

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Glaukoma adalah penyebab utama kehilangan penglihatan ireversibel di seluruh dunia, akibat gangguan progresif kronis pada saraf optik di mata. Penyakit ini memberikan gambaran klinis berupa degenerasi saraf optik dan sel ganglion retina yang progresif, penipisan dari *retinal nerve fiber layer*, dan pencekungan diskus optik (Weinreb *et al.*, 2014). Menurut *International Agency for the Prevention of Blindness* (IAPB), mayoritas orang dengan glaukoma bermukim di Asia Selatan dan Timur. Prevalensi glaukoma di Indonesia adalah 0,46% yang artinya 4-5 dari 1.000 orang menderita glaukoma, menurut Riskesdas. (Infodatin Kemenkes RI, 2019)

Glaukoma merupakan suatu kelompok penyakit yang ditandai dengan neuropati optik yang berhubungan dengan kematian sel ganglion retina atau *Retinal Ganglion Cells* (RGCs) dan kehilangan fungsi penglihatan yang progresif (AAO section 10, 2021-2022). Peningkatan tekanan intraokular (TIO) merupakan faktor risiko penting terhadap progresifitas glaukoma, sehingga saat ini menurunkan TIO menjadi fokus utama dalam penatalaksanaan glaukoma (Vecino E, *et al.*, 2011).

Pada glaukoma, RGCs mengalami apoptosis apabila terjadi gangguan hubungan dengan aksonnya atau bila akson terganggu hubungannya dengan target di intrakranial. Apoptosis RGCs mulai terjadi dalam beberapa jam sampai beberapa hari dan terapi neuroproteksi berperan mencegah terjadinya apoptosis pada pasien glaukoma (Aref *et al.*, 2014). Terjadinya apoptosis RGCs merupakan kerusakan akhir pada glaukoma. Dalam proses apoptosis caspase-3 dan -7 bertindak sebagai

eksekutor dari serangkaian reaksi cascade aktivitas proteolitik berupa pencernaan struktur protein di sitoplasma dan penghancuran kromosom DNA. Sel yang mengalami apoptosis akan tampak berwarna kecoklatan sebagai bentuk ekspresi Caspase-3 (Vecino E et al, 2011; Sahbu N et al, 2008).

Masyarakat Indonesia saat ini sangat marak menggunakan pengobatan alternatif berupa pemanfaatan bahan alami untuk menangani berbagai macam penyakit baik berupa tanaman herbal dalam negeri maupun tanaman herbal luar negeri seperti *Chinese herbal medicine* atau *Arabian herbal medicine* yang salah satunya adalah penggunaan biji jintan hitam (*Nigella sativa*) atau yang dikenal juga dengan istilah *black cumin* dan *habbatussauda*. Tanaman ini diyakini memiliki khasiat terhadap berbagai aktivitas biokimiawi pada tingkat seluler (Rohman et al, 2019).

Tanaman jintan hitam secara taksonomi berasal dari famili *Ranunculaceae* dan merupakan tanaman obat yang banyak digunakan sebagai pengobatan alternatif di seluruh dunia. Tanaman ini sangat populer di berbagai sistem terapi tradisional seperti Unani dan Tibb, Ayurveda dan Siddha (A. Ahmad et al., 2013). Studi ekstensif pada tanaman jintan hitam juga telah dilakukan oleh berbagai peneliti dalam spektrum yang luas, bahkan efek farmakologisnya telah dieksplorasi dan dilaporkan dalam berbagai literatur ilmiah diantaranya termasuk memiliki peran sebagai antidiabetes, antikanker, imunomodulator, analgesik, antiinflamasi, bronkodilator, renalprotektor, spasmolitik serta antioksidan (Rohman et al., 2019).

Dalam penelitian lain, konstituen aktif utama dari jintan hitam yaitu *thymoquinone* diyakini sangat efektif secara medis untuk menangani berbagai penyakit termasuk penyakit kronis seperti gangguan kardiovaskular, kanker, diabetes, kondisi

peradangan, infertilitas serta penyakit saraf dan mental (Yimer et al., 2019). Bahkan, penelitian oleh Seghatoleslam et al., (2016) dengan menggunakan hewan coba yang menginduksi kejang berulang pada tikus menunjukkan bahwa ekstrak hidro-alkohol jintan hitam dapat mencegah kerusakan saraf, gangguan konsentrasi belajar dan memori. Hasil ini mendukung kepercayaan tentang efek menguntungkan dari tanaman jintan pada sistem saraf. Meski demikian, studi lebih lanjut diperlukan untuk menentukan dan mengkonfirmasi efek perlindungan tersebut (Seghatoleslam et al., 2016).

Penelitian tentang glaukoma sebelumnya telah banyak menggunakan berbagai jenis hewan model dengan beragam cara induksi antara lain penggunaan laser, kauterisasi vena episklera, injeksi cairan hipertonik pada tingkat intraokular dan penggunaan kortikosteroid. Pemilihan kelinci sebagai hewan model memungkinkan hasil penelitian yang sangat baik, mengingat kemiripan anatomisnya dengan manusia dan prosedur pembedahan yang sama dapat diterapkan seperti yang umumnya dilakukan pada manusia (Ignacio Tartara, 2018).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti akan menguji efek pemberian ekstrak jintan hitam pada kelinci yang diinduksi glaukoma. Dalam penelitian ini diharapkan akan ditemukan suatu telaah klinis maupun laboratoris mengenai gambaran perubahan densitas sel ganglion retina akibat glaukoma dalam jangka waktu tertentu serta efek neuroprotektif dari ekstrak jintan hitam. Selain itu, hasil penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan rekomendasi mengenai pilihan tambahan terapi yang dapat diberikan pada pasien glaukoma untuk mencegah perburukan lebih lanjut.

1.2. Rumusan masalah

1. Bagaimana efek pemberian ekstrak *Nigella sativa* terhadap densitas sel ganglion retina pada kelinci model glaukoma?
2. Bagaimana efek pemberian ekstrak *Nigella sativa* terhadap ekspresi Caspase-3 dan -7 di sel ganglion retina pada kelinci model glaukoma?
3. Berapa dosis optimal pemberian ekstrak *Nigella sativa* dalam mengurangi progresivitas glaukoma pada kelinci model?

1.3. Tujuan penelitian

1. Untuk menilai efek pemberian ekstrak *Nigella sativa* terhadap densitas sel ganglion retina pada kelinci model glaukoma
2. Untuk menilai efek pemberian ekstrak *Nigella sativa* terhadap ekspresi Caspase-3 dan -7 di sel ganglion retina pada kelinci model glaukoma
3. Untuk mengetahui dosis optimal pemberian ekstrak *Nigella sativa* dalam mengurangi progresivitas glaukoma pada kelinci model

1.4. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa:

1. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran bagi pembaca mengenai efek pemberian ekstrak *Nigella sativa* terhadap perubahan sel ganglion retina dan ekspresi Caspase-3 dan -7 pada kelinci model glaukoma.

1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar bagi peneliti untuk melakukan pengembangan penelitian serupa yang menggunakan variabel Glaukoma dan *Nigella sativa* sebagai variabel penelitian.

2. Manfaat Klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan evaluasi klinis bagi para tenaga medis (dokter) dalam menilai perkembangan penyakit atau mengevaluasi efektivitas progresivitas penyakit glaukoma pada pasien dengan menggunakan *Nigella sativa*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Glaukoma

Glaukoma adalah kelainan pada saraf mata yang ditandai dengan neuropati optik disertai hilangnya lapang pandang yang khas dengan peningkatan tekanan intraokular sebagai faktor risiko utama. (AAO section 10, 2021-2022). Berdasarkan prediksi penelitian-penelitian sebelumnya, sebanyak 118,8 juta orang akan mengalami glaukoma pada tahun 2040 yang sebagian besar di benua Asia dan Afrika. Di Indonesia, terjadi pertambahan jumlah kasus baru pasien rawat jalan glaukoma dari 32.027 orang pada tahun 2015 menjadi 80.548 orang pada tahun 2017 (Infodatin Kemenkes, 2019).

Terdapat empat mekanisme yang menyebabkan kerusakan saraf mata pada glaukoma yaitu eksitotoksisitas glutamat, gangguan transportasi faktor neurotropik, mekanisme proteksi neuron, dan faktor genetik. Efek eksitotoksisitas glaukoma ini diduga karena pada orang dengan glaukoma, ditemukan konsentrasi glutamat dalam jumlah yang tinggi pada mata bagian dalam. Kemudian, gangguan transportasi faktor neurotropik yang merupakan faktor yang penting untuk meregulasi pertumbuhan dan diferensiasi neuron juga dapat terjadi karena peningkatan tekanan intraokular. Penurunan jumlah faktor neurogenik akan menyebabkan apoptosis pada sel ganglion retina. Mekanisme proteksi pada sel saraf yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel saraf itu sendiri diduga disebabkan oleh aktivitas sel-T. Selain itu, terdapat juga

penelitian yang menemukan bahwa orang dengan glaukoma cenderung memiliki mutasi pada gen di lokus-lokus tertentu (Shahida & Qadir, 2020).

Faktor-faktor risiko yang dapat menyebabkan glaukoma yaitu umur, ras, miopia, gangguan tekanan darah sistemik, migrain, *pigmentary dispersion syndrome*, *pseudoexfoliation syndrome*, *obstructive sleep apnea syndrome*, diabetes, merokok, peningkatan tekanan intraokular dimediasi obat, dan paparan fluktuasi peningkatan tekanan intraokular. Usia yang tua menyebabkan kerentanan tubuh seseorang untuk menderita penyakit degeneratif. Apabila muncul suatu penyakit degeneratif, maka akan semakin tinggi risiko untuk menderita penyakit degeneratif lainnya. Hal ini juga terjadi pada glaukoma. Orang yang memiliki glaukoma cenderung telah mengalami penyakit degeneratif lainnya seperti hipertensi, diabetes, migrain, dan *sleep apnea syndrome*. Penelitian juga menemukan bahwa orang dengan jenis kelamin laki-laki memiliki risiko yang lebih tinggi untuk menderita glaukoma. Gangguan tekanan darah sistemik juga menyebabkan glaukoma contohnya penurunan tekanan diastolik. Tekanan diastolik yang menurun menyebabkan rendahnya tekanan perfusi yang kemudian menyebabkan stres oksidatif pada sel ganglion retina. Interaksi antara beberapa obat juga dapat memicu glaukoma misalnya *angle-closure glaucoma* yang disebabkan oleh blok pupil akibat penggunaan obat adrenergik seperti obat berbasis sulfur. Peningkatan puncak TIO dalam siklus 24 jam juga ditemukan pada orang dengan glaukoma. Terdapat beberapa aktivitas yang dapat meningkatkan TIO yaitu postur tidur, menyipitkan mata, menyeka mata, posisi tubuh terbalik, memakai kacamata renang, serta mengenakan kemeja atau dasi yang ketat pada leher. Ketika TIO meningkat, terjadi kompresi lamina cribrosa yang kemudian menyebabkan

kerusakan pada akson *retinal nerve fiber layer* (RNFL) pada lamina cribrosa (McMonnies, 2017).

Patofisiologi glaukoma merupakan proses peningkatan TIO yang kemudian menginduksi mekanisme kerusakan saraf. Pada mata, terdapat sekelompok sel epitel non-pigmen pada korpus siliaris yang menghasilkan cairan yang disebut *humor aqueous* yang berfluktuasi sesuai ritme sirkadian. Cairan ini memiliki sistem drainase pertama melalui pupil dan melalui anyaman trabekular anterior ke *scleral spur* dan insersi iris kemudian ke kanal *Schlemm* dan selanjutnya ke vena episklera dan sistem vena orbita yang lebih besar ke dalam sirkulasi vena sistemik. Anyaman trabekular ini terdiri dari beberapa lapisan jaringan ikat serta endotel di kanalis *Schlemm*. Aliran keluar cairan melalui jalur ini bergantung pada tekanan dan berfungsi sebagai katup satu arah untuk drainase cairan. Sebaliknya, jalur aliran keluar uveosklera, memungkinkan aliran keluar *humor aqueous* melalui permukaan dari otot siliaris dan pangkal iris ke dalam ruang supraciliaris dan suprachoroidal. Seiring waktu, terjadi penurunan aliran *humor aqueous* melalui saluran ini sedangkan produksi cairan dari korpus siliaris hanya menurun sedikit. Ketidakseimbangan antara produksi dan pengeluaran *humor aqueous* menghasilkan peningkatan TIO rata-rata serta menghasilkan fluktuasi TIO harian yang lebih besar. Peningkatan TIO yang berkepanjangan selanjutnya menyebabkan atrofi dan kematian serabut saraf (Dietze et al, 2022).

Berdasarkan patofisiologinya, glaukoma dapat diklasifikasikan menjadi empat yaitu *primary open angle glaucoma* (POAG), *primary angle-closure glaucoma* (PACG), *secondary open-angle glaucoma* (SOAG), dan *secondary angle-closure*

glaucoma (SACG). Pada POAG, sudut ruang anterior antara iris terbuka tetapi *humor aqueous* tidak dapat didrainase secara efisien karena sklerosis pada anyaman trabekular. Glaukoma jenis ini merupakan jenis glaukoma progresif kronik yang biasanya hanya berdampak pada penurunan bidang pandang dan hanya paling sedikit 30% kerusakan pada serat saraf. PACG terjadi ketika terjadi penyempitan pada sudut anterior antara iris dan kornea sehingga menghalangi aliran *humor aqueous*. SOAG dan SACG memiliki patofisiologi yang hampir sama dengan POAG dan PACG hanya saja pada kasus glaukoma sekunder, glaukoma didahului oleh kelainan pada anyaman trabekular yang dapat disebabkan oleh penyakit, intervensi, maupun tatalaksana tertentu (Dimitriou & Broadway, 2013).

Pada umumnya, baik *angle-closure glaucoma* maupun *open-angle glaucoma* tidak bergejala. Terkadang pasien akan mengalami penurunan ketajaman visual terutama pada pagi hari. Saat ini pada *angle-closure glaucoma* juga dapat terjadi nyeri mata yang hebat, mual, sakit kepala, penglihatan kabur, dan muntah. Pada glaukoma yang terjadi secara kongenital, gejala akan tampak pada beberapa bulan pertama setelah kelahiran yaitu mata merah, penglihatan yang berawan, sensitivitas tinggi terhadap cahaya, serta pembesaran pada salah satu atau kedua mata (Shahida & Qadir, 2020).

Terdapat tiga pemeriksaan penunjang untuk glaukoma yaitu tonometri, pakimetri, dan gonioskopi. Tonometri merupakan teknik mengukur tekanan mata dengan memperkirakan kepadatan permukaan mata. Untuk pemeriksaan ini digunakan tonometer yang memiliki sensor yang ditempatkan melawan permukaan depan mata. Pakimetri merupakan pemeriksaan yang digunakan untuk mengukur

ketebalan kornea dengan menyentuhkan secara ringan ujung pakimeter ke permukaan kornea. Gonioskopi merupakan pemeriksaan yang digunakan untuk mengamati daerah drainase dan sudut drainase mata (Shahida & Qadir, 2020).

Tatalaksana glaukoma memiliki tiga jenis yaitu pengobatan topikal, terapi laser, dan operasi glaukoma. Penelitian menunjukkan bahwa obat-obatan topikal yang memiliki efek penurunan TIO yang paling tinggi yaitu analog prostaglandin (*bimatoprost, latanoprost, travoprost, dan tafluprost*) diikuti oleh beta-blocker (*levobunolol, timolol, carteolol, levobetaxolol, dan betaxolol*), agonis α_2 adrenergik (*brimonidine dan apraclonidine*) dan penghambat anhidrase karbonat (*dorzolamide dan brinzolamide*). Analog prostaglandin biasanya diresepkan sebagai terapi awal dan dikonsumsi sekali sehari pada malam hari. Obat ini memperbaiki aliran uveoskleral dan trabekular sehingga menurunkan TIO. Efek samping analog prostaglandin yaitu hipertermia konjungtiva, peningkatan pertumbuhan bulu mata, penurunan lemak periorbita, dan peningkatan pigmentasi pada iris dan kulit di sekitar mata. Analog prostaglandin memiliki kontraindikasi terhadap beberapa penyakit seperti asma bronkial, penyakit kardiovaskular berat, dan penyakit hati serta ginjal. Beta-blocker merupakan alternatif analog prostaglandin. Obat ini biasanya diberikan dua kali sehari. Obat ini menurunkan tekanan intraokular dengan cara mengurangi produksi humor aqueous. Efek samping lokal beta-blocker yaitu kekeringan pada mata sedangkan kontraindikasinya yaitu asma bronkial, sinus bradikardia, blok AV derajat 2 atau 3, gagal jantung kongestif tak terkompensasi, rinitis alergi, hipoperfusi otak, dan kelemahan otot.

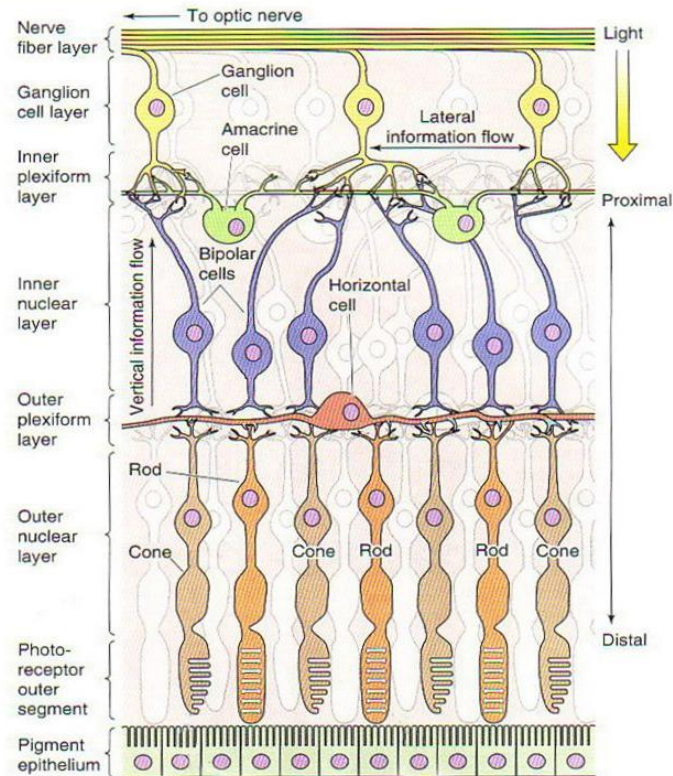
Agonis α_2 adrenergik menurunkan sekresi humor aqueous dan meningkatkan aliran uveosklera. Efek samping yang dapat dialami yaitu perubahan warna pada konjungtiva menjadi lebih putih, dan pada penggunaan jangka panjang, menyebabkan intoleransi. Kontraindikasi dari obat ini yaitu orang yang sedang mengonsumsi *monoamine oxidase inhibitor*, obat simpatomimetik dan antidepresan trisiklik. Terapi laser umumnya digunakan sebagai terapi tambahan apabila terapi topikal tidak cukup banyak menurunkan TIO. Operasi glaukoma adalah pilihan terapi terakhir apabila terapi non-invasif tidak cukup untuk mencapai target penurunan TIO yang diinginkan (Schuster, 2020).

Prognosis glaukoma yaitu berdasarkan penelitian yaitu sebanyak 90% penderita glaukoma, baik glaukoma primer maupun sekunder, terkontrol dengan baik dengan perawatan rutin selama 10 tahun (Sihota et al, 2017).

2.2. Sel Ganglion Retina

Anatomi dan Fisiologi

Retina mencakup dua per tiga bagian dalam dinding belakang bola mata. Bagian anterior retina melekat erat pada epitel pigmen. Di bagian belakang, saraf optik merekatkan retina ke dinding bola mata. Retina merupakan perluasan dari sistem saraf pusat agar kita dapat melihat dunia luas melalui jendela yaitu bola mata, dengan menangkap dan menguraikan rangsangan cahaya dan meneruskannya ke otak melalui akson saraf optik. (Stamper, 2006; Kwon, 2009)



Gambar 2.1. Lapisan Retina

Akson terdiri dari sel ganglion retina, merupakan populasi neuron yang terdapat di dalam lapisan dalam retina (*Retinal Ganglion Cells – RGC*), yang bertanggung jawab dalam proses penerimaan informasi di dalam mata yang kemudian diteruskan ke bagian lain sehingga otak dapat menerima informasi visual (Stamper, 2006; Kwon, 2009)

Nervus optikus bermula dari RGC, yang terletak di lapisan terdalam dari retina, didalam lapisan sel ganglion. RGC menerima input dari sel-sel bipolar dan sel-sel amakrin. Serabut saraf dari setengah nasal makula membentuk *papillomacular bundle* (*maculopapillary bundle*) masuk ke bagian temporal diskus optikus dan serabut saraf yang berasal dari sel ganglion bagian nasal retina masuk ke bagian

nasal diskus optikus. Bagian diskus optikus yang tidak mengandung akson-akson RGC disebut *cup* (Vidal-Sanza, 2011).



Gambar 2.2. Akson nervus retina meluas dari sel ganglion ke diskus optikus. Akson yang muncul dari bagian nasal makula meluas menuju diskus optikus mata kanan sebagai *papillomacular bundle*

Sel ganglion retina adalah neuron output primer pada retina yang memproses informasi visual setelah melalui fotoreseptor kemudian mentransmisikannya ke otak. Pada orang dengan glaukoma, dapat ditemukan degenerasi akson pada sel ganglion retina dan kematian apoptosis pada badan selnya. Pola lokalisasi defek *retinal nerve fiber layer* (RNFL) pada pasien glaukoma menandakan bahwa kerusakan akson terjadi lebih dulu dari kerusakan badan sel. Walaupun begitu, terdapat beberapa faktor pencetus yang secara independen menyebabkan kerusakan pada badan sel ganglion retina yaitu sistem imun, aktivasi sel glia, dan stres oksidatif (Rossi et al, 2017).

Mekanisme Kematian Sel Ganglion Retina pada Glaukoma

Glaukoma merupakan kelompok penyakit yang ditandai dengan peningkatan ekskavasi saraf optik dan hilangnya sel ganglion retina sehingga menyebabkan hilangnya lapang pandangan, dengan atau tanpa adanya peningkatan tekanan intraokular. Ekskavasi atau *cupping* dari *optic nerve head* (ONH) merupakan gambaran khas pada glaukoma. Mekanisme terjadinya perubahan pada ONH dan kematian RGC pada glaukoma belum jelas sepenuhnya, diduga salah satu faktor yang berperan adalah peningkatan TIO yang menyebabkan perubahan struktur ONH, termasuk peningkatan sintesis beberapa molekul matriks ekstraseluler, seperti *tenascin*, *matrix metalloproteinase*. NCAM-180, kolagen IV, dan elastin (Kuehn ,MH 2008).

Pada glaukoma, *Retinal ganglion cell* (RGC) mengalami apoptosis apabila terjadi gangguan hubungan dengan aksonnya. Disamping terjadinya kematian sel, glaukoma juga akan meningkatkan apoptosis yang akan menambah kematian RGC dan memperburuk lapang pandang. Apoptosis normal terjadi, namun pada penderita glaukoma proses apoptosis lebih meningkat. (Sayuti,K et al. 2014)

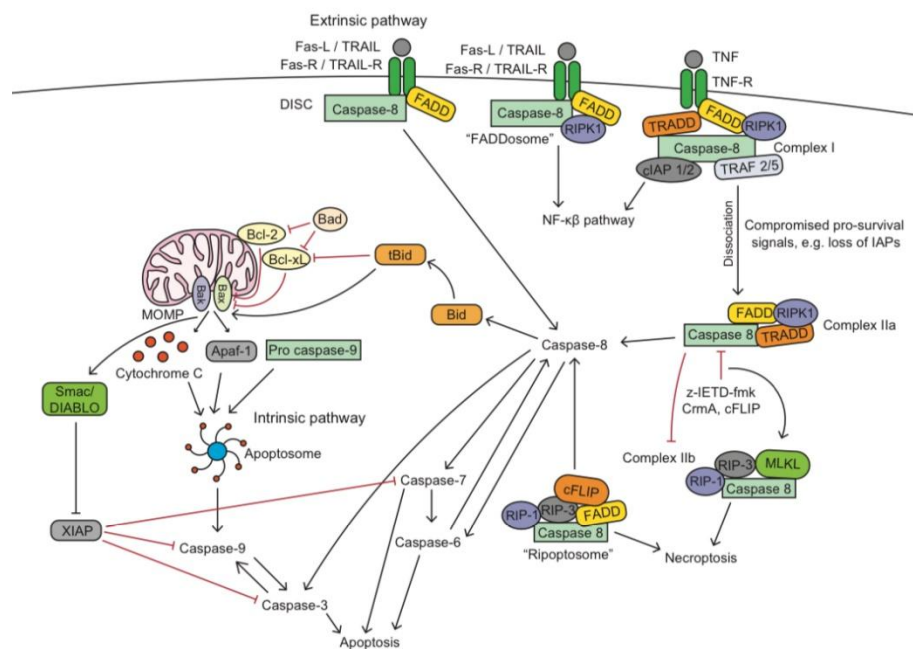
Dari penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa peningkatan sintesis matriks ekstraseluler berkontribusi dalam terjadinya aktivasi astrosit. Stimuli yang bervariasi dapat menginisiasi aktivasi astrosit termasuk demyelinasi akson, iskemik, mekanikal trauma, dan peningkatan TIO. Migrasi astrosit reaktif ke bundle saraf dapat meningkatkan ekspresi *matrix metalloproteinase*. Hal ini menyebabkan terjadinya perubahan struktur dari ONH, menyebabkan kolapsnya lamina kribrosa. Hal ini menyebabkan kerusakan akson RGC pada struktur yang dilewatinya. Terjadinya apoptosis dari RGC merupakan kerusakan akhir pada glaukoma (Kuehn MH, 2008).

Apoptosis adalah jalan kematian sel yang terprogram yang didesain untuk menyingkirkan sel yang rusak lewat proses fagositosis. Dalam prosesnya, apoptosis diperantarai oleh *caspases*, yaitu protein yang dapat merusak sel tanpa menimbulkan inflamasi. Sel mengalami kemunduran dan kematian yang kemudian difagositosis oleh makrofag yang mengelilinginya. Mitokondria merupakan kunci terjadinya proses apoptosis. Pada level tertentu apoptosis berhubungan dengan terjadinya homeostatis dan pergantian sel pada jaringan normal. Apoptosis yang berlebihan dan tidak terkontrol merupakan tanda terjadinya neurodegenerasi. Proses apoptosis membutuhkan ekspresi dari *gene* spesifik dan dapat diidentifikasi menggunakan metode histokimia maupun biokimia. Apoptosis adalah proses aktif dan membutuhkan energi dimana terbagi menjadi tiga fase yaitu : *signaling, commitment dan execution*. (Budak Y, 2009; Sayuti, 2014)

Caspase adalah salah satu protease sistein aspartat yang memiliki peran dalam kematian saraf, menginduksi RGC (melalui apoptosis dan piroptosis) setelah mengalami trauma, penyakit, atau apapun yang memicu regenerasi akson RGC. Dalam penelitian ini kami mencoba menilai ekspresi caspase pada proses apoptosis dalam kematian RGC dan tolak ukur keberhasilan neuroprotektif dengan intervensi penargetan caspase. (Thomas C, 2017)

Apoptosis terjadi dalam dua jalur mayor : intrinsik dan ekstrinsik. Pada jalur intrinsik, diinisiasi dari sel ketika intraseluler stress terjadi. Jalur ini dikontrol oleh keseimbangan aktivitas dari pro and anti apoptotic dari gen *Bcl2* dan melibatkan regulasi dari permeabilitas membran pada mitokondria. Saat merespon sinyal pro apoptosis, *cytochrome-C*, *apoptotic protease activating factor 1* (APAF-1) dan

caspase-9 dikeluarkan dari membran mitokondria dan membentuk apoptosome dimana kembali mengaktifkan kaskade caspase. Sebaliknya pada jalur ekstrinsik, diinisiasi oleh sinyal pada permukaan sel yang mengikat ekstraselular ligand ke “*death receptor*”. Formasi dari *death-induced signaling complex* (DISC) secara langsung menstimuli kaskade caspase lewat aktivasi dari caspase-8 tanpa melibatkan mitokondria. Caspase-8 mengubah pro-Caspase-3, menghasilkan Caspase-3 yg aktif yang akan memecah DNA Fragmentation Factor (DFF). Bentuk pemecahan aktif ini membentuk faktor akhir yang menyebabkan pemecahan internucleosomal *DNA strand* pada interval 200bp dimana ini adalah tanda dari apoptosis (Budak Y, 2009).



Gambar 2.3. Caspase apoptosis pada jalur instrinsik dan ekstrinsik

Terdapat 14 jenis caspase yang teridentifikasi. Tiga dari jenis caspase itu yaitu Caspase-3, 6 dan 7 berfungsi sebagai koordinator pada fase eksekusi apoptosis.

Pada penelitian oleh Slee et.al didapatkan bahwa dari ketiga caspase itu, Caspase-3 adalah eksekutor primer dan utama pada sistem caspase. (Slee et al, 2001). Caspase-3 dan -7 merupakan marker apoptosis yang sangat relevan dalam glaukoma karena penyakit ini ditandai dengan kematian progresif sel ganglion retina (RGCs) melalui mekanisme apoptosis. Peningkatan tekanan intraokular (TIO), yang merupakan salah satu faktor risiko glaukoma, memicu stres oksidatif dan gangguan homeostasis sel, sehingga mengaktifasi jalur apoptotik intrinsik dan ekstrinsik. Caspase-3 dan caspase-7 berperan sebagai eksekutor akhir dalam jalur ini, yang bertugas memecah protein intraseluler dan menyebabkan fragmentasi DNA, tanda khas kematian sel terprogram (Elmore, 2007). Aktivasi kedua caspase ini mengindikasikan bahwa apoptosis telah mencapai fase eksekusi, dan oleh karena itu digunakan sebagai indikator molekuler dari kehilangan RGCs (McIlwain, D.R et al, 2013). Caspase-3 dan -7 tidak hanya menjadi penanda apoptosis yang akurat dan spesifik, tetapi juga dapat digunakan sebagai parameter dalam evaluasi terapi neuroprotektif glaukoma, karena mencerminkan tingkat kerusakan neuron retina akibat peningkatan TIO secara langsung (Yao, K, et al, 2022).

Apoptosis RGC dapat dilihat pada model binatang dengan glaukoma. Marker apoptosis juga sudah diobservasi pada retina manusia yang glaukomatosa. Beberapa mekanisme yang menginisiasi apoptosis RGC pada glaukoma termasuk : *deprivasi factor neurotrophin*, hipoperfusi/iskemik, aktivasi sel glia, eksitoksisitasi glutamat, dan respon imun abnormal (Budak Y, 2009).

2.3. *Nigella sativa*

Nigella sativa L. termasuk dalam famili *Ranunculaceae*; itu adalah tanaman berbunga herba tahunan, tumbuh hingga ketinggian 20-30 cm, dengan daun linier, bunga berwarna kebiruan, buah berbentuk kapsul, dan biji kecil berwarna hitam menyerupai jinten (sehingga disebut sebagai jintan hitam). (Hannan et al., 2021)

Nigella sativa atau jintan hitam berasal dari wilayah yang luas di Mediterania timur, Afrika utara, anak benua India, dan Asia Barat Daya, dan dibudidayakan di banyak negara, termasuk Mesir, Iran, Yunani, Suriah, Albania, Turki, Arab Saudi, India, dan Pakistan (Hannan et al., 2021). Tumbuhan herbal ini memiliki berbagai nama di berbagai negara, seperti Habbatussauda atau jintan hitam (Inggris), *Habbatul Barakah* (Arab), dan [Tikur](#) *azmud* (Amharik).

Sejak berabad-abad yang lalu, *Nigella sativa* banyak digunakan sebagai bumbu dan penyedap dalam berbagai olahan makanan. *Nigella sativa* telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional di negara-negara Arab, Asia Timur Jauh, Eropa, dan Afrika. Penggunaan obat dari biji jintan hitam dalam berbagai sistem herbal tradisional dikenal untuk berbagai penyakit yang meliputi gangguan saluran napas yang berbeda, untuk nyeri seperti sakit kepala kronis dan sakit punggung, diabetes, kelumpuhan, infeksi, peradangan, hipertensi, dan saluran pencernaan terkait. masalah yang diberikan dalam berbagai jenis persiapan. Ini juga telah digunakan secara topikal di mana dioleskan langsung ke lecet, abses hidung, orkitis, eksim, dan sendi bengkok. (Yimer et al., 2019)

Sejumlah penelitian melaporkan bahwa *Nigella sativa* atau jintan hitam memiliki aktivitas antioksidan, antidiabetes, antihipertensi, efek neuroprotektif, antiinflamasi dan analgesik, serta antimikroba (Yimer et al., 2019). Jintan hitam mengandung

banyak konstituen aktif seperti thymoquinone (TQ), dithymoquinone, thymohydroquinone, thymol, carvacrol, nigellidine, nigelliciene, dan α -hederin. (Tavakkoli et al., 2017)

Thymoquinone (2-isopropyl-5-methyl-1,4-benzoquinone), konstituen yang paling melimpah, telah diuji coba dan menunjukkan efek neuroprotektif serta aktivitas antiinflamasi (Fahmy et al., 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Hossen et al. melaporkan bahwa TQ menghambat faktor-faktor proinflamasi seperti *nitric oxide* (NO), *nitric oxide synthase* (iNOS), IL-6, IL-1 β , TNF- α , dan cyclooxygenase 2 dengan melibatkan mekanisme inhibisi *jalur IRAK-linked AP-1/ NF- κ B*. TQ juga mempromosikan autofosforilasi *TANK-binding kinase 1* (TBK1), mengurangi ekspresi mRNA interferon (IFN- α and IFN- β), and mengurangi jalur pensinyalan IRF-3 pada sel makrofag RAW264.7 yang distimulasi LPS. (Hannan et al., 2021)

Penelitian yang dilakukan oleh Hayet et al. (2011) pada kelinci ovalbumin yang diinduksi alergi conjunctivitis menunjukkan bahwa thymoquinone terbukti mampu menekan gejala ocular. Pada penelitian lain juga ditemukan bahwa perlindungan saraf (*neuroprotection*) pada pasien glaucoma dapat dilakukan dengan mengombinasikan agen yang mampu mereduksi tekanan intraocular dan melindungi nervus optikus melalui promosi sel yang bertahan hidup atau menghambat kematian sel. (Fahmy et al., 2018).

Manfaat penggunaan jintan hitam

1. Meningkatkan kekebalan tubuh

Terkait dengan komponen biokimia *nigellone*, *thymoquinone*, dan asam lineloat yang terdapat di dalam jintan hitam berperan dalam meningkatkan sistem imun tubuh. Dengan menargetkan peningkatan kerja sistem imun tubuh, jintan hitam dapat mencegah terjadinya proses infeksi lebih lanjut sehingga antigen asing yang masuk ke dalam tubuh dapat dilawan oleh sistem imun sehingga tidak terjadi invasi antigen asing ke dalam sel host tubuh yang lebih lanjut. (Arquam, 2021; Kooti et al., 2016)

2. Menurunkan level kortisol dan meningkatkan serotonin

Adanya komponen biokimia alkaloid dan flavonoid pada jintan hitam berkaitan dengan efek anti-depresan, di mana dapat menyebabkan penurunan level hormone kortisol yang meningkat akibat kondisi stress serta akan menginduksi peningkatan *5- hydroxytrytamine* atau serotonin sehingga dapat meningkatkan mood dan aktivitas fisik. (Hasan et al., 2019)

3. Perlindungan kerusakan sel

Thymoquinone yang merupakan salah satu komponen biokimia aktif dalam jintan hitam dapat memberikan efek antioksidan dan anti-inflamasi. Mekanisme *thymoquinone* sebagai antioksidan dapat melalui reduksi produk *reactive oxygen species* (ROS) serta meningkatkan kerja enzim superoksida dismutase (SOD), glutathione peroksidase (GPX), katalase (CAT), glutathione reductase (GR), dan glutathione S-transferase (GST). Sedangkan mekanisme anti-inflamasinya dapat melalui penghambatan *cyclooxygenase II* dan *5-lipoxygenase* pada jalur metabolisme asam arachidonate, dan thymoquinone juga dapat mengurangi mediator inflamasi seperti interleukin 8, interleukin 1 β , *tumornecrosis factor alpha*

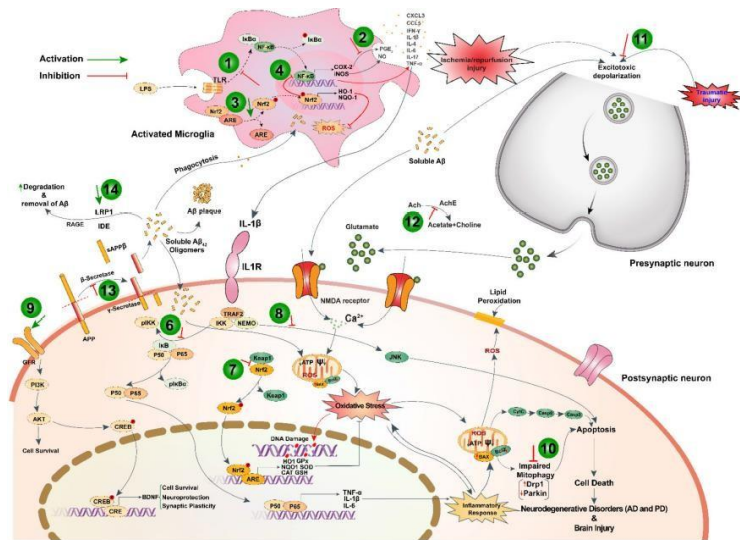
(TNF- α) sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan sel. (Fajar et al., 2017; Hasan et al., 2019)

4. Antimikroba

Minyak jintan hitam juga dapat memberikan efek signifikan sebagai antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan berbagai bakteri, jamur, dan virus. Terkait dengan antibakteri dan antijamur, penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa efek tersebut diperankan oleh *thymoquinone* dalam jintan hitam yang memiliki efek inhibitor tinggi terhadap pertumbuhan jamur seperti *candida albicans*, serta dapat melawan aktivitas pertumbuhan bakteri gram negative dan bakteri gram positif. (Abdallah, 2017)

5. Neuroprotektif

Dalam berbagai penelitian menunjukkan bahwa minyak jintan hitam dapat memberikan efek neuroprotektif. Minyak jintan hitam dapat meningkatkan fungsi memori jangka panjang dan memori jangka pendek, mampu memperbaiki gangguan kognitif, serta dapat mengurangi periode latensi. Selain itu, minyak jintan hitam dapat melindungi keracunan protein beta-amyloid pada *alzheimer disease*, melindungi hipokampus dan mencegah kematian sel neuron akibat dari cedera iskemik serebral (Belgaumi et al., 2020). Selain itu, minyak jintan hitam memiliki daya remyelinasi oleh karena efek antiinflamasi yang dapat menghambat proliferasi mikroglia dan menurunkan astrositik sehingga dapat memberikan perbaikan klinis dan perbaikan manifestasi histopatologis pada kondisi multiple sclerosis. (Fahmy et al., 2014)



Gambar 2.4. Jalur farmakokinetik jintan hitam dalam perbaikan saraf

Pemberian jintan hitam dapat memberikan proteksi pada saraf oleh karena sifat anti-inflamasinya yang dapat terlihat pada tahap (1) yang menghambat sinyal NF-κB (*nuclear factor kappa- light-chain-enhancer of activated B cells*) sehingga menurunkan proses transkripsi gen yang mengkode pembentukan sitokin pro-inflammasi, kemokin, dan enzim pro-inflammasi; (2) memodulasi reaksi inflammasi dengan menghambat perubahan COX-2 (*cyclooxygenase-2*) menjadi PGE2 (*prostaglandin E2*) serta iNOS (*inducible nitric oxide syntase*) menjadi NO (*nitric oxide*); (3) menginduksi proses antioksidan melalui aktivasi jalur Nrf2 (*nuclearfactor erythroid 2-related factor 2*)/ARE (*antioxidant response element*); (4) menghambat NF-κB menjadi Nrf2; (5) menurunkan reaksi stres oksidatif pada aktivasi mikroglia; (6) menghambat pensinyalan NF-κB; (7) aktivasi jalur Nrf2/ARE yang dapat memodulasi aktivasi enzim GSH (*glutathione*), SOD (*superoxide dismutase*), dan CAT (*catalase*) sehingga dapat menurunkan stress oksidatif; selain itu, jintan hitam dapat mencegah terjadinya apoptosis melalui (8) penurunan regulasi pada jalur JNK (*c-Jun N-terminal Kinases*)/Erk *pro-apoptosis*; (9) aktivasi

jalur *pro-survival* yang bergantung pada BDNF (*Brain-derived neurotrophic factor*) melalui penginduksian pensinyalan PI3K/Akt (*protein kinase B*); dan (10) menghambat kerusakan mitofag pada sel neuron; (11) pada beberapa kondisi lain seperti trauma atau hipoperfusi, jintan hitam dapat mencegah depolarisasi eksositosik pada neuron presinaps sehingga dapat meredam kerusakan; (12) juga dapat memberikan efek antikolinesterase; (13) sebagai anti-amiloidogenesis melalui pemblokiran aktivitas β -sekretase; dan (14) sebagai $A\beta$ -clearance dengan meningkatkan regulasi IDE (*insulin-degrading enzyme*), LRP1 (*Low-density lipoprotein receptor-related protein 1*), dan RAGE (*Receptor for advanced glycation end-products*). (Hannan, Abdul Md., Rahman, Ataur Md., Sohag, Abdullah Al Mamun Md., 2021)

Efek samping penggunaan jintan hitam

Berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya, pemberian minyak jintan hitam dapat memberikan peningkatan serum kolesterol, trigliserida, glukosa, dan trombosit yang menurun secara signifikan serta kadar hematokrit dan hemoglobin yang meningkat secara signifikan. (Kooti et al., 2016) Selain itu, penggunaan minyak jintan hitam dapat meningkatkan risiko pendarahan sehingga diperlukan penggunaan dosis yang tepat. Memberikan rasa kantuk atau sedasi ringan, menyebabkan keluhan gastrointestinal yang tidak spesifik (Hussein et al., 2016). Hal tersebut menunjukkan bahwa adanya toksisitas rendah dari minyak jintan hitam sehingga penggunaannya tidak dianjurkan pada dosis tinggi. (Khan, 2021; Kooti et al., 2016)

Pengembangan riset jintan hitam

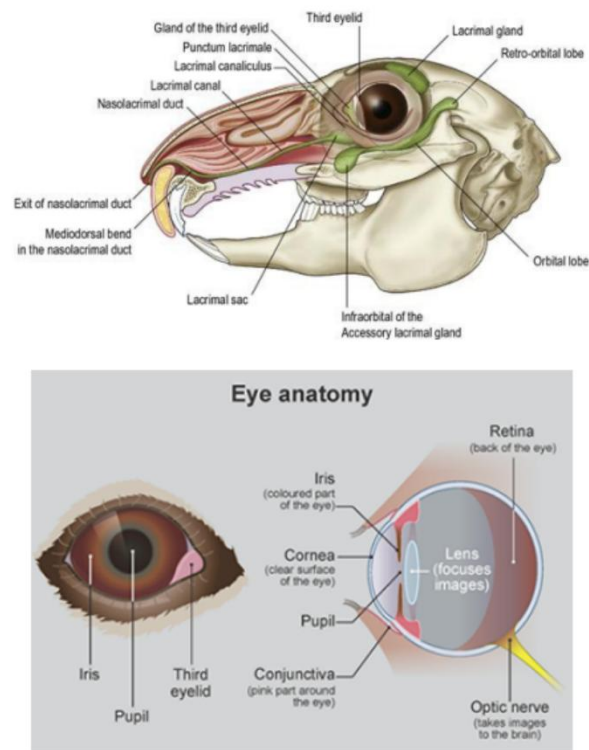
Jintan hitam menunjukkan adanya potensi neuroprotektif yang dikaitkan dengan biokimia aktif timokuinon dan ditimokuinon dalam memperbaiki kerusakan saraf yang ditandai dengan adanya peningkatan aktivitas *asetilkolinesterase* (AChE), *butrilkolinesterase* (BuChE), *ektonukleotidase* (5'-nukleotidase), *laktat dehidrogenase* (LDH) dan *monoamine oksidase* (MAO) serta perubahan histopatologis yang diinduksi oleh penggunaan haloperidol sebagai antipsikotik sehingga memberikan kemungkinan perawatan bagi orang yang menderita disfungsi cerebrovaskular dan penyakit neurologis yang terkait dengan obat antipsikotik. (Akintunde & Irechukwu, 2016)

2.4. Kelinci (*Oryctolagus cuniculi*)

Kelinci domestik adalah keturunan dari kelinci Eropa, *Oryctolagus cuniculi* yang termasuk dalam ordo *Lagomorpha* dengan ciri khas adanya sepasang gigi seri kecil dibagian atas atau gigi pasak. Semua anggota ordo *Lagomorph* adalah terestrial dan hanya memakan tumbuh-tumbuhan. *Oryctolagus cuniculi* pada dasarnya aktif di malam hari, meninggalkan liangnya di sore hari dan kembali di pagi hari, meskipun dapat terlihat berjemur di siang hari. (Harcourt Brown, 2002)

Pemeriksaan oftalmoskopi pada bagian dalam bola mata harus dilakukan dalam keadaan pupil yang midriasis. Kelinci menghasilkan atropinesterase yang dapat mengganggu kerja obat tetes mata atropin. Satu tetes masing-masing 1% atropin dan 10% fenilefrin, tiga sampai empat kali selama periode 15 menit telah direkomendasikan untuk kelinci. (Harcourt Brown, 2002) Kelinci memiliki mata besar dan menonjol yang terletak di sisi kepala dengan kornea yang menempati sekitar

25% dari bola mata. Struktur seperti ini membuat kelinci memiliki lapang pandang hampir 360°. Namun, akomodasinya buruk. Lensa besar dan bulat dan badan siliaris kurang berkembang. Retina memiliki area horizontal dengan kepadatan fotoreseptor yang tinggi, garis visual, yang memungkinkan kelinci untuk berkonsentrasi pada semua titik cakrawala pada satu waktu, memungkinkannya untuk menyadari pemangsa yang datang dari segala arah. Sel Batang adalah sel fotoreseptor yang dominan sehingga kelinci memiliki penglihatan malam yang baik. (Harcourt Brown, 2002)

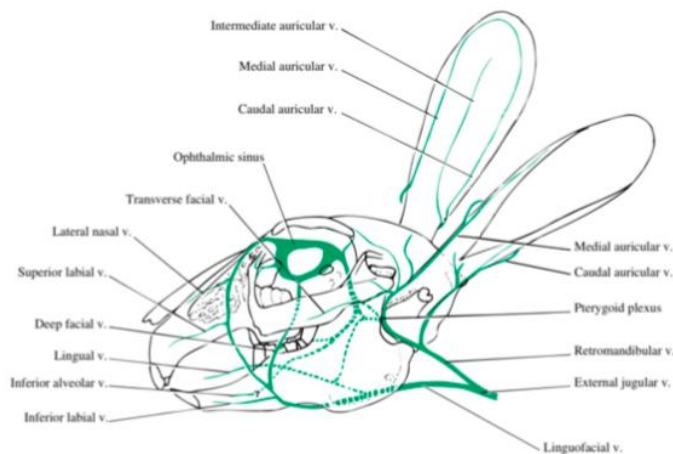


Gambar 2.5. Anatomi kepala dan mata kelinci

Kelinci dilahirkan dengan kelopak mata tertutup. Pemisahan kelopak mata terjadi pada usia sekitar 10 hari. Kelopak mata atas lebih pendek, lebih tebal, dan lebih mobile daripada kelopak bawah. Kedua kelopak mata terdiri dari empat lapisan

utama: kulit, otot, jaringan fibrosa dan konjungtiva. Kelinci berkedip sekitar 10-12 kali per jam. Kelinci memiliki kelopak mata ketiga yang tidak secara aktif berkedip tetapi secara pasif menutupi kornea saat bola mata ditarik. Kelopak mata ketiga tidak bergerak lebih dari dua pertiga dalam melintasi kornea. Untuk mengukur penonjolan/tekanan bola mata dapat dilakukan dengan mengamati secara langsung mata kelinci atau menempatkan jari di atas bola mata untuk memperkirakan seberapa keras mata yang membesar. Tonometri juga dapat digunakan. Tekanan intraokular normal kelinci adalah 5-23 mmHg. (Harcourt Brown, 2002)

Prosedur pembedahan serupa dengan spesies lain, kecuali adanya sinus vena besar (lihat Gambar 2.3) yang berhubungan erat dengan kelenjar orbita. Pembedahan yang hati-hati, tetap dekat dengan bola mata meminimalkan risiko perdarahan. Jika sinus vena tertusuk, perdarahan biasanya dapat dikontrol dengan memberikan tekanan. Darah kelinci cepat membeku. (Harcourt Brown, 2002)



Gambar 2.6. Aliran pembuluh darah vena pada kepala serta telinga kelinci. Sinus vena orbita dapat terlihat saat enukleasi mata dan berpotensi menjadi sumber perdarahan yang serius.

2.5. Model hewan coba dengan glaukoma

Terdapat beberapa cara untuk menginduksi terjadinya hipertensi okuli pada hewan coba. Setiap teknik memiliki perbedaan dalam mekanisme dan efikasi dalam meningkatkan tekanan intraokular pada hewan coba. Adapun teknik untuk menginduksi hipertensi okuli pada hewan coba meliputi laser fotokoagulasi pada trabekular meshwork, injeksi larutan hipertonik pada vena episklera, kauterisasi vena episklera, dan injeksi substansi pada bilik mata depan. (Vecino, 2011; Johnson, 2020; Bouhenni, 2012)

Laser fotokoagulasi pada trabekular meshwork dapat meningkatkan tekanan intraokular melalui mekanisme penurunan outflow humor akuos. Dibutuhkan laser fotokoagulasi pada trabekular meshwork minimal sebanyak 3 kali dengan interval 1 minggu untuk dapat menimbulkan peningkatan tekanan intraokular hingga 25 mmHg. Lamanya peningkatan tekanan intraokular yang terjadi dapat bertahan hingga 30 hari. Namun kelemahan dari teknik ini adalah membutuhkan peralatan yang canggih dan dapat menimbulkan degenerasi kornea pada pengulangan prosedur. (Vecino, 2011; Johnson, 2020; Bouhenni, 2012)

Injeksi larutan hipertonik pada vena episklera dapat menyebabkan sklerosis dari trabekular meshwork sehingga akan menghambat outflow humor akous. Teknik ini akan menyebabkan peningkatan tekanan intraokular hingga 30 mmHg dengan durasi bervariasi antara 7-10 hari. Sedangkan kauterisasi pada vena episklera dapat menyebabkan gangguan drainase humor akuos dari kanalis *schlemm*. Kauterisasi pada dua hingga tiga vena episklera dapat menyebabkan peningkatan tekanan intraokular mencapai 20 mmHg. Peningkatan tekanan intraokular akan lebih tinggi

lagi hingga mencapai 60 mmHg pada kauterisasi empat vena episklera. (Vecino, 2011; Johnson, 2020; Bouhenni, 2012)

Dalam studi glaukoma baik monyet, anjing, kucing, babi, kelinci, tikus dan mencit telah digunakan sebagai hewan model. Pemilihan hewan model eksperimental sangat penting untuk mempelajari proses alami glaukoma dan untuk mengembangkan terapi yang dapat digunakan dalam menghentikan atau mencegah perkembangan penyakit. Menggunakan mamalia seperti kelinci memungkinkan kita untuk menghasilkan model yang sangat baik, berdasarkan kesamaan anatomisnya dengan manusia, dimana proses pembedahannya pun mirip dengan prosedur pembedahan oftalmologi pada manusia. (Ignacio Tartara, 2018)