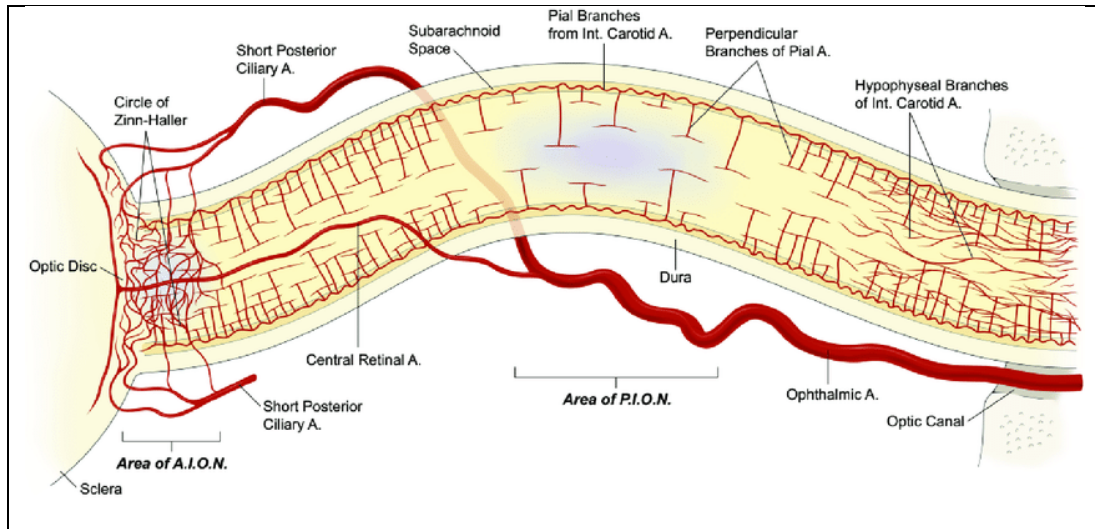
Pada manusia dewasa normal, saraf optik mengandung 1.200.000 axon dari sel ganglion retina saat di hitung secara manual dan secara perhitungan algoritme didapatkan sebanyak 700.000 hingga 1.400.000. Terdapat korelasi yang kuat antara ukuran dari *neuroretinal rim* dan jumlah akson, dan antara jumlah akson dengan skleral kanal pada primata walaupun tingkat korelasinya masih kontroversial. Banyak hal yang mempengaruhi jumlah akson di dalam saraf optik, mulai dari kelainan bawaan hingga penyakit seperti neuropati optik. Selain dari pada itu, terdapat penurunan jumlah sel ganglion retina akibat penuaan yaitu sekitar 5000 akson di setiap tahun (Haerweth RS, Quigly HA, 2006). Sel ganglion retina juga berkurang lebih banyak pada daerah perifer retina dibandingkan dengan daerah makula dan ini dapat menjelaskan mekanisme terjadinya kontraksi makula (Goldberg JL, 2012). Pada tikus, jumlah total dari sel ganglion diperoleh dengan menghirung aksonnya di saraf

optik, pada 300 μ m dari polus posterior yang merupakan daerah serabut saraf bermielin. Rata-rata jumlah serabut saraf tikus adalah 44.860 ± 3.125 . hanya berkisar 5% yang tidak bermielin. (Jeon, CJ et al 1998)

Walaupun jumlah dari akson sel ganglion retina yang memasuki saraf optik terbilang konstan, diameter dari saraf optik sangat bervariasi. Di daerah diskus optik, dimana serabut tidak bermielin, diameter vertikal rerata adalah 1.9 mm (range 1.0-2.0 mm) dan diameter horizontal rerata adalah 1.7-1.8 mm (range 0.9-2.6 mm). Karena jumlah akson yang masuk ke dalam saraf optik tidak terlalu bervariasi dibandingkan dengan ukuran cup dari saraf optik, maka rasio cup dan diskus dapat bervariasi tanpa mengindikasikan adanya penurunan jumlah akson sel ganglion. Diameter dari saraf optik menjadi dua kali lebih besar di daerah posterior dari bola mata karena akson akan termielinisasi (Goldberg JL, 2012).

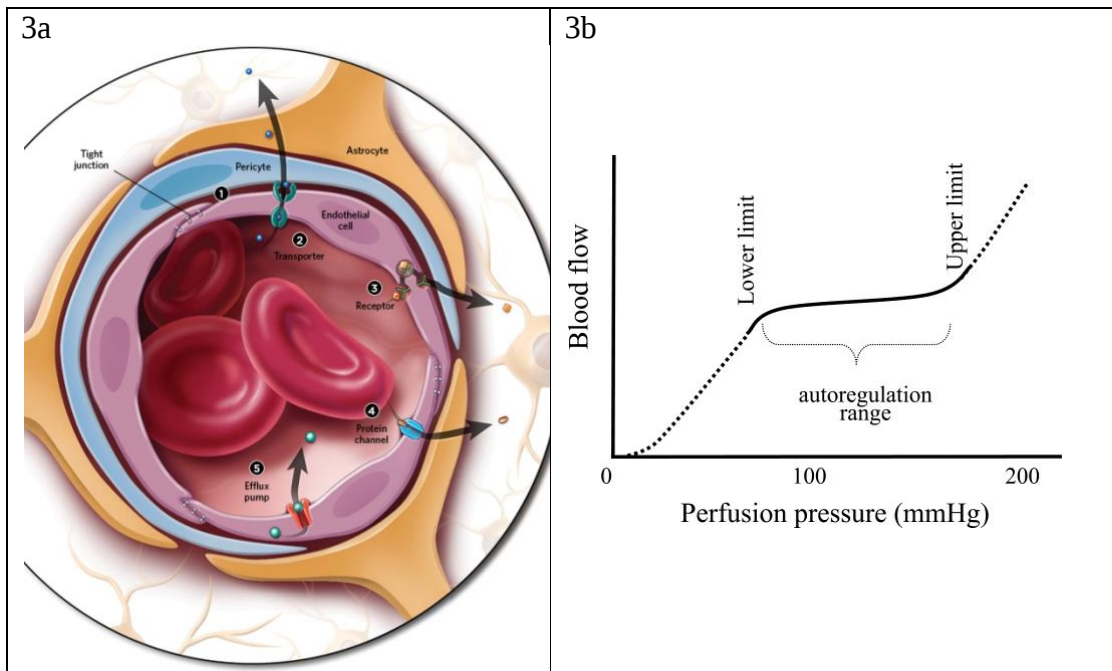
Arteri oftalmika memberikan vaskularisasi utama terhadap retina bagian dalam dan saraf optik. Arteri retina sentralis akan bercabang dari arteri oftalmika intraorbital dan memasuki saraf optik di sekitar 12 mm di belakang bola mata. Di retina, sel ganglion retina dan lapisan serabut saraf diperdarahi oleh cabang kapiler yang berasal dari arteri retina sentralis yang keluar dari saraf optik. Arteri retina sentralis memberikan vaskularisasi yang sedikit pada bagian superfisial dari saraf optik melalui kapiler kecil tetapi tidak memperdarahi saraf optik yang dilewatinya. Cabang dari arteri siliaris posterior longus yang berasal dari arteri oftalmika memperdarahi sebagian besar dari saraf optik dan koroid. Cabang dari arteri tersebut akan mengisi saraf optik secara anterior melalui cabang utama dan posterior melalui arterioler retrograde dari saraf optik. Anastomosis dari cabang arteri siliaris posterior

akan membentuk sirkulus *Zinn-Haller* yang memberikan perfusi utama pada papil saraf optik (Goldberg JL, 2012).



Gambar 2. Memperlihatkan vaskularisasi dari saraf optik dan juga papil saraf optik (Baiq MN et al, 2007).

Berbeda dengan pembuluh darah koroid, pembuluh darah yang ada di papil saraf optik memiliki endotel yang tidak berfenestra dengan *tight junction* dan dikelilingi oleh perisit, sehingga pembuluh darah ini memiliki karakteristik yang sama dengan *blood-brain barrier*. Hanya beberapa molekul saja yang bisa melewatinya. Pembuluh darah di papil saraf optik juga memiliki autoregulasi, yaitu dapat mempertahankan arus volume aliran darah yang melewati untuk terjadinya perfusi walaupun terjadi perubahan intravaskular dan perubahan tekanan bola mata (tekanan intra-okuler). Meskipun pembuluh darah di daerah papil saraf optik memiliki autoregulasi, kebocoran dapat terjadi di daerah koriokapiler melewati batas jaringan Elshtig pada lapisan lamina koroidalis. Kebocoran yang lebih lanjut ke dalam daerah subretina dapat dicegah dengan adanya *tight junction* antara glia yang membentuk jaringan intermedia Kuhnt. *Blood nerve barrier* ini bisa menjadi inkompeten pada kasus inflamasi seperti pada neuritis optik (Goldberg JL, 2012).



Gambar 3a. *Blood-nerve barrier* yang merupakan bentuk pembuluh darah pada papil saraf optik. Terdapat *tight junction* di antara sel endothel pembuluh darah, disertai perisit sehingga membatasi perfusi substansi intravaskuler. Gambar 3b. Kurva autoregulasi yang menunjukkan hubungan antara aliran darah / *blood flow* (BF) tekanan perfusi. Pola utama kurva ini adalah daerah plateu yang merupakan bagian dimana autoregulasi berlangsung dengan efektif. Diluar dari plateu (bagian kurava berbentuk titik-titik) dan disebut juga dengan limit atas dan limit bawah (Liang Y et al 2009).

Di retina, sel ganglion retina menerima impuls sinaptik dari sel bipolar dan amakrin, dan menggunakan glutamat sebagai neurotransmitter eksitatori utama. Neurotransmitter lain adalah GABA, acetyl choline, aspartate, serotonin dan dopamin. Di dalam retina itu sendiri, kadar dari glutamat diatur oleh sel Muller, yang memiliki transport glutamat dan memiliki enzim glutamin sintetase, yang akan merubah glutamat menjadi asam amino glutamin. *Re-uptake* dari glutamat di dalam retina dibutuhkan untuk mempertahankan fungsi sel ganglion retina (Goldberg JL, 2012).

Sepanjang jarak akson dari sel ganglion retina, perlu dipertahankan dengan transpor protein dan konstituen subseluler lainnya yang berada beberapa sentimeter dari *cell body* dimana nukleus dan sebagian besar

pembentukan protein terjadi. Transport aksonal terjadi dengan 2 jarak, yaitu orthograde (menjauh dari *cell body* dan mendekati otak) dan retrograde (menuju *cell body* dan menjauhi otak) (Goldberg JL, 2012).

Kematian sel ganglion retina merupakan penjelasan utama terjadinya penyakit pada saraf optik, termasuk neuropati optik glaukomatous, anterior iskemia optik neuropati, neuritis optik dan kompresif optik neuropati. Pada kebanyakan penyakit yang mempengaruhi akson sel ganglion retina (contohnya glaukoma dan iskemia arteritik) penurunan visus bersifat permanen, membuktikan bahwa kerusakan sel ganglion retina bersifat ireversibel. Pada kasus lain (seperti kompresif optik neuropati kronis, neuritis optik akut, atau papilledema) penurunan visus dapat bersifat reversibel jika kerusakan akson dapat diperbaiki, karena pada dasarnya sel ganglion retina belum mati. Terdapat suatu kurun waktu dimana terjadi gangguan elektrofisiologis pada sel ganglion dan gangguan lapang pandangan yang terjadi sebelum kematian sel (Goldberg JL, 2012).

B. Traumatic Optic Neuropathy (TON)

1. Etiologi dan patomeknisme

TON merupakan komplikasi yang menyebabkan kebutaan pada kasus trauma kepala dan orbital. TON yang paling umum terjadi adalah kerusakan tidak langsung terhadap saraf optik dan dilaporkan sebanyak 2% hingga 5% dari kejadian trauma kepala tertutup (Lee AG et al, 2003; Lee KF et al, 2010). Didefinisikan sebagai kehilangan visual akibat trauma yang terjadi tanpa kelainan funduskopi awal dan tanda-tanda kerusakan jaringan mata atau saraf optik. Cedera tidak langsung ini disebabkan oleh kekuatan benturan yang

ditransmisikan ke saraf optik akibat trauma di bagian orbito-fasial atau kranial. Benturan ini akan menghasilkan gelombang tekanan yang dapat menyebabkan avulsi saraf optik atau TON posterior. Di sisi lain, TON direk disebabkan oleh trauma langsung kepada saraf optik oleh benda tajam, seperti fragmen tulang. Gejala klinisnya dapat bervariasi. Derajat kehilangan penglihatan tidak selalu berhubungan dengan kerasnya trauma. Adanya fraktur pada orbita tidak dapat memprediksi kehilangan penglihatan maupun menentukan prognosisnya (Lee KF et al, 2010).

Sarkies, dkk menjelaskan beberapa variasi dari TON direk, termasuk di antaranya avulsi saraf optik, perdarahan pada selubung saraf optik, dan perdarahan orbita, demikian juga dengan emfisema orbita, sebagai salah satu jenis trauma saraf optik direk. Berbagai variasi trauma optik direk ini dapat diketahui melalui pemeriksaan oftalmoskop atau dengan menggunakan teknik pencitraan lain, seperti ultrasonografi. Contohnya pada avulsi saraf optik yang disebabkan oleh rotasi bola mata dan/atau peningkatan tekanan intraokular. Hal ini menjelaskan bahwa tidak selamanya luka terbuka merupakan tanda suatu TON yang direk. Pada avulsi saraf mata, saraf optik terlepas dari bola mata dan lamina kribrosa terlepas dari pinggiran sklera (Sarkies N, 2004). Walaupun terdapat berbagai macam TON tipe direk, kasus TON tipe indirek ditemukan lebih banyak (Jang SY, 2018).

TON tetap merupakan suatu diagnosis. Dalam artian, harus terdapat riwayat trauma. Adanya kehilangan kesadaran sering dijumpai. Diagnosis TON tidak dapat ditegakkan bila terdapat visus dan fungsi pupil yang normal. Pada pasien trauma, respirasi dan kardiovaskular tetap menjadi prioritas utama. Pada setiap kasus trauma saraf optik, walaupun ringan, disertai trauma kepala.

Dengan demikian, pasien harus dirawat dengan tim yang melibatkan dokter emergensi, ahli bedah trauma, ahli bedah kepala dan leher, ahli bedah saraf, dan ahli mata. Pada keadaan tersebut, pemeriksaan awal pada mata kadang terbatas akibat pertimbangan klinis lain. Pemeriksaan oftalmologi sebaiknya dilakukan secara lengkap pada kesempatan awal. Berikut tanda-tanda klinis yang didapatkan pada TON (Lee AG et al, 2003; Lee KF et al, 2010; Jang SY, 2018) :

- a. Riwayat benturan secara langsung maupun tidak langsung pada kepala, wajah, atau orbita
- b. Kehilangan visus unilateral atau bilateral
- c. Variasi kehilangan tajam penglihatan (mulai dari 20/20 hingga NLP (*No Light Perception*))
- d. Variasi defek lapang pandangan
- e. RAPD (*Relative afferent pupillary defect*), pada kasus unilateral atau bilateral dengan kondisi asimetris
- f. Pada umumnya papil saraf optik tampak normal
- g. Saraf optik yang atrofi (pada kasus lama)
- h. Beberapa eksklusi terhadap penyebab penurunan tajam penglihatan akibat trauma;
 - 1) Ruptur bola mata
 - 2) Katarak traumatik
 - 3) Perdarahan vitreus
 - 4) Ablasi retina

Bagian dari saraf optik yang paling sering terjadi TON adalah bagian kanalikular. Hal ini dijelaskan oleh beberapa penelitian, bahwa gaya benturan

yang terjadi pada rima orbita superior akan ditransfer dan dikonsentrasikan pada atap orbita dan kanalis optikum. Struktur kedua yang paling sering terjadi TON adalah fossa cranial anterior dimana saraf optik berada di dekat lipatan falciform dural (Kumaran AM et al, 2015; Jang SY, 2018).

Chou dkk (1996) mengemukakan bahwa kerusakan saraf optik secara mikroskopis antara lain cedera nekrosis, robekan pada serabut saraf, dan infark pada saraf optik akibat edema kompartemen, perdarahan, trombosis, vasosapsme, perlukaan oleh fragmen tulang, dan robekan pada pembuluh darah dural di kanalis optik. Penelitian eksperimental pada primata menunjukkan degenerasi pada sel ganglion retina terjadi mulai dari 3 minggu setelah pemotongan saraf optik, dengan waktu maksimum 6-8 minggu setelah cedera saraf (Jang SY, 2018).

Kerusakan utama pada TON timbul apabila terjadi kerusakan segera (trauma direk) atau kerusakan akson sel ganglion retina (trauma indirek). Inflamasi dan disfungsi vaskular yang menyertai akan menyebabkan kerusakan lanjut. Walaupun patofisiologi terjadinya kedua mekanisme tersebut tidak sama, pasien sering mengalami keduanya (Kumaran AM et al, 2015).

2. Epidemiologi

Penelitian di Inggris selama 5 tahun terhadap populasi umum melaporkan 121 kasus TON. Dari keseluruhan kasus, 79% adalah laki-laki dengan rata-rata umur 31 tahun, 21% lebih muda dari 18 tahun. Penyebab tersering adalah jatuh (26%), kecelakaan motor (21%), dan kekerasan (21%). Pada kasus trauma, studi selama 20 tahun di pusat trauma terbesar di Canada melaporkan 0,4% dari seluruh kasus trauma (*Injury Severity Score/ISS >12*) menderita TON. Dari jumlah tersebut, 76% adalah laki-laki dengan median usia

33,5 tahun. Seluruh pasien dengan TON menderita cedera kepala (2/3 mengalami cedera kepala dengan *Head injury Abbreviated Score* (HAIS) >4. Namun demikian, hanya 2.3% pasien cedera kepala mengalami TON. Penyebab tersering adalah kecelakaan kendaraan bermotor (63%) (Kumaran AM et al, 2015; Lee AG et al, 2003).

Suatu penelitian retrospektif terhadap pasien pediatrik dengan TON (< 18 tahun, pada 43 mata) menunjukkan hasil yang serupa dengan kasus dewasa.³⁴ Dari keseluruhan kasus, 60% adalah laki-laki, penyebab tersering adalah kecelakaan bermotor (62%) dan cedera olah raga (22%). Sekitar 78% merupakan trauma tumpul. TON iatrogenic adalah kasus yang menyebabkan kebutaan paska operasi. Dapat timbul selama operasi orbital, osteotomi Le Fort I, fiksasi fraktur maksilofasial, dan operasi endoskopi sinus. Pada pasien dengan sinusitis kronis, saraf optik dapat menonjol dan menyebabkan komplikasi pada operasi sinus sphenoid. Dari 260 pasien dengan inflamasi sinus kronis, penonjolan saraf optik ditemukan pada 28% kasus. Dari jumlah tersebut, 12% saraf optik bertakik pada dinding sinus dan 8% saraf optik menembusnya (Kumaran AM et al, 2015).

Beberapa penelitian dilakukan di Indonesia berkaitan TON. Suatu studi deskriptif di rumah sakit Ciptomangunkusumo Jakarta, dari bulan Januari 2014 hingga Desember 2015 menemukan 34 kasus TON. Penyebab tersering adalah kecelakaan bermotor (76%) dan 58,5% pasien datang dengan kebutaan (*no light perception*) (Naibaho dkk, 2016). Studi retrospektif menemukan 51 pasien (57 mata) dengan TON yang datang pada rumah sakit Wahidin Sudirohusodo Makassar dari bulan Januari 2016 hingga Desember 2018. Serta

studi yang dilakukan di rumah sakit Dr. M. Djamil Padang menemukan TON pada 31 kasus selama bulan Mei-Desember 2018.

3. Penatalaksanaan kasus TON

Penanganan TON masih bersifat kontroversial dan berbagai pendekatan telah diajukan. Termasuk terapi konservatif, medika, operatif, dan kombinasi dari beberapa penatalaksanaan. Penyebab dari TON masih tidak dapat didefinisikan, namun 20 hingga 30 persen pasien tanpa terapi dapat mengalami perbaikan seiring waktu (Lee AG et al, 2003; Jang SY 2018). Hughes B (1962) memaparkan 56 kasus neuropati optik iskemik yang tidak diterapi, 44% diantaranya menjadi buta permanen dan 15% mencapai visus fungsional. Kepustakaan mengenai penanganan medis dan operatif pada TON sulit untuk dirangkumkan secara akurat karena variasi dari gejala klinis, modalitas terapi (misalnya terapi steroid, steroid plus operatif, atau operatif saja) Teknik operasi dan pendekatannya, kriteria inklusi dan hasil serta akibat jumlah sampel yang kecil dan bias yang terjadi. Cook (1996) mengulas kasus-kasus TON yang diterbitkan oleh kepustakaan berbahasa inggris dan melakukan meta-analisis dari hasil terapi. Pasien diklasifikasikan ke dalam 4 tingkatan (tabel 1) berdasarkan ketajaman penglihatan dan lokasi dan tipe fraktur. Perbaikan penglihatan secara signifikan terjadi pada pasien yang diberikan penanganan dibandingkan hanya observasi. Tidak terdapat perbedaan antara pasien yang diterapi steroid saja, terapi dekompresi saja ataupun terapi kombinasi keduanya. Prognosis perbaikan visus menurun seiring dengan perburukan grading. Perbaikan visus lebih baik pada pasien tanpa fraktur orbita dan pada pasien dengan fraktur orbita anterior dibandingkan pasien dengan fraktur orbita posterior.

Tabel 1. Tingkatan TON

Grade 1	Visus > 20/200, tanpa fraktur orbita posterior
Grade 2	Visus 20/200 - light perception (LP), tanpa fraktur orbita posterior
Grade 3	Visus No light perception (NLP) atau adanya fraktur orbita posterior dengan visus tersisa
Grade 4	NLP dengan fraktur orbita posterior

(Cook MW et al 1996)

Levin, dkk (1999) melakukan penelitian terhadap 133 pasien dengan TON (127 pasien unilateral dan 6 pasien bilateral). Pasien dirawat mulai 3 hari dari cedera dan difollow-up hingga 1 bulan setelah cedera. Pasien dengancedera unilateral dikategorikan ke dalam 3 grup terapi; (1) grup tanpa terapi, (2) grup terapi kortikosteroid, atau (3) grup dekompresi kanal optik. Grup terapi kortikosteroid dikategorikan berdasarkan dosis awal metil prednisolon atau sejenisnya terdiri dari (1) dosis megadose 55400 mg (40%), (2) dosis sangat tinggi 2000-5399 mg (18%), dosis tinggi 500-1999 mg (16%), dosis sedang 100-499 mg (9%), dan dosis rendah <1000 mg (8%). Penurunan visus berat ditemukan pada sebagian besar kasus. Pendekatan operatif terdiri dari etmoidektomi eksternal (36%), orbitopati medial (12%), endonasal (39%)m kraniotomi (9%) dan non-spesifik (3%). Pada saat follow up, peningkatan visus hingga 53 baris terdapat pada grup terapi operatif (32%), grup tanpa terapi (57%), dan grup steroid (52%). Setelah menyesuaikan dari tajam penglihatan awal, tidak terdapat perbedaan signifikan pada grup-grup ini. Tidak ada indikasi bahwa dosis atau waktu pemberian terapi kortikosteroid, begitu pula waktu operasi yang berhubungan dengan kemungkinan peningkatan visus. Peneliti menyimpulkan bahwa tidak terdapat manfaat yang jelas pada terapi steroid maupun operatif. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pembuktian yang

cukup untuk menyatakan bahwa baik kortikosteroid maupun operasi pada kanalis optik harus dipertimbangkan menjadi penanganan standar pada pasien TON.

Sebuah penelitian untuk melihat efek dari eritropoetin (EPO) intravena terhadap peningkatan visus pada pasien dengan TON dilakukan oleh Entezari, dkk. Penelitian ini dilakukan pada 18 pasien yang didiagnosis dengan TON. Pasien diberi terapi yang terdiri dari tiga dosis 20.000 IU EPO intravena selama 3 hari dalam 14 hari sejak trauma. Pasien yang dimasukkan dalam penelitian hanya pasien dengan traumaindirek, dan seluruh pasien dievaluasi secara neurosurgical dan akan dieksklusi bila terdapat dekompresi. Fungsi visual diamati di awal, 1 dan 3 bulan setelah terapi. Peneliti mendapatkan peningkatan secara signifikan pada visus yang dibandingkan pada visus awal, 1 bulan dan 3 bulan setelah terapi EPO. Kecenderungan peningkatan kemampuan penglihatan warna juga diamati pada 1 dan 3 bulan pasca terapi. Namun hal ini masih sulit untuk diinterpretasi (Chaon BC, Lee MS, 2015; Entezari M et al, 2014).

Penelitian lain oleh Tse dkk (2018) menilai efektifitas Etanercept, suatu penghambat *Tumor Necrosis Factor* (TNF) dalam perannya menjadi neuroproteksi terhadap sel ganglion retina pada kasus TON. TNF berperan penting dalam regulasi fungsi sel imun dan pada sistem saraf pusat, TNF berhubungan dengan proses patofisiologi penyakit neurodegeneratif, termasuk pada mata. Peningkatan produksi TNF dalam sel glia di saraf optik dapat diamati pada pasien dengan cedera saraf optik dan pada pasien dengan neuropati glaukomatous. Pada sisi lain, penurunan reseptor TNF-1 (TNFR-1), menjadikan efek neuroproteksi terhadap sel ganglion retina akibat cedera saraf

optik ataupun iskemia pada retina. Hal ini menyebabkan TNF menjadi kandidat yang menjanjikan dalam terapi pada proses neurodegeneratif seperti TON. Kurangnya randomisasi dan grup kontrol yang relevan menjadikan kedua penelitian ini sulit diinterpretasi, khususnya berkaitan dengan konteks dari penyakit ini yang memiliki kecenderungan dapat membaik secara spontan tanpa intervensi.

C. Apoptosis dan *Traumatic Optic Neuropathy*

Patofisiologi TON melibatkan beberapa faktor dan dihubungkan dengan konsep cedera primer dan sekunder yang menjadi awal kematian sel ganglion retina (Yu-Wai-Man P, 2015). Cedera primer disebabkan oleh trauma langsung terhadap saraf optik baik penekanan maupun pemotongan jaringan saraf sedangkan cedera sekunder disebabkan oleh inflamasi dan gangguan vaskularisasi yang menyertai trauma. Kematian ganglion sel retina terjadi akibat mekanisme apoptosis dan nekrosis. Apoptosis merupakan suatu mekanisme seluler untuk kematian sel yang terprogram namun dapat dipicu oleh beberapa faktor antara lain iskemia, toksis, dan juga radiasi Harris JN, Miller NR, 2017; Corredor RG, Goldberg JL, 2009).

Apoptosis adalah proses fisiologis yang sangat terkontrol dalam organisme multiseluler. Penelitian pada mekanisme molekuler apoptosis mengungkapkan bahwa anomali dalam apoptosis menyebabkan banyak penyakit. Karena itu, faktor terlibat dalam regulasi apoptosis memiliki nilai diagnostik dan intervensi yang luar biasa dalam menyembuhkan penyakit. Apoptosis yang rusak dikaitkan dengan banyak jenis penyakit termasuk

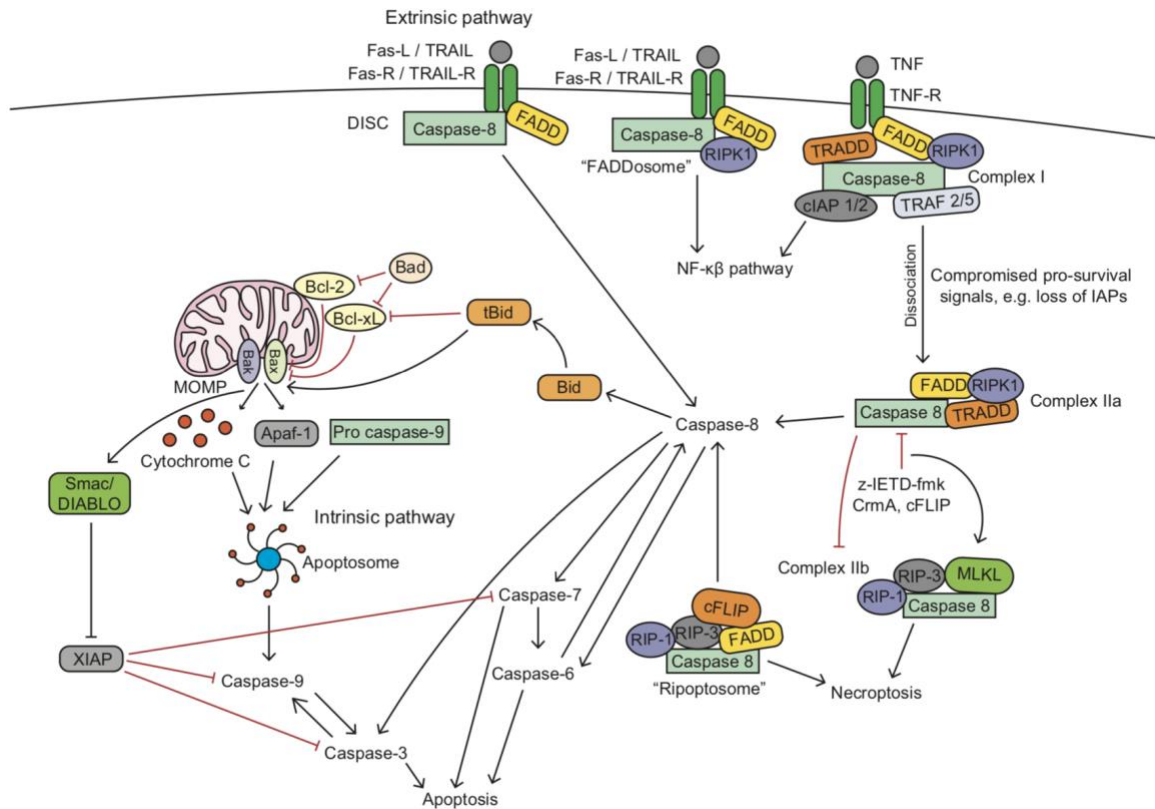
penyakit autoimun, penyakit neurodegeneratif bakteri dan virus, penyakit jantung, dan kanker (Xu X et al, 2019).

Nekrosis merupakan proses kematian sel yang terjadi karena adanya kerusakan sel secara akut akibat faktor eksternal yang ireversibel, contohnya cedera mekanikal atau infeksi toksik. Karakter sel yang mengalami nekrosis ditandai dengan sel dan organelnya seperti mitokondria membengkak (oleh karena rusaknya kemampuan membran plasma untuk mengatur pengeluaran ion dan cairan), cairan sel keluar, dan terjadi inflamasi di sekitar jaringan (Xu X et al, 2019).

Inisiasi apoptosis adalah mekanisme yang diatur dengan ketat. Di tengah proses ini, terdapat protease bernama caspases ("c" dimaksudkan untuk mencerminkan mekanisme protease sistein, dan "aspase" mengacu pada kemampuan mereka untuk membelah asam aspartat, unsur katalitik paling khas dari protease). Sebuah sinyal kematian diteruskan melalui jalur yang pada akhirnya mengarah pada aktivasi caspase yang bertanggung jawab untuk pelaksanaan penghancuran sel. Pada manusia, caspases diekspresikan di mana protease sitosol disintesis sebagai zymogen laten yang menunggu stimulus aktivasi yang tepat. Pada titik awal jalur ekstrinsik adalah ligasi reseptor kematian oleh ligan serumpun. Beberapa pasang interaksi reseptor-ligan telah ditunjukkan untuk mengaktifkan caspases inisiator. Pada permukaan sitoplasma membran, suatu protein kompleks (reseptor TNF diantaranya reseptor Fas/CD95, *Fas-associated protein with death domain* (FADD) serta pro caspase-8) berkumpul membentuk *Death Inducing Signalling Complex* (DISC). Karena DISC adalah perancah sinyal protein, banyak molekul pro-caspase dikumpulkan bersama-sama, dan peningkatan konsentrasi lokal

zymogens diperkirakan menjadi dasar untuk aktivasi caspase-8. Aktivasi caspase-8 selanjutnya memicu pembelahan dan aktivasi caspase-3,-6, dan -7. Selain itu, caspase-8 dapat membelah protein BH3 domain (Bid) salah satu anggota B cell Lymphoma (Bcl)-2 mengubahnya menjadi Bid pendek (tBid) yang berperan dalam jalur intrinsik apoptosis. Hipotesis ini bergantung pada rendahnya zimogenisitas dari kasus inisiator, kecil jumlah aktivitas yang ditampilkan oleh zymogen. Sebagai contoh, pro-caspase 8 adalah 1% aktif seperti enzim dewasa, berbeda dengan caspase 3 yang >10.000 lebih aktif ketika diproses. Hal ini dapat menjelaskan aktivasi zymogen caspase pertama di DISC, dan sinyal sekarang diperkuat dan dikirim ke caspase 3 (Denault JB, Salvesen GS, 2002).

Jalur intrinsik menggunakan mekanisme yang berbeda untuk mengaktifkan caspase 9. Hal ini dapat dipicu oleh sejumlah besar bahan kimia, terutama agen perusak DNA, yang terintegrasi pada tingkat protein oleh Bcl-2 *family*. Peristiwa kunci berikutnya adalah interaksi Bcl-2 dengan mitokondria, diikuti oleh pelepasan sitokrom c. Di hadapan sitokrom c dan ATP, caspase 9 aktivator / kofaktor Apaf 1 membentuk h700 kDa heptamer rosette. Molekul CARD Apaf 1 dikumpulkan di bagian atas struktur dan membentuk titik pertemuan untuk pro-caspase 9. Pro-caspase 9 adalah monomer pada konsentrasi sitosol dan dimerisasi, bukan pembelahan proteolitik dari daerah penghubung yang mengaktifkan caspase inisiator khusus ini (Denault JB, Salvesen GS, 2002; Boartright KM, Salvesen GS, 2003).



Gambar 4 : Jalur ekstrinsik dan intrinsik apoptosis (Thomas CN et al 2017)

Caspases adalah komponen penting dari apoptosis (Tabel 2). 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 (Denault JB, Salvesen GS, 2002; Boartright KM, Salvesen GS, 2003).

Tabel 2. Jenis caspase pada mamalia (Xu X et al 2019)

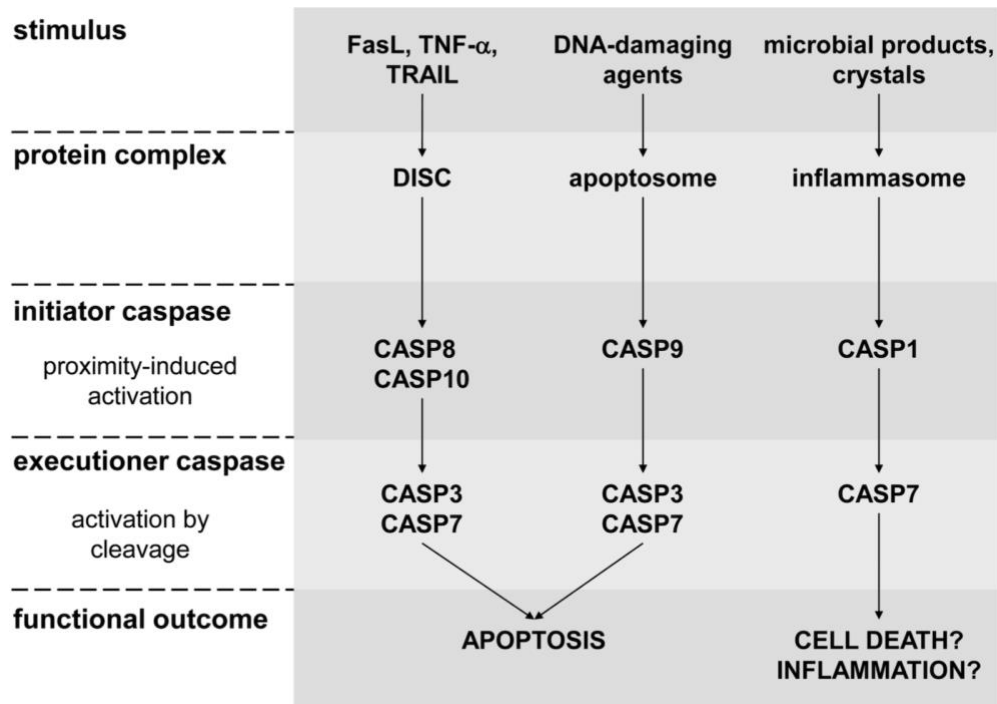
protease	Nama lain	Fungsi dalam apoptosis
Casp- 1	ICE	Pembelahan dari pro-interleukin, berperan dalam apoptosis yang dimediasi reseptor
Casp- 2	ICE- 1	Inisiator atau efektor
Casp- 3	CPP32, Yama, apopain	Efektor
Casp- 4	ICErel-II, TX, TCH-2	Pembelahan dari pro-interleukin
Casp- 5	ICErell-III, TY	Pembelahan dari pro-interleukin
Casp- 6	Mch2	Efektor
Casp- 7	Mch3, ICE-LAP3, CMH-1	Efektor
Casp- 8	FLICE, MACH, Mch5	Inisiator dari kematian reseptor apoptosis
Casp- 9	ICE-LAP6, Mch6	Inisiator
Casp- 10	Mch4	Inisiator dari kematian reseptor apoptosis
Casp- 11	ICH3	Pembelahan dari pro-interleukin, berperan dalam apoptosis yang dimediasi reseptor
Casp- 12		Inisiator apoptosis dimediasi ER
Casp- 13	ERICE	Fungsi belum diketahui
Casp- 14		Proteolisis filaggrin dan proteksi UV
Casp- 15		Fungsi belum diketahui

D. Caspase-7

Cidera aksonal terjadi pada berbagai gangguan sistem saraf pusat. Cedera aksonal berkontribusi terhadap kerusakan saraf pada penyakit dan trauma otak manusia dan sumsum tulang belakang. Demikian pula, cedera pada saraf optik, perpanjangan dari sistem saraf pusat, dikaitkan dengan berbagai penyakit mata dan kelainan, seperti glaukoma, neuropati optik traumatik, neuropati optik iskemik, dan neuropati optik dekompresi. Pada manusia, ada sekitar 1,2 juta akson dalam saraf optik. Mereka berasal dari sel ganglion retina di retina dalam dan bertanggung jawab dalam mentransmisikan sinyal pembentuk gambar dan sinyal lain dari retina ke pusat visual dan sirkadian di otak. Kerusakan akson ini menyebabkan kematian apoptosis sel ganglion retina, dan akibatnya, kehilangan penglihatan dan gangguan ritme sirkadian (Choudhury S et al, 2015; Berson DM, 2002).

Apoptosis sel ganglion retina melibatkan caspases. Caspases adalah keluarga protease sistein yang mengaktifkan jalur apoptosis. Keterlibatan caspases spesifik dalam neuropati optik, glaukoma, dan kematian sel ganglion

retina sebelumnya telah terlibat. Sebagai contoh, pada saraf optik pasien glaukoma, lebih banyak akson yang ditemukan untuk mengekspresikan caspase-3 (Tait SW, Greem DR, 2010).



Gambar 5: Mekanisme aktivasi caspase (Lamkanfi M, Kanneganti TD, 2010)

Demikian pula, aktivasi caspase spesifik terjadi pada retina model hewan dengan trauma saraf optik, glaukoma, dan degenerasi sel ganglion retina:

1. Cedera saraf optik mengaktifkan caspase-2 (Ahmad Z et al, 2011).
2. Axotomy saraf optik mengaktifkan caspases-3, -6, -8, dan -9 di sel ganglion retina (Cheung ZH et al, 2011).
3. Kadar caspases aktif-3, -8, dan -9 yang lebih tinggi ditunjukkan pada retina tikus yang mengalami hipertensi okular kronis (McKinnon SJ et al, 2002).

4. Iskemia / reperfusi retina mengaktifkan kedua caspases-2 dan -3 dengan penurunan yang dilaporkan dalam ekspresi caspase-7 (Produit-Zengaffinen N et al, 2009).
5. Injeksi intravitreal dari kateksin caspase-3 dengan peningkatan aktivitas efektor caspase (Lulli M et al, 2012).

Menariknya, selain caspase-2, penghambatan caspase inisiator lain atau caspase-3 hanya memberikan perlindungan parsial terhadap kematian sel ganglion retina yang diinduksi cedera (Denault JB, Salvesen GS, 2002; McKinnon SJ et al, 2002).

Meskipun penelitian yang dijelaskan di atas, 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 hadir dalam sistem saraf pusat, tidak diaktifkan jika ada, atau bahkan jika diaktifkan, tidak efektif dalam menginduksi apoptosis (Lamkanfi M et al, 2010). Lebih lanjut, karena caspase-7 menunjukkan tingkat homologi yang tinggi dengan caspase-3, berspekulasi bahwa caspase-7 hanya berfungsi sebagai versi berlebihan dari caspase-3, dan dengan demikian tidak memainkan peran penting dalam kaskade apoptosis. Namun, kemudian ditentukan bahwa caspase-7 memotong substrat eksklusif berbeda dari caspase-3, seperti kinectin dan co-chaperone P23. Beberapa penelitian non-okuler lainnya sangat menyarankan bahwa caspase-7 memiliki peran penting, *non-redundant* dalam kematian sel apoptosis dan dalam perkembangan normal. Misalnya, Larner dkk. 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, menunjukkan bahwa caspase-7 mungkin merupakan sensor bersamaan dari disregulasi Ca^{2+} , melalui perubahan aktivitas calpain-1, dan aktivasi caspase klasik, dua hal penting. Kaskade kematian di sel ganglion retina (Larner SF et al, 2015). Dengan demikian, cedera pada saraf optik yang memulai onset yang cepat dan perkembangan kematian apoptosis sel ganglion retina. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa caspase-7, bersama dengan activator calpain-1, diaktifkan dan bahwa substrat caspase-7 selektif, P23 dan kinectin, dihidrolisis. Kami lebih lanjut menunjukkan bahwa sistem gugur caspase-7 secara signifikan baik secara morfologis dan fungsional dilindungi dari kerugian saraf optik-diinduksi sel ganglion retina (Choudhury S et al, 2015).

Sistem Casp7 sebagian melindungi terhadap kehilangan sel ganglion retina yang diinduksi oleh himpitan pada saraf optik dan penipisan ketebalan lapisan retina bagian dalam. Penelitian oleh Choudhury dkk (2015), menemukan bahwa fungsi sel ganglion retina dilindungi oleh sistem Casp7. Dengan demikian, penghambatan aktivitas caspase-7 dapat menjadi strategi terapi baru untuk penyakit neurodegeneratif retina dan saraf optik. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengungkap mekanisme lengkap jalur apoptosis yang tergantung caspase-7 dan independen pada cedera saraf optik yang diinduksi apoptosis sel ganglion retina.

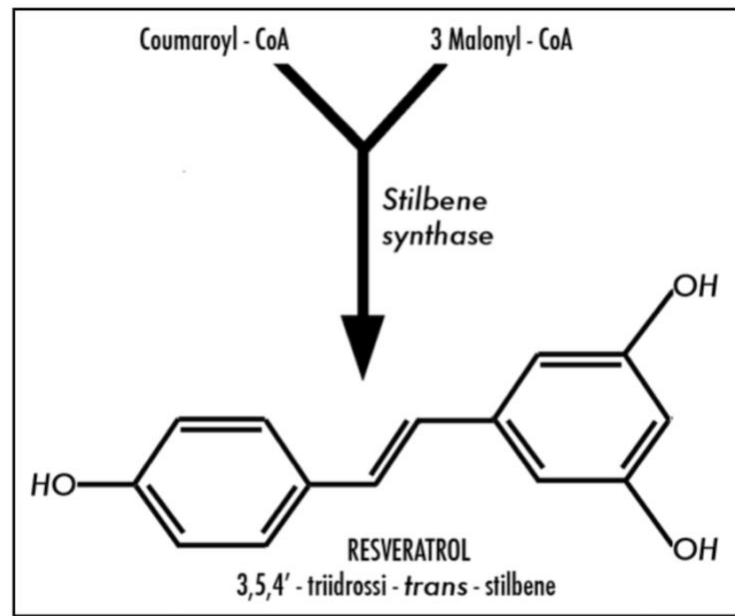
Peran caspase-7 yang telah disebutkan sebelumnya terhadap apoptosis dan inflamasi menunjukkan bahwa intervensi pada aktivasi caspase-7 dapat menguntungkan pada kondisi kematian sel yang berlebihan dengan atau tanpa disertai inflamasi dalam prosesnya. Inhibisi terhadap caspase-7 tampaknya berperan pada penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer dan Huntington,

dimana peningkatan ekspresi caspase-7 berhubungan dengan pesatnya kematian sel neural (Hermel E et al, 2004). Aplikasi potensial lain yang menjanjikan adalah pencegahan kematian sel limfosit pada kejadian sepsis. Penghambat caspase sintetik dan overekspresi protein anti apoptosis Bcl-2 menunjukkan peran terhadap model sepsis. Begitu pula peranan caspase-7 pada kejadian sepsis dan kelainan neurodegeneratif, polimorfisme nukleotida pada caspase-7 dihubungkan dengan arthritis rheumatoid dan diabetes melitus (Hotchkiss RS et al, 2006; Teixeira VH et al, 2008; Babu SR et al, 2003). Penelitian lebih lanjut diperlukan dalam memperluas penemuan dan menemukan mekanisme yang berhubungan dengan caspase-7.

E. Resveratrol

Resveratrol (3,4', 5-trihydroxystilbene) adalah produk alami polifenolik, disintesis oleh berbagai spesies tanaman termasuk anggur, dalam sediaan anggur merah (Fulda S et al, 2006; Cucciolla et al, 2007; Kim SH et al, 2013; Kursvietiene L et al, 2016; Abu-Amero et al, 2018). Struktur stilbenenya berhubungan dengan sintesis estrogen diethylstilbestrol. Sumber makanan resveratrol termasuk kulit anggur, blueberry, raspberry, dan mulberry. Ketertarikan pada resveratrol dimulai dengan "*French Paradox*" yang menggambarkan manfaat kesehatan jantung dari wine merah, yang mengandung resveratrol non-flavonoid konsentrasi tinggi, untuk menjelaskan kejadian yang relatif rendah dari kejadian kardiovaskular di antara populasi Prancis meskipun konsumsi makanan tinggi lemak jenuh (*saturated fat*). Sejak itu, lebih banyak penelitian telah berfokus pada efek biologis resveratrol, menunjukkan bahwa resveratrol memiliki sifat anti-oksidatif dan anti-inflamasi

yang kuat dapat bersifat kardioprotektif, neuroprotektif, kemoterapi, dan menunjukkan efek anti penuaan.



Gambar 6: Struktur kimia resveratrol (Cucciolla et al, 2007)

Resveratrol dapat ditemukan pada makanan dan suplemen. Resveratrol adalah polifenol yang ditemukan pada tanaman. Anggur, wine merah, jus anggur, kacang, kepala, dan berry dari spesies *Vaccinum*, termasuk blueberry, bilberry, dan cranberry adalah sumber yang kaya. Meskipun wine merah merupakan sumber resveratrol yang relatif kaya, polifenol lain hadir dalam anggur merah pada konsentrasi yang jauh lebih tinggi daripada resveratrol, yang hanya merupakan senyawa minor dalam rangkaian polifenol anggur dan anggur lengkap. Banyak sekali analog alami dan sintetik dari resveratrol dan isomernya, bahan tambahannya, turunannya dan konjugatnya telah diketahui. Senyawa ini berbeda dalam jenis struktur, jumlah dan posisi substituen (mis., Hidroksil, metoksil, terhalogenasi, glikosilasi, diesterifikasi), ada atau tidak adanya ikatan rangkap stilbenic, stereoisomery yang dimodifikasi, dan dimerisasi oksidatif untuk membentuk oligomer dan memiliki sifat biologis yang

berbeda. Resveratrol memiliki struktur stilbene, terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh jembatan metilen. Ada dua bentuk resveratrol yang berbeda secara struktural, yaitu cis dan trans-resveratrol. Bentuk utama resveratrol dalam anggur dan jus anggur adalah trans-resveratrol-3-O--glukosida (trans-piceid). Banyak anggur juga mengandung cis-resveratrol dalam jumlah yang signifikan (Fulda S et al, 2006; Cucciolla et al, 2007; Kim SH et al, 2013; Kursvietiene L et al, 2016; Abu-Amero et al, 2018).

Di antara berbagai fungsinya, resveratrol telah terbukti menghambat sinyal kelangsungan hidup seluler. Sebagai contoh, resveratrol dapat mengganggu jalur apoptosis baik dengan secara langsung memicu kaskade sinyal apoptosis dan dengan menghalangi mekanisme antiapoptosis. Dengan memblokir kelangsungan hidup dan jalur antiapoptosis, resveratrol dapat merangsang sel-sel kanker, yang dapat mengakibatkan aktivitas antitumor sinergis ketika resveratrol dikombinasikan dengan agen kemoterapi konvensional atau senyawa sitotoksik (Fulda S et al, 2006; Cucciolla et al, 2007).

Resveratrol sebagai penghambat sinyal kelangsungan hidup sel dan penghambatan jalur antiapoptotik. Karena berpotensi merusak sel bertahan hidup dalam pemicu apoptosis, sel yang tidak tepat dalam program kematian harus dikontrol secara ketat di tempat yang berbeda level. Mekanisme antiapoptotik ini mengatur sel kematian juga telah terlibat dalam mempromosikan tumorigenesis dan resistensi kanker dengan membiarkan sel-sel kanker untuk menghindari kanker program kematian intrinsik sel. Jadi, penghantaran sinyal ke sel kematian sering terganggu pada sel kanker, terutama pada yang resisten. Sel-sel tumor mungkin bertambah resistensi

melalui peningkatan regulasi antiapoptotik atau dengan penurunan regulasi sinyal proapoptosis molekul. IAP seperti survivin diekspresikan pada level tinggi pada banyak tumor dan telah dikaitkan dengan refraktori penyakit dan prognosis buruk (Salvesen GS et al, 2002; Altieri DC et al, 2003). Survivin adalah anggota IAPs, yang dapat berkontribusi pada resistensi tumor oleh memfasilitasi penghindaran dari apoptosis dan mitosis yang menyimpang perkembangannya. Karena IAP memblokir apoptosis pada intinya dengan menghambat caspases modulasi terapi IAP dapat menargetkan titik kunci kontrol dalam menentukan nasib sel dan resistensi terapi (Fulda S et al, 2006).

Apoptosis (mis., Kematian sel terprogram) tampaknya merupakan hal yang paling sering diobati dengan resveratrol. Seperti diketahui, proses apoptosis diaktifkan baik dengan sinyal yang berasal dari dalam sel dan sering melibatkan mitokondria atau dengan keterlibatan reseptor membran spesifik yang menginduksi kematian. Namun, terlepas dari asalnya, apoptosis biasanya ditandai oleh regulasi protease khas intraseluler, yaitu caspases (Xu X et al, 2019).

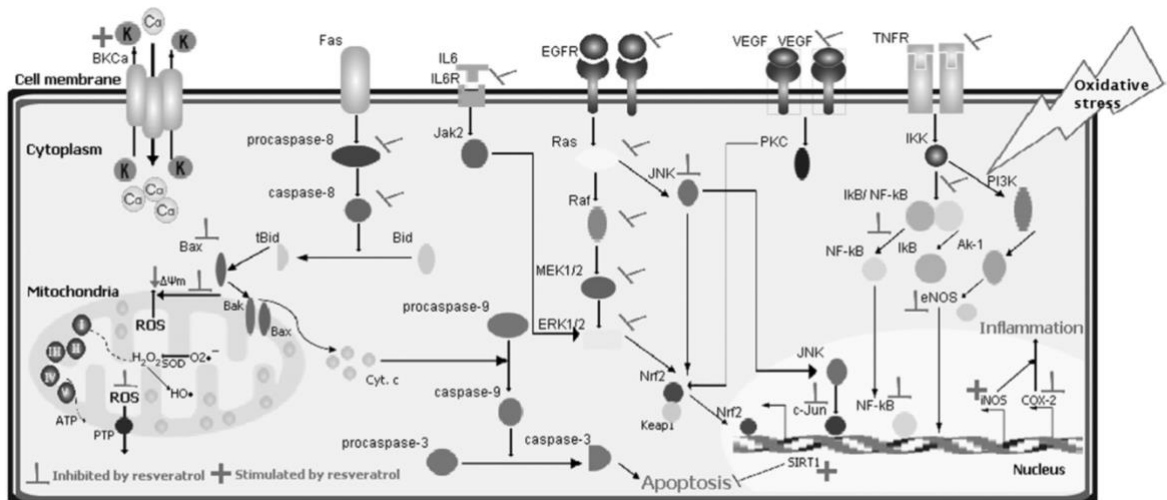
Dari sudut pandang mekanistik, apoptosis yang dimediasi reseptor (atau apoptosis tipe I) melibatkan aktivasi caspase 8 (dan / atau caspase 2) sementara kematian sel terprogram terkait mitokondria (tipe II) menyiratkan caspase 9 (dan / atau caspase 2) fungsi. Telah dilaporkan bahwa resveratrol menyebabkan apoptosis oleh banyak mekanisme. Dalam sebagian besar kasus, phytoalexin menginduksi perubahan menjadi: (1) reseptor kematian sel (yaitu, sistem Fas / CD95); (2) aktivitas mitokondria, dan (3) fungsi p53 (Xu X et al, 2019).

Tabel 3 : Aktivitas biologis dari resveratrol dalam mekanisme in vivo dan in vitro

Aktivitas biologis	Efek	Mekanisme yang dimungkinkan
Anti proliferative	Induksi jeda apoptosis dan/ atau siklus sel	Aktivasi caspase, penghambatan protein Bcl-2, jalur PI3K/Akt/mTOR, factor transkripsi; modulasi siklin dan menyeimbangkan kinase siklin dependen
Anti-angiogenesis	Menghambat pertumbuhan tumor, migrasi sel, invasi dan metastasis	Menurunkan ekspresi leukotrin B4 dan matiks metalloproteinase (khususnya MMP9)
Anti-oksidasi	Menghambat <i>reactive oxygen species</i> (ROS)	Induksi <i>superoxide dismutase</i> , katalase, glutathione peroxidase-1
Endotelial	Meningkatkan aktivitas dan/ atau ekspresi <i>endothelial nitric oxide synthase</i> (eNOS)	Melalui 5'-adenosin monofostat mengaktifkan protein kinase (AMPK)
Anti-inflamasi	Menghambat kerusakan DNA dan regulasi tambahan dari IL-6 dan TNF- α Mengurangi ekspresi dari ICAM-1 dan VCAM-1	Melalui aktivasi SIRT1 Menghambat jalur sinyal dari P38 MAPK
Anti-platelet	Menghambat aktivasi dan agregasi platelet	Menghambat jalur p38 MAPK dan mengaktifkan NO/ <i>cyclic guanosine monophosphate</i> menyebabkan hambatan aktivasi fosfolipase C dan/ atau protein kinase C
Pro-proliferatif dan neurogenesis	Menghambat apoptosis, stress inflamasi dan oksidatif; meningkatkan kemampuan bertahan dari sel neuronal dan kognitif	Regulasi HO-1 dan proliferator peroksisom yang mengaktifasi <i>gamma coactivator 1 alpha</i> (PCG-1a)

(Abu-Amero et al, 2018)

Banyak 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 termasuk glaukoma, katarak, degenerasi makula terkait usia dan retinopati diabetes. Luna dkk (2009) meneliti efek terapeutik dari pemberian resveratrol suplemen makanan pada ekspresi penanda glaukoma dalam sel *trabecular meshwork* yang mengalami *chronic oxidative stress*. Studi ini menunjukkan bahwa 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).



Gambar 7: Mekanisme molekular resveratrol dalam sel retina normal yang diinduksi stress oksidatif (Pintea AM, Rugina DO, 2014).

Pada sel retinoblastoma tipe Y79 manusia, resveratrol memicu pelepasan sitokrom C dari mitokondria setelah 24 jam terapi. Terapi resveratrol juga menginduksi aktivasi caspase-9 dan-3. Sehingga resveratrol menghambat proliferasi sel Y79, menginduksi penghentian pertumbuhan fase S, dan menstimulasi apoptosis melalui aktivasi jalur instrinsik mitokondria, mengindikasikan resveratrol berperan sebagai terapi adjuvant untuk retinoblastoma. Resveratrol menekan Bax di sitoplasma sehingga melindungi sel retina normal E1A-NR-3 dari kematian yang disebabkan oleh antibodi antiretinal (Sareen D et al, 2006).

Sebuah studi baru-baru ini oleh Pirhan dan rekannya menyelidiki efek pemberian riluzole dan resveratrol sendiri atau dalam kombinasi pada kelangsungan hidup sel ganglion retina terhadap tikus percobaan model glaukoma. Namun, mekanisme perlindungan saraf yang tepat belum diketahui. Penelitian ini termasuk kelompok awal (dimulai dengan induksi glaukoma) dan akhir (tiga minggu setelah glaukoma) kelompok yang diobati dengan riluzole dan resveratrol, di samping kelompok kombinasi riluzole dan resveratrol awal

bersama dengan glaukoma dan kelompok kontrol diikuti selama periode enam minggu. Studi ini menunjukkan bahwa terapi riluzole dan resveratrol menawarkan efek neuro-protektif yang signifikan pada kelangsungan hidup sel ganglion retina dalam model eksperimental glaukoma. Selanjutnya, terapi yang dimulai pada fase awal ditemukan lebih efektif daripada pengobatan terlambat seperti yang ditunjukkan oleh jumlah kepadatan sel ganglion retina untuk kedua agen. Selain itu, penggunaan kombinasi kedua agen ini dikaitkan dengan tingkat kelangsungan hidup sel ganglion retina yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan monoterapi riluzole atau resveratrol. Mekanisme yang tepat di mana riluzole dan resveratrol menghasilkan perlindungan saraf pada glaukoma tidak jelas, namun, berdasarkan efek yang diamati dalam terapi kombinasi, dihipotesiskan bahwa kemampuan neuroprotektif mungkin sebagai akibat dari mekanisme aksi aksi riluzole dan resveratrol yang berbeda, kapasitas bertindak pada berbagai tahap cedera glaukoma atau efek sinergis dari dua agen pada eksitotoksisitas dan neuromodulasi (Pirhan et al, 2015).

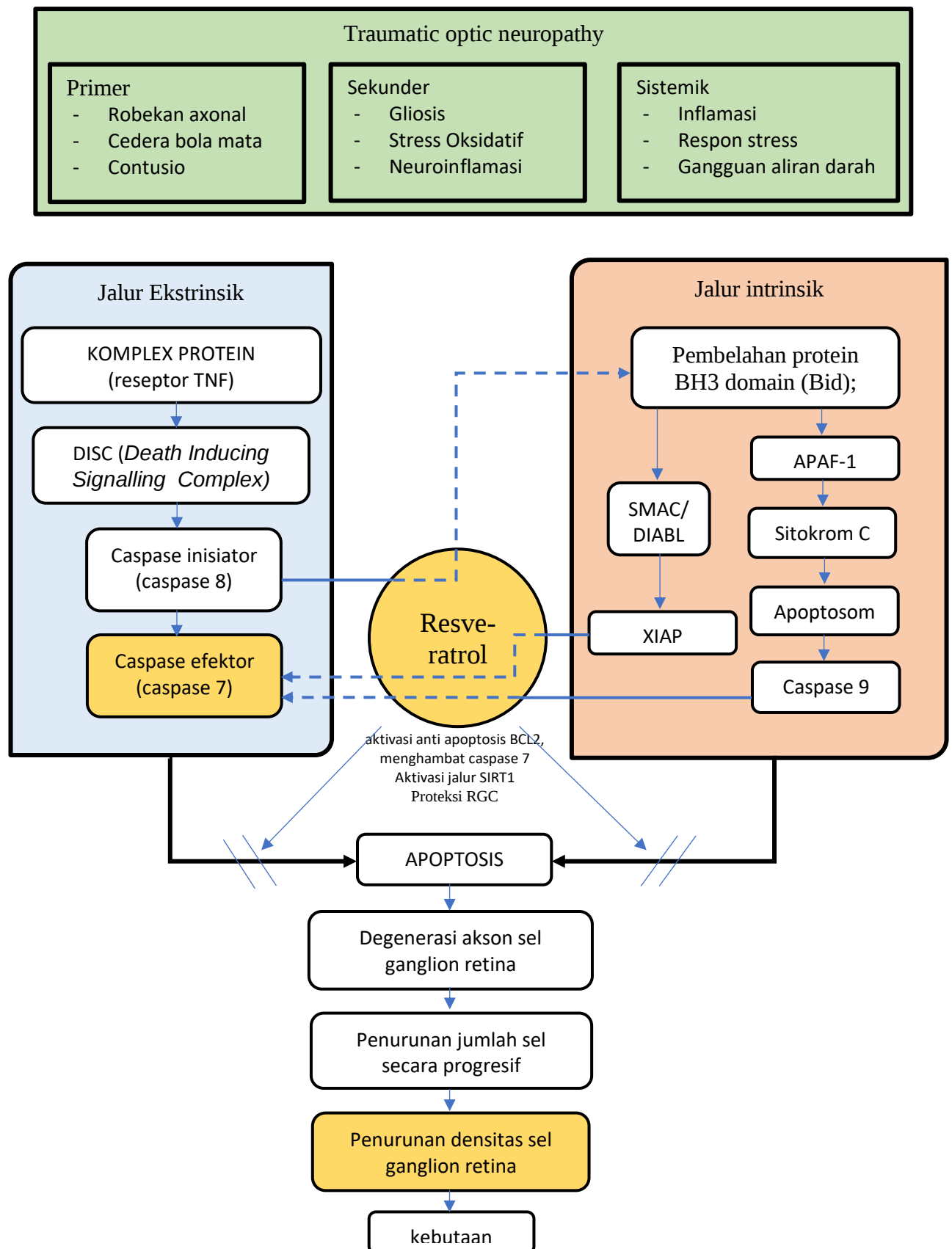
Beberapa penelitian juga menunjukkan peran pencegahan potensial resveratrol pada penyakit terkait mata lainnya. Doganay dkk (2006) menunjukkan peran resveratrol pada tikus terhadap pembentukan katarak yang diinduksi selenite dengan merangsang peningkatan kadar *glutathione* tereduksi (GSH) dan mengurangi konsentrasi *malondialdehyde* (MDA), penanda peroksidasi lipid, pada lensa tikus dan eritrosit. Pemberian resveratrol ke model tikus *endotoxin-induced uveitis* (EIU) menunjukkan penurunan yang signifikan dalam kerusakan oksidatif (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine generation) dan penekanan *NF- κ B p65 translocation* (*NF- κ B 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 Ginkel 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.

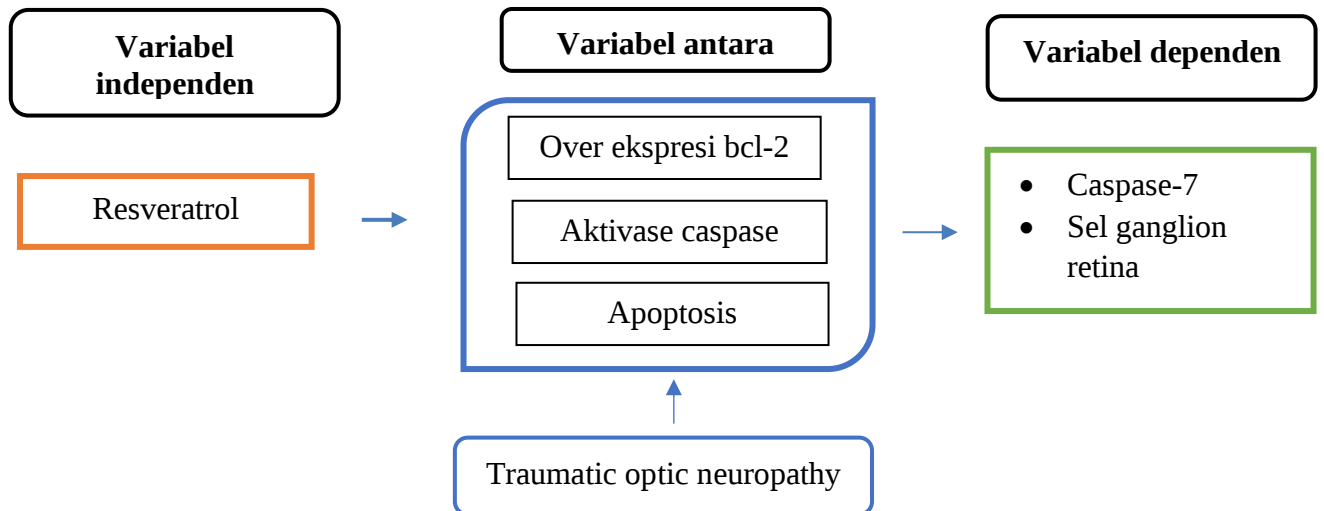
Kim dkk (2013), meneliti efek neuroprotektif dari resveratrol terhadap sel ganglion retina setelah transeksi saraf optik. Peneliti menemukan bahwa reseveratrol menghambat kehilangan sel ganglion retina yang bergantung pada dosis (dose-dependent). Resveratrol memiliki efek neuroprotektif melalui berbagai jalur. Salah satunya adalah jalur SIRT1 (NAD⁺-dependen deacetylase) dan jalur antioksidan yang melindungi dari stress oksidatif dan hambatan pada aktifitas Na⁺K⁺ATPase, yang mana dapat melindungi dari kehilangan sel neuronal. Pada penelitian ini, efek neuroprotektif dari resveratrol timbul melalui jalur SIRT1 berdasarkan efek hambatan sirtinol, suatu inhibitor SIRT1. Namun demikian, penelitian lebih lanjut terhadap hambatan SIRT1 secara genetik perlu dilakukan. Mekanisme spesifik SIRT1 memediasi kelangsungan sel ganglion retina masih belum jelas. Karena proses apoptosis

menjadi mediasi hilangnya sel ganglion retina pada model transeksi saraf optik, protein apoptosis dapat menjadi kandidat target SIRT1-mediator neuroproteksi. Penemuan ini menunjukkan potensi efek terapeutik resveratrol dalam mengobati penyakit saraf optik.

F. Kerangka Teori



G. Kerangka Konsep



H. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, maka diajukan hipotesis pada penelitian ini, yaitu :

- Ekspresi caspase-7 pada TON lebih rendah pada model tikus dengan TON yang diberikan resveratrol dibandingkan kontrol
- Densitas sel ganglion retina pada TON lebih tinggi pada model tikus dengan TON yang diberikan resveratrol dibandingkan kontrol