

**EFEK PROTEKTIF VITAMIN D TERHADAP APOPTOSIS SEL  
GANGLION RETINA PADA TIKUS (*RATTUS NORVEGICUS*)  
DIABETES MELITUS TIPE 2**

**SKRIPSI**



Diajukan sebagai syarat untuk gelar Sarjana  
Kedokteran pada Fakultas Kedokteran  
Universitas Baiturrahmah

**EKSA AUGITRI SYAHZA  
2210070100127**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BAITURRAHMAH  
PADANG  
2025**

## **HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI**

**Judul : EFEK PROTEKTIF VITAMIN D TERHADAP APOPTOSIS SEL GANGLION  
RETINA PADA TIKUS (*RATTUS NORVEGICUS*) DIABETES MELITUS TIPE 2**

Disusun Oleh :

**EKSA AUGITRI SYAHZA**

**2210070100127**

**Telah disetujui**

**Padang, 10 November 2025**

Pembimbing 1

Pembimbing 2

**(dr. Alief Dhuha , PhD)**

**(dr. Letvi Mona, M.Ked (DV), Sp.DV)**

Penguji 1

Penguji 2

**(dr. Rendri Bayu Hansah, Sp.Pd. FINASIM)**

**(dr. Naima Lassie, Sp.M)**

## KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Efek Protektif Vitamin D Terhadap Retina Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes Melitus Tipe 2”. Shalawat dan salam penulis haturkan kepada sang Murabbi sejati Rasulullah Muhammad SAW yang telah membawa manusia dari alam kegelapan ke alam yang penuh dengan ilmu pengetahuan. Penulisan skripsi ini dilakukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Baiturrahmah. Penulis menyadari dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini sangat sulit bagi penulis jika tanpa adanya bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Bersama ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya serta penghargaan yang setinggi-tingginya serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Musliar Kasim, M.S selaku Rektor Universitas Baiturrahmah yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk menimba ilmu di Universitas Baiturrahmah.
2. dr. Yuri Haiga, Sp.N selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Baiturrahmah yang telah memberikan sarana dan prasarana sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
3. dr. Alief Dhuha, PhD selaku Dosen Pembimbing I yang telah tulus ikhlas dan penuh kesabaran dengan meluangkan waktunya untuk memberikan

bimbingan dan pengarahan yang berharga sampai akhir penulisan skripsi ini.

4. dr. Letvi Mona, M.Ked(DV), Sp.DV selaku Dosen Pembimbing II yang telah tulus ikhlas dan penuh kesabaran dengan meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dan pengarahan yang berharga sampai akhir penulisan skripsi ini.
5. Dr. Naima Lassie, Sp.M dan dr. Rendri Bayu Hansah Sp.PD, FINASIM selaku dosen penguji penulis yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, saran, dan arahan agar terselesaikannya penulisan skripsi ini.
6. Dr. Nana Liana, Sp.PA selaku dosen yang telah memberikan arahan, masukan serta bimbingan teknis yang sangat berharga sehingga penelitian ini dapat terlaksanakan dengan baik.
7. dr. Yustisiana, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Akademik penulis yang telah tulus ikhlas dan penuh kesabaran dengan meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan selama perkuliahan.
8. Bapak dan ibu Dosen Prodi Pendidikan Dokter yang telah memberikan pengetahuan yang sangat berharga selama penulis menempuh perkuliahan di Universitas Baiturrahmah Padang.
9. Terima Kasih yang teristimewa kepada kedua orang tua tercinta Ayah Syahnawardi dan Ibu Hasrimanizar S.Pd atas semangat, dorongan moral dan materil, terutama doa ayah dan ibu yang selalu meringankan langkah penulis dalam menyelesaikan skripsi ini, dan juga kepada kakak penulis Ns. Yossi

Aprina Sari dan suami, abang penulis Ozi Dirgatama Syahza A. Md.T, adik penulis Audhy Agdellyan serta keluarga besar yang memberikan dukungan dan semangat kepada penulis.

10. Terima kasih penulis ucapkan kepada teman-teman penulis Olivia Salsabila, Indah Salsabila dan Al-Kindi Saga Rinaldi yang senantiasa memberikan hiburan, dukungan, dorongan, do'a, serta motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
11. Terima kasih penulis ucapkan kepada rekan seperjuangan penelitian Inkha Prajadina dan Gischa Vatrissa yang senantiasa mendampingi, mendukung, berbagi suka dan duka selama menyelesaikan skripsi ini
12. Serta pihak lain yang tidak mungkin penulis tuliskan satu persatu atas bantuannya baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik

## ABSTRAK

### Efek Protektif Vitamin D Terhadap Sel Ganglion Retina pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes Melitus Tipe 2

Eksa Augitri Syahza

**Latar Belakang:** Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT2) adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan resistensi insulin dan stres oksidatif, yang dapat menyebabkan komplikasi serius, termasuk Retinopati Diabetik (RD). Salah satu penyebab terjadinya RD adalah mekanisme apoptosis sel ganglion. Mekanisme yang berperan dalam apoptosis sel ganglion pada DMT2 adalah peradangan kronis akibat peningkatan ekspresi Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) dan akumulasi radikal bebas (*Reactive Oxygen Species*/ROS), *Advanced Glycation End* (AGEs). Vitamin D yang memiliki efek antiinflamasi, antioksidan, dan neuroprotektif yang berpotensi dalam melindungi sel retina dari kerusakan akibat hiperglikemi kronis.

**Tujuan:** Mengetahui efek protektif Vitamin D terhadap apoptosis sel ganglion retina pada tikus (*Rattus norvegicus*) DMT2.

**Metode:** Penelitian ini adalah studi experimental laboratorik dengan rancangan post test only control group design menggunakan 23 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok: Kontrol Non-DM, non-DM dengan vitamin D 415 IU/Kg, DMT2 tanpa terapi, DMT2 dengan vitamin D 415 IU/Kg, DMT2 dengan vitamin D 1100 IU/Kg. Pemeriksaan histopatologi retina dilakukan dengan menilai jumlah sel ganglion yang mengalami apoptosis. Analisis data yang digunakan pada penelitian ini menggunakan uji Kruskal-Wallis

**Hasil:** Jumlah apoptosis sel ganglion meningkat signifikan pada kelompok DMT2. Pemberian vitamin D 415 IU/Kg menurunkan apoptosis dibandingkan kelompok DMT2, sedangkan dosis 1100 IU/Kg memberikan efek protektif paling optimal dengan perbedaan bermakna secara statistik ( $p=0,002$ )

**Kesimpulan:** Vitamin D memiliki efek protektif terhadap apoptosis sel ganglion retina pada tikus DMT2, dengan efek yang lebih kuat pada dosis tinggi. Vitamin D berpotensi dikembangkan sebagai terapi tambahan untuk mencegah progresivitas RD.

**Kata Kunci:** Diabetes melitus tipe 2. Retinopati Diabetik. Vitamin D. Antioksidan. Stres Oksidatif. Sel Ganglion Retina

## **ABSTRACT**

### ***Protective Effect of Vitamin D on Retinal Ganglion Cells in Type 2 Diabetes Mellitus Rats (*Rattus norvegicus*)***

***Eksa Augitri Syahza***

**Background :** Type 2 Diabetes Melitus (T2DM) is metabolic disease characterized by insulin resistance and oxidative stress, which can lead to serious complication, including Diabetic Retinopathy (DR). One of the causes of DR is the mechanism of ganglion cell apoptosis. The mechanism involved in ganglion cell apoptosis in T2DM include chronic inflammation due to increased expression on Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) and accumulation of free radicals (Reactive Oxygen Species/ ROS) and Advanced Glycation End-product (AGEs). Vitamin D, which has anti-inflammatory, antioxidant, and neuroprotective effects, has the potential to protect retinal cells from damage caused by chronic hyperglycemia

**Objective :** To determine the protective effect of Vitamin D on Apoptosis of retinal cells in T2DM rats (*Rattus norvegicus*)

**Methods :** This study is an experimental laboratory study with a post-test only control group design using 23 rats divided into 5 groups: Non-DM Control, non-DM with Vitamin D 415 IU/Kg, T2DM without therapy, T2DM with Vitamin D 415 IU/kg and T2DM with Vitamin D 1100 IU/Kg. Retinal histopathological examination was performed by assessing the number of ganglion cells undergoing apoptosis. The data analysis used in this study was the Kruskal-Wallis test.

**Result :** The number of apoptotic ganglion cells significantly increased in T2DM group. Administration of Vitamin D at 415 IU/kg reduces apoptosis compared to the T2DM group, while the dose of 1100 IU/kg provided the most optimal protective effect with a statistically significant difference ( $p=0,002$ )

**Conclusion :** Vitamin D has protective effect against apoptosis of retinal ganglion cells in T2DM rats, with a stronger effect at higher doses. Vitamin D has potential to be developed as an adjunctive therapy to prevent the progression of DR.

**Keyword :** Type 2 Diabetes Melitus, Diabetic Retinopathy, Vitamin D, Antioxidant, Oxidative Stress, Retinal Ganglion Cells

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PENGESAHAN PROPOSAL SKRIPSI .....</b>	<b>2</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>ii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>11</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>12</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>14</b>
1.1 Latar Belakang.....	14
1.2 Rumusan Masalah .....	17
1.3 Tujuan Penelitian .....	17
1.3.1 Tujuan Umum .....	17
1.3.2 Tujuan Khusus.....	17
1.4 Manfaat Penelitian.....	18
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti .....	18
1.4.2 Manfaat Bagi Fakultas Kedokteran Universitas Baiturrahmah .....	18
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat.....	18
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>19</b>
2.1 Diabetes Melitus Tipe 2 .....	19
2.1.1 Definisi.....	19
2.1.2 Epidemiologi.....	19
2.1.3 Etiologi dan Faktor Risiko .....	20
2.1.4 Patogenesis.....	22
2.1.5 Gejala Klinis .....	25
2.1.6 Pemeriksaan penunjang .....	26
2.1.7 Tatalaksana .....	27
2.1.8 Komplikasi.....	32
2.2 Retinopati Diabetik.....	34
2.2.1 Anatomi dan Histologi Mata.....	34
2.2.2 Definisi.....	36
2.2.3 Epidemiologi.....	36
2.2.4 Faktor Risiko.....	36
2.2.5 Gejala Klinis .....	38
2.2.6 Patogenesis.....	39
2.2.5 Pemeriksaan penunjang .....	45
2.2.6 Tatalaksana .....	45
2.2.7 Pencegahan .....	46
2.3 Vitamin D .....	48



2.3.1 Peran Vitamin D Terhadap Berbagai Penyakit.....	49
2.3.2 Pengaruh Vitamin D Dalam Menghambat DMT2.....	51
2.3.3 Peran Vitamin D Dalam Menghambat Retinopati Diabetik .....	52
<b>BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS</b>	<b>57</b>
3.1 Kerangka Teori .....	57
3.2 Kerangka Konsep .....	58
3.3 Hipotesis .....	58
<b>BAB IV METODE PENELITIAN.....</b>	<b>59</b>
4.1 Ruang Lingkup Penelitian .....	59
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	59
4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	59
4.4 Populasi Dan Sampel.....	59
4.4.1 Populasi.....	59
4.4.2 Sampel .....	59
4.5 Variabel Penelitian.....	61
4.5.1 Variabel Bebas .....	61
4.5.2 Variabel Terikat .....	61
4.6 Definisi Operasional .....	61
4.7 Cara Pengumpulan Data .....	61
4.7.1 Bahan .....	61
4.7.2 Alat.....	62
4.7.3 Jenis Data .....	62
4.7.4 Cara Kerja .....	63
4.8 Alur Penelitian.....	67
4.9 Analisis Data .....	67
4.10 Etika Penelitian.....	67
4.11 Jadwal Penelitian .....	69
<b>BAB V HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>70</b>
5.1 Jumlah Sel Ganglion Tikus (Rattus norvegicus) Kelompok Kontrol Non DM Dengan Kelompok Tikus DMT2. ....	70
5.2 Jumlah Apoptosis Sel Ganglion Pada Retina Tikus ( Rattus norvegicus) DMT2 Dengan Pemberian Vitamin D 415 IU. ....	71
5.3 Jumlah Sel Ganglion Pada Retina Tikus (Rattus norvegicus) DMT2 Dengan Pemberian Vitamin D 1100 IU .....	71
5.5 Efek protektif vitamin D terhadap sel ganglion retina tikus (Rattus norvegicus) .....	72
<b>BAB VII PEMBAHASAN.....</b>	<b>74</b>

6.1 Jumlah Sel Ganglion Retina Antara Kelompok Kontrol Non-DM dan Kelompok DMT2 .....	74
6.2 Jumlah Apoptosis Sel Ganglion Pada Retina Tikus DMT2 Dengan Pemberian Vitamin D 415 IU.....	75
6.3 Jumlah Apoptosis Sel Ganglion Pada Retina Tikus DMT2 Dengan Pemberian Vitamin D 1100 IU.....	77
<b>BAB VII    PENUTUP.....</b>	<b>80</b>
7.1 Kesimpulan.....	80
7.2    Saran .....	80

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kriteria Diagnosis Untuk Prediabetes Dan Diabetes .....	27
Tabel 2.2 Obat Antihiperglikemi .....	31
Tabel 4.1 Definisi Operasional .....	61
Tabel 4. 2 Rencana Jadwal Penelitian.....	69

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 The Egregious Eleven, (PERKENI, 2019) .....	25
Gambar 2. 2 Human Eye Anatomy .....	34
Gambar 2.3 Histologi Lapisan Retina Mencit Jantan.....	35
Gambar 2.4 Histopatologi Apoptosis Sel Ganglion Retina Tikus Jantan.....	44
Gambar 2.5 Metabolisme Vitamin D.....	49
Gambar 2. 6 Cara Vitamin D dalam menghambat Perkembangan Retinopati Diabetik .....	56
Gambar 3.1 Kerangka Teori.....	57
Gambar 3.2 Kerangka Konsep .....	58
Gambar 4.1 Alur Penelitian.....	67

## DAFTAR SINGKATAN

(25(OH)D)	: 25 Dihidroksida Vitamin D
ADA	: American Diabetes Association
AGEs	: Advanced Glycation End
AT1R	: Angiotensin 1 Receptor
ATP	: Adenosine Triphosphate
BAX	Bcl-2- Associated X Protein
BCL	B- Cell Limfoma
BRB	: Blood Retinal Barrier
CKD	: Chronic Kidney Disease
DBP	: Vitamin D Binding Protein
DMT2	: Diabetes Melitus Tipe 2
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
FAZ	: Foveal Avascular Zone
FGF23	: Fibroblast Growth Factor 23
GFR	: Glomerular Filtration Rate
ICD	: International Classification Of Disease
IDF	: International Diabetes Federation
IFN $\gamma$	: Interferon Gamma
IL	: Interleukin
PKC	: Protein Kinase C
PKK	: Plasma Kallikrein-Kinin
PTH	: Paratiroid Hormon

RD	: <i>Retinopati Diabetik</i>
RGC	: <i>Retinal Ganglion Cell</i>
RNFL	: <i>Retina Nerve Fiber Layer</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RPE	: <i>Retinal Pigmen Epitelium</i>
RXR	: <i>Retinoid X Receptor</i>
TGF $\beta$ 1	: <i>Transforming Growth Factor Beta 1</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
VDR	: <i>Vitamin D Receptor</i>
VDRE	: <i>Vitamin D Responsive Elements</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit degeneratif yang kompleks sehingga disebut “*silent killer disease*” yang ditandai dengan hiperglikemia kronis akibat gangguan sekresi atau resistensi insulin. *American Diabetes Association* (ADA) dan *World Health Organization* (WHO) membagi DM berdasarkan etiologinya yaitu Diabetes Melitus Tipe 1 (DMT1) dan Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT2). Diabetes Melitus Tipe 2 atau *non-insulin dependent* adalah kondisi penurunan sensitivitas insulin dan merupakan tipe DM yang paling banyak terjadi di dunia.<sup>1,2</sup>

Jumlah penderita DM secara global dan regional Asia Tenggara tahun 2021 tercatat secara berturut 10,6% dan 8,8%. Indonesia memiliki kasus DM sebanyak 10,9% dan diperkirakan akan terus meningkat tiap tahunnya. Data SKI (Survei Kesehatan Indonesia) menemukan bahwa penderita DMT2 lebih banyak dibandingkan penderita DMT1. Prevalensi DMT2 berdasarkan data SKI di Indonesia didominasi oleh usia produktif mencapai 52,1% dan 48,9% merupakan orang lanjut usia. Hal tersebut menjadikan Indonesia berada di posisi 10 besar negara dengan kasus DMT2 tertinggi di dunia. Jumlah kasus DMT2 di Provinsi Sumatera Barat berdasarkan SKI 2023 relatif menetap yaitu di angka 1,6% kasus.<sup>3</sup>

Diabetes Melitus Tipe 2 merupakan tipe DM yang disebabkan oleh penurunan sekresi dan resistensi insulin sehingga dapat mengakibatkan hiperglikemi. Kondisi ini akan menimbulkan 3 gejala klasik yang dirasakan oleh penderitanya seperti polifagi, poliuri, dan polidipsi. Diabetes Melitus Tipe 2 kronik dengan kadar gula yang tidak terkontrol dapat menimbulkan komplikasi serius. Komplikasi yang

terjadi dapat dibedakan secara makrovaskular dan mikrovaskular. Komplikasi makrovaskular merupakan gangguan pada pembuluh darah besar seperti penyakit arteri koroner, arteri perifer dan stroke. Komplikasi mikrovaskular melibatkan pembuluh darah kecil salah satunya adalah Retinopati Diabetik (RD).<sup>4,5</sup>

Retinopati Diabetik merupakan salah satu komplikasi mikrovaskular DMT2 yang mengancam fungsi penglihatan dan bersifat *irreversibel*. Penyakit ini dipengaruhi oleh 2 faktor yaitu, faktor vaskular dan neurodegeneratif. Faktor vaskular berdampak pada perubahan morfologis retina, termasuk hilangnya sel perisit, penebalan membran basal, berkurangnya sel endotel, leukositosis, dan peningkatan vaskular. Sel perisit berfungsi sebagai agen kontraksi mikrovaskular retina. Kehilangan sel perisit dapat menyebabkan penurunan kekuatan pada dinding kapiler sehingga terbentuknya mikroneurisma yang merupakan awal perkembangan RD.<sup>6</sup>

Faktor lain yang terlibat dalam RD adalah faktor neurodegeneratif karena disfungsi sel glial, pembengkakan sel muller, aktivasi mikroglial yang menyebabkan kerusakan sel ganglion pada lapisan retina. Sel ganglion berfungsi dalam transmisi visual yang ditangkap oleh retina dan dikirim ke otak. Penderita DMT2 rentan mengalami apoptosis sel ganglion dikarenakan oleh mekanisme inflamasi yang berlangsung. Apoptosis ganglion juga dipicu oleh reaktivasi gliosis pada sel glial makroglial seperti sel muller dan astrosit serta mikroglial melepaskan sitokin sehingga fungsi penglihatan terganggu dan menimbulkan gejala RD seperti penglihatan kabur, timbul bintik hitam dan penglihatan memburuk saat malam hari.<sup>7, 8, 9</sup>

Fenomena RD terus meningkat seiring dengan peningkatan angka pasien DMT2



di seluruh dunia. Tahun 2021 WHO menyatakan hampir 1 juta orang mengalami kebutaan yang disebabkan oleh RD. Akademi Oftalmologi Amerika (AOA) mencatat jumlah pasien DMT2 dengan RD berjumlah sekitar 93 juta orang dan 28 juta orang terancam kehilangan penglihatan. Data nasional mengenai jumlah RD masih perlu dilakukan lebih lanjut. Penelitian jumlah RD yang dilakukan *Urban Eye Health Study* di wilayah DKI Jakarta sebesar 58,3%. Salah satu rumah sakit mata rujukan Lampung melaporkan kasus rujukan RD merupakan kasus paling banyak yang terjadi pada rentang tahun 2019-2021. Tahun 2019 tercatat sebanyak 11,38% tahun 2020 menjadi 12,64% kemudian pada tahun 2021 berjumlah 14,2% dan mencapai puncaknya pada tahun 2022 sebesar 16,63%.<sup>7, 9, 10</sup>

Vitamin D menjadi topik hangat akhir ini karena fungsinya terhadap ekstraskeletal, salah satunya organ pankreas dalam sekresi insulin. Vitamin D dapat meningkatkan sensitivitas dan sekresi insulin serta mencegah inflamasi pada penderita DMT2. Kandungan yang terdapat dalam vitamin D dapat dimanfaatkan sebagai terapi DMT2 dalam mengontrol gula darah dan mencegah komplikasi. Sifat antioksidannya dapat membantu mengurangi apoptosis sel ganglion dan menjaga kekuatan sel perisit. Vitamin D dapat melindungi sel ganglion dengan menurunkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan inflamasi yang disebabkan oleh hiperglikemia kronik. Vitamin D merupakan vitamin larut lemak dan tersedia dalam 2 bentuk yaitu ergocalciferol (Vitamin D2) dan cholecalciferol (Vitamin D3). Vitamin D dimetabolisme di hati menjadi 25-hidroksivitamin D (25(OH)D), lalu di ginjal menjadi 1,25-dihydroxyvitamin (1,25(OH)D) kemudian berikatan dengan reseptor vitamin D (VDR) jaringan target, termasuk pada sel ganglion. Vitamin D yang berikatan dengan sel ganglion akan memberi proteksi dari paparan inflamasi dan

menurunkan risiko terjadinya RD.<sup>11, 12, 13</sup>

Ahmadih dkk tahun 2013 menemukan bahwa vitamin D dapat mencegah perkembangan dan progresivitas RD dengan menghambat inflamasi dan neovaskularisasi pada retina. Nadri tahun 2021 menemukan vitamin D yang tinggi dapat berperan dalam perbaikan serta menurunkan risiko komplikasi mikrovaskular DMT2, termasuk RD. Penelitian mengenai efek protektif vitamin D terhadap apoptosis sel ganglion masih harus dipelajari lebih dalam. Hal ini membuat peneliti tertarik melakukan penelitian dengan mengangkat judul efek protektif vitamin D terhadap apoptosis sel ganglion retina pada tikus (*Rattus norvegicus*) DMT2.<sup>14,15</sup>

## **1.2 Rumusan Masalah**

Bagaimana efek protektif vitamin D terhadap apoptosis sel ganglion retina pada tikus (*Rattus norvegicus*) DMT2.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui efek protektif vitamin D terhadap sel ganglion retina pada tikus DMT2

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengetahui jumlah sel ganglion tikus kelompok kontrol non DM dengan kelompok tikus DMT2.
2. Mengetahui jumlah apoptosis sel ganglion pada retina tikus DMT2 dengan pemberian vitamin D 415 IU.
3. Mengetahui jumlah apoptosis sel ganglion pada retina tikus DMT2 dengan pemberian vitamin D 1100 IU.
4. Mengetahui efek protektif vitamin D terhadap sel ganglion retina tikus

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti**

1. Meningkatkan pengetahuan dan kemampuan dalam menulis karya ilmiah khususnya terkait gambaran mikroskopis apoptosis sel ganglion retina setelah diberikan vitamin D pada tikus DMT2.
2. Menambah pengalaman dalam meneliti mikroskopis apoptosis sel ganglion setelah diberikan vitamin D pada tikus DMT2.

### **1.4.2 Manfaat Bagi Fakultas Kedokteran Universitas Baiturrahmah**

1. Hasil eksperimen diharapkan bisa memberikan informasi ilmiah mengenai gambaran mikroskopis apoptosis sel ganglion retina terhadap pemberian vitamin D dan informasi ilmiah mengenai pemanfaatan vitamin D sebagai proteksi sel ganglion retina pada DMT2.
2. Hasil eksperimen juga diharapkan bisa digunakan sebagai tambahan referensi pengetahuan di bidang Ilmu Penyakit Dalam di Fakultas Kedokteran Universitas Baiturrahmah.

### **1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat**

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan masyarakat mengenai efek proteksi vitamin D terhadap sel ganglion retina pada terapi DMT2.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pemahaman masyarakat mengenai DMT2 sehingga dapat mencegah terjadinya apoptosis sel ganglion retina pada pasien DMT2.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Diabetes Melitus Tipe 2**

##### **2.1.1 Definisi**

Diabetes Melitus Tipe 2 merupakan salah satu Penyakit Tidak Menular (PTM) yang ditandai dengan peningkatan gula darah dalam tubuh akibat penurunan sensitivitas sel dalam merespon insulin atau biasanya disebut dengan resistensi insulin. Penurunan sensitivitas sel terhadap insulin menyebabkan glukosa tidak bisa memasuki intrasel sehingga menyebabkan glukosa akan terus berada dalam sirkulasi (hiperglikemia) yang akan menyebabkan komplikasi.<sup>4</sup>

##### **2.1.2 Epidemiologi**

Jumlah penderita DM menurut SKI 2023 penderita DM baik berdasarkan diagnosis dokter atau pemeriksaan pada tahun 2023 mengalami kenaikan jika dibandingkan dengan hasil RISKESDAS Tahun 2018 dari seluruh total kasus, DMT2 merupakan kasus terbanyak. Laporan SKI 2023 mengenai jumlah penderita DMT2 usia produktif tercatat sebanyak 52,1% kasus, disusul oleh DMT1 dengan jumlah 29,8% sedangkan untuk usia lanjut usia DMT2 mengisi 48,9% kasus dilanjutkan oleh DMT1 sebanyak 30,6% kasus.<sup>3</sup>

Jumlah kasus DMT2 tertinggi diduduki oleh Provinsi DKI Jakarta (3,9%) dan terendah di Provinsi Maluku (0,6%), sedangkan Provinsi Sumatera Barat menduduki urutan 24 dari 34 provinsi yang ada di Indonesia dengan total kasus 1,6%. Dinas Kesehatan Kota Padang pada tahun 2014 terjadi 24.432 kasus DMT2 kemudian naik pada tahun 2021 menjadi 44.280 kasus, di Kota Padang sendiri memegang kasus DMT2 tertinggi yaitu menyentuh di angka 12.231 kasus.<sup>16</sup>

### 2.1.3 Etiologi dan Faktor Risiko

Penyebab terjadinya DMT2 yaitu terjadinya resistensi insulin yang ditandai dengan berkurangnya sensitivitas sel terhadap insulin. Hal ini mengakibatkan insulin tidak mampu bekerja dalam membawa glukosa ke intrasel sehingga glukosa menumpuk di aliran darah.<sup>17</sup>

Faktor risiko DMT2 dibagi menjadi 2 yaitu, faktor risiko yang dapat diubah dan tidak dapat diubah.

1.) Faktor risiko yang dapat diubah meliputi :<sup>18</sup>

a) Obesitas

Obesitas memiliki risiko 4 kali lebih terjadi DMT2 dibandingkan dengan orang yang memiliki berat badan normal. Obesitas dapat dilihat dari pengukuran IMT  $> 23\text{kg/m}^2$  atau lingkar perut  $> 80$  pada perempuan dan  $> 90$  pada pria.

b) Rendahnya aktivitas fisik

Latihan fisik yang teratur dapat memperbaiki sistem metabolik tubuh, meningkatkan kualitas vaskular, meningkatkan sensitivitas insulin dan memperbaiki toleransi terhadap glukosa. Sebaliknya, jika aktivitas fisik rendah maka akan mengurangi sensitivitas terhadap insulin yang memungkinkan terjadinya DM.

c) Hipertensi ( $> 140/90$  mm/Hg)

Risiko terjadinya prehipertensi dan hipertensi awal yang tidak terkontrol lebih berisiko untuk terjadi DMT2. Hal ini kemungkinan terjadi karena pada hipertensi berpengaruh pada penurunan fungsi mikrovaskular. Hipertensi dapat menyebabkan disfungsi pada endotel pada vaskular yang berperan

dalam produksi insulin.

d) Dislipidemia (HDL < 35mg/dL atau trigliserida > 250 mg/dL)

Kondisi lipid yang abnormal dapat menyebabkan resistensi insulin yang disebut dengan dislipidemia aterogenik, dan penderita penyakit jantung koroner memiliki risiko tinggi mengalami komplikasi DM2.

e) Kebiasaan merokok

Merokok dapat menurunkan kinerja insulin dalam menyerap glukosa hingga 40%. Kadar Hb1Ac pada perokok relatif meningkat, karena rokok memberikan efek negatif pada kontrol glukosa.

f) *Unhealthy diet.*

Konsumsi karbohidrat dan glukosa yang tinggi dalam waktu yang lama akan meningkatkan kadar gula darah yang seiring berjalannya waktu dapat mengganggu penggunaan insulin secara efektif.

2.) Faktor risiko yang tidak dapat diubah :

a) Riwayat DM dari keluarga

Risiko tinggi dapat dilihat dari riwayat keluarga dengan mengidentifikasi riwayat DM pada orang tua, kakek, saudara dan lain-lainnya.

b) Usia

Usia > 45 tahun berisiko tinggi 85% mengalami DM2 dibandingkan usia <45 tahun. Hal ini terjadi karena terlibatnya proses degeneratif. Proses degeneratif atau penuaan menyebabkan penurunan berbagai fungsi organ, salah satunya adalah pankreas dalam mensekresi insulin.

c) *Gender*

Fase Menopause pada wanita menyebabkan penurunan kadar estrogen,

sehingga terjadi penumpukan lemak, terutama pada daerah perut yang berakibat pada peningkatan pengeluaran asam lemak bebas, sehingga menyebabkan resistensi pada insulin.

d) Ras

Orang dari ras dan etnis tertentu termasuk orang kulit hitam, Hispanik, penduduk asli Amerika dan Asia, dan Kepulauan Pasifik lebih mungkin mengembangkan DM2 daripada orang kulit putih meskipun hal ini perlu diteliti lebih lanjut.

#### **2.1.4 Patogenesis**

Secara patogenesis hiperglikemi penyebab terjadinya DM2 karena adanya keterlibatan 11 hal berikut:<sup>19</sup>

1. Kegagalan sel beta pankreas

Kegagalan sel beta pankreas merupakan patologi utama yang berperan dalam perkembangan penyakit DM2.

2. Disfungsi sel alpha pankreas

Sel alpha pankreas berfungsi dalam metabolisme glukagon yang akan meningkat saat kondisi puasa sehingga terjadi peningkatan sintesis glukosa hati pada orang sehat.

3. Sel lemak

Penghancuran lemak dan asam lemak bebas akan meningkat ketika terjadi resistensi sel lemak terhadap insulin. Akibatnya, asam lemak bebas memulai proses glukoneogenesis dan terjadi resistensi insulin di hepar serta otot. Asam lemak bebas juga mengganggu sekresi insulin pada sel beta pankreas.

#### 4. Otot

Kinerja insulin terganggu pada penderita DM2 yang multipel di sel otot. Hal ini terjadi akibat fosforilasi tirosin mengalami gangguan dalam transpor glukosa ke dalam sel otot, penurunan oksidasi glukosa, dan sintesis glikogen.

#### 5. Hepar

Terjadi proses glukoneogenesis menyebabkan glukosa meningkat dalam keadaan basal oleh hepar.

#### 6. Otak

Mekanisme otak akan memulai kompensasi saat tubuh mengalami hiperinsulinemia akibat resistensi insulin sehingga otak akan terus memberi sinyal untuk meningkatkan asupan makanan.

#### 7. Kolon/ mikrobiota

Mikrobiota kolon mengalami perubahan komposisi yang berperan pada peningkatan kadar glukosa darah. Probiotik dan prebiotik dianggap sebagai mediator dalam menghambat glukosa darah yang meningkat.

#### 8. Usus halus

Absorpsi karbohidrat pada saluran pencernaan melibatkan kerja enzim *alpha-glukosidase* yang bertugas untuk pemecahan polisakarida menjadi monosakarida dan diserap oleh usus sehingga glukosa akan meningkat setelah makan. Hormon inrektin oleh *glucagon like polypeptide-1* (GLP-1) dan *glucose dependent insulinotrophic polypeptide* atau *gastric inhibitory polypeptide* (GIP). Penderita DM2 mengalami penurunan pada GLP-1 dan resistensi GIP.



## 9. Ginjal

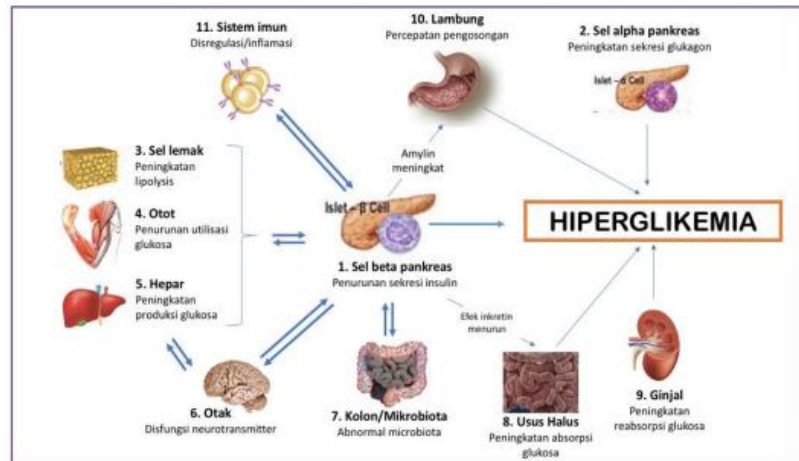
Sebanyak 90% glukosa difiltrasi dan diserap kembali melalui *Sodium Glucose Cotransporter 2* (SGLT-2) pada tubulus proksimal sisanya akan diabsorpsi di tubulus desenden dan asenden oleh SGLT-1 sehingga glukosa tidak ada dalam urin. Gen SGLT-2 mengalami peningkatan saat kondisi DM dan reabsorpsi glukosa juga akan meningkat dan mengakibatkan hiperglikemik.

## 10. Lambung

Sel beta pankreas yang rusak mengalami penurunan produksi amilin sehingga mempercepat pengosongan lambung dan meningkat absorpsi glukosa pada usus halus yang berhubungan.

## 11. Sistem imun

Aktivasi sistem imun bawaan akan meningkat ketika DM2 terjadi yang dipicu oleh pelepasan sitokin yang kemudian menyebabkan inflamasi. Hal ini menyebabkan kebutuhan metabolisme untuk memproduksi insulin meningkat. Penderita DM2 mengalami resisten insulin perifer dan defisiensi insulin, disertai inflamasi kronik yang terjadi pada jaringan perifer seperti jaringan lemak, otot, dan hepar.



Gambar 2.1 The Egregious Eleven, (PERKENI, 2019)

Diabetes Melitus Tipe 2 ditandai dengan resistensi insulin perifer dan penurunan produksi insulin, disertai dengan inflamasi kronik derajat rendah pada jaringan perifer seperti adiposa, hepar, dan otot. Obesitas dan resistensi insulin terbukti terlibat dalam patogenesis DMT2 yang dianggap sebagai kelainan imun.<sup>19</sup>

### 2.1.5 Gejala Klinis

Gejala umum yang dirasakan oleh penderita DMT2 adalah sebagai berikut:<sup>20</sup>

#### 1. Meningkatnya rasa haus (polidipsi)

Kondisi hiperglikemi akan menyebabkan pasiennya mengalami rasa haus yang meningkat dari biasanya. Hal ini dikarenakan meningkatnya volume urin hingga 5 kali lipat yang memungkinkan terjadi dehidrasi, untuk menghindari hal tersebut tubuh akan meningkatkan rasa haus pada penderita supaya cairan tubuh terpenuhi.

#### 2. Meningkatnya rasa lapar (polifagi)

Glukosa yang gagal masuk ke intrasel akan memberi sinyal pada otak bahwa tubuh kekurangan asupan makanan, maka tubuh akan berusaha untuk mencukupi asupan energi tersebut dengan menimbulkan rasa lapar.

### 3. Meningkatnya volume urin (poliuria)

Sering buang air kecil saat malam hari atau poliuria pada penderita DM karena ginjal yang tidak sanggup menahan kadar gula darah yang berlebih >180 mg/dl sehingga ginjal akan mengeluarkan glukosa yang tidak bisa disaring melalui urin.

### 4. Mudah lelah

Glukosa merupakan sumber energi utama manusia, namun jika terjadi masalah pada insulin yang membawa glukosa ke intrasel maka sel-sel tubuh tidak memiliki bahan untuk dimetabolisme untuk bisa dijadikan energi, sehingga orang yang mengalami gangguan pada insulin seperti DM akan merasa mudah lelah.

### 5. Penurunan berat badan

Energi pada manusia biasanya tercukupi dari asupan glukosa, namun jika glukosa gagal untuk dijadikan energi karena penurunan insulin maka tubuh akan cepat beralih mengolah lemak dan protein sebagai sumber energi utama.

## **2.1.6 Pemeriksaan penunjang**

Diagnosis DMT2 dapat ditegakkan dengan melakukan 4 jenis pemeriksaan, yaitu:<sup>21, 22</sup>

### 1. Pemeriksaan Glukosa Darah Puasa (GDP)

Pemeriksaan GDP merupakan salah satu cara untuk melihat kadar gula darah setelah pasien berpuasa  $\pm 8$  jam sebelum dilakukan pemeriksaan. Tubuh yang tidak menerima asupan makanan tubuh akan mempertahankan plasma gula darah di berbagai tempat dalam tubuh seperti pada hepar, jaringan perifer atau hormon yang terdampak jika terjadi peningkatan

glukosa darah.

2. Pemeriksaan glukosa darah 2 jam setelah makan/ toleransi

Pemeriksaan glukosa darah 2 jam setelah makan merupakan pemeriksaan glukosa yang diambil setelah 2 jam pasien makan atau dengan pemberian glukosa. Tes ini bertujuan untuk melihat respon metabolik terhadap karbohidrat setelah makan.

3. Pemeriksaan HbA1C

Pemeriksaan HbA1C bertujuan untuk mengukur jumlah hemoglobin yang berikatan dengan glukosa selama 3 bulan terakhir.

4. Pemeriksaan glukosa acak

Tes ini digunakan untuk memberikan gambaran tentang seberapa baik tubuh mengatur kadar gula darah dalam kondisi normal, tanpa pengaruh makanan terakhir yang dikonsumsi.

Tabel 2.1 Kriteria Diagnosis Untuk Prediabetes Dan Diabetes

Kriteria	Normal	Pradiabetes	Diabetes
Kadar glukosa puasa	$\leq 99$ mg/dL	100-125 mg/dL (5,6-6,9 mmol/L)	$\geq 126$ mg/dL (7,0 mmol/L)
Kadar glukosa toleransi	$< 139$ mg/dL	140-199 mg/dL (7,8-11,0 mmol/L)	$> 200$ mg/dL (11,1 mmol/L)
Kadar hemoglobin terglikasi	$< 5,6\%$	5,7-6,4%	$> 6,5\%$

### 2.1.7 Tatalaksana

Tujuan penatalaksanaan DM2 adalah untuk meningkatkan kualitas hidup pasien yang meliputi:<sup>23</sup>

- Tujuan jangka pendek : menghilangkan keluhan, memperbaiki kualitas hidup pasien, dan mencegah risiko komplikasi.
- Tujuan jangka panjang : mencegah dan menghambat proses komplikasi DM

mikrovaskular dan makrovaskular.

- Tujuan akhir menurunkan risiko kematian pada penderita DM.

Pengendalian glukosa darah merupakan cara untuk mencapai tujuan tersebut, PERKENI membagi cara pengendalian DMT2 secara non farmakologi dan farmakologi.<sup>23</sup>

#### 1. Tatalaksana Non Farmakologi

Perubahan gaya hidup merupakan hal pertama yang harus dilakukan dalam pengendalian gula darah secara non farmakologi. Perubahan gaya hidup dimulai dari diet tinggi serat dan rendah lemak yang bermanfaat dalam penurunan berat badan dan meningkatkan sensitivitas tubuh terhadap insulin. Kemudian peningkatan aktivitas fisik juga berpengaruh terhadap pengendalian gula darah, salah satunya rutin olahraga yang dapat mencegah dan mengontrol diabetes. Selain itu, olahraga dapat mengurangi berat badan, meningkatkan sensitivitas tubuh terhadap insulin dan mengurangi stres.

#### 2. Tatalaksana Farmakologi

Terapi DMT2 secara farmakologi dibagi menjadi 2 yaitu secara oral dan suntik sebagai berikut:

##### 1.) Obat Antihiperglikemia Oral

Obat antihiperglikemi oral dibagi berdasarkan mekanisme kerjanya menjadi

6 golongan :

##### a. Pemacu Sekresi Insulin (*Insulin Secretagogue*)

##### ▪ Sulfoniluria

Sulfoniluria mempunyai efek utama untuk meningkatkan produksi insulin oleh sel beta pankreas. Namun, penggunaan

sulfoniluria memiliki efek samping hipoglikemi pada kelompok lanjut usia, gangguan fungsi hepar dan ginjal. Contoh obat golongan ini adalah glibenclamide, glipizide, glimepiride, gliquidone, dan glicazide.

- Glinid

Cara kerja glinid mirip sulfoniluria namun memiliki perbedaan pada reseptor penerimanya, dengan hasil akhir berupa menekan produksi insulin fase pertama. Contoh obat golongan ini adalah Repaglinid dan Nateglinid. Obat ini mampu mengatasi hiperglikemia yang terjadi 2 jam setelah makan

b. Peningkat sensitivitas terhadap insulin (*Insulin Sensitizers*)

- Metformin

Metformin memiliki efek utama dalam mengurangi proses glukoneogenesis dan memperbaiki glukosa di jaringan perifer. Efek samping metformin adalah gangguan pencernaan seperti dispepsia, diare, dan lain-lain.

- Tiazolidinedion (TZD)

Golongan obat ini mempunyai efek menurunkan resistensi insulin dengan meningkatkan jumlah protein pengangkut glukosa sehingga memperbaiki jumlah glukosa di perifer.

c. Penghambat Alfa Glukosidase

Mekanisme obat ini yaitu dengan menghambat kerja enzim alfa glukosidase di saluran cerna sehingga menghambat absorpsi glukosa dalam usus halus. Efek samping yang ditimbulkan obat ini adalah

berupa bloating sehingga sering flatus.

d. Penghambat enzim Dipeptidil Peptidase-4 (DPP-4)

Penghambat DPP-4 akan mencegah pengaktifan GLP-1 dan GIP sehingga dapat memperbaiki toleransi glukosa, meningkatkan respon insulin, dan menurunkan sekresi glukagon. Contoh obat golongan ini ialah vildagliptin, linagliptin, sitagliptin, saxagliptin, dan alogliptin.

e. Penghambat enzim Sodium Glucose co-Transporter 2

Mekanisme kerja obat ini dengan menghambat reabsorpsi glukosa di tubulus proksimal dan meningkatkan ekskresi glukosa melalui urin. Efek samping obat ini yaitu infeksi saluran kemih.

2.) Obat Antihiperglikemia suntik

Obat antihiperglikemi kronik termasuk insulin, GLP-1 RA atau kombinasi keduanya.

a. Insulin

Jenis dan lama kerja insulin dibagi menjadi 6 jenis yaitu :

- Insulin kerja cepat
- Insulin kerja pendek
- Insulin kerja menengah
- Insulin kerja panjang
- Insulin kerja ultra panjang
- Insulin campuran tetap, kerja pendek dengan menengah dan kerja cepat dengan menengah
- Insulin campuran tetap, kerja ultra panjang dengan kerja cepat

Efek samping penggunaan insulin yaitu dapat menimbulkan hipoglikemia dan alergi.

b. Penggunaan GLP-1 RA

Cara pemakaian obat ini yaitu dengan suntikan melalui subkutan untuk menurunkan kadar gula darah. Cara kerjanya dibagi 2 yaitu kerja pendek dan kerja panjang. Jenis jangka pendek memiliki paruh waktu < 24 jam sehingga penggunaannya 2 kali sehari contohnya seperti exenatide, sedangkan jenis panjang diberikan 1 kali sehari contohnya seperti liraglutide dan lixisenatide.

c. Kombinasi insulin dengan GLP-1 RA

Manfaat insulin terutama adalah menurunkan glukosa darah puasa, sedangkan GLP-1 RA menurunkan glukosa setelah makan dengan target akhir adalah penurunan HbA1c. Manfaat lain dari kombinasi adalah menurunkan risiko hipoglikemi dan mengurangi potensi peningkatan berat badan.

Tabel 2.2 Obat Antihiperglikemi

<b>obat antihiperglikemi oral</b>	Pemacu sekresi insulin
	1. Sulfoniluria 2. Glinid
	Peningkat sensitivitas insulin
	1. Metformin 2. Tiazolidinedion (TZD)
	Alfa Glukosidase inhibitor
	Enzim dipeptidil peptidase 4 inhibitor
	Enzim sodium glucose co-transporter 2 inhibitor



<b>Obat antihiperglikemi suntik</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Insulin</li> <li>2. Agonis GLP-1</li> <li>3. Kombinasi</li> </ol>
-------------------------------------	---

### 2.1.8 Komplikasi

Diabetes Melitus Tipe 2 yang tidak terkontrol akan meningkatkan risiko komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular. Komplikasi mikrovaskular meliputi neuropati, nefropati dan retinopati, sedangkan komplikasi makrovaskular termasuk dalam penyakit jantung, stroke, dan pembuluh darah perifer. Komplikasi yang ditimbulkan oleh DM2 yang tidak terkontrol sebagai berikut : <sup>24,25</sup>

#### A. Komplikasi akut

##### a. Hipoglikemi

Hipoglikemi disebabkan oleh efek samping dari penggunaan obat-obatan pengontrol gula darah diluar pengawasan, obat ini bisa berupa oral ataupun suntikan insulin. Selain itu, penurunan selera makan juga merupakan penyebab terjadinya hipoglikemi pada pasien lansia dengan DM2.

##### b. Krisis hiperglikemi

Terdapat 2 jenis krisis hiperglikemi komplikasi dari DM yaitu :

- Ketoasidosis Diabetik (KAD) terjadi peningkatan gula darah, kadar keton, serta keasaman darah.
- Hiperglikemi hiperosmolar nonketotik (SHH) mengacu peningkatan kadar gula darah berat > 600 mg/dL, dehidrasi ekstrem, serta darah mengalami hiperosmolar dapat menyebabkan penurunan kesadaran.

## B. Komplikasi kronik

### a. Neuropati somatik

Gangguan yang terjadi pada bagian sensorik dapat mengakibatkan hilangnya sensasi atau merasa kebas jika terluka pasien terlambat melakukan penanganan yang dapat menimbulkan komplikasi lain seperti ulkus diabetik

### b. Retinopati Diabetik

Retinopati Diabetik merupakan komplikasi mikrovaskular dari diabetes melitus yang disebabkan oleh kerusakan pada pembuluh darah retina. Hiperglikemi yang berlangsung kronis akan merusak mata secara progresif sehingga penderita tidak menyadari bahwa telah terjadi kerusakan pada retina hingga akhirnya RD menimbulkan gejala gangguan penglihatan hingga kebutaan.

### c. Katarak

Penyakit katarak adalah penyakit yang ditandai kekeruhan lensa mata sehingga mengganggu proses masuk cahaya ke mata.

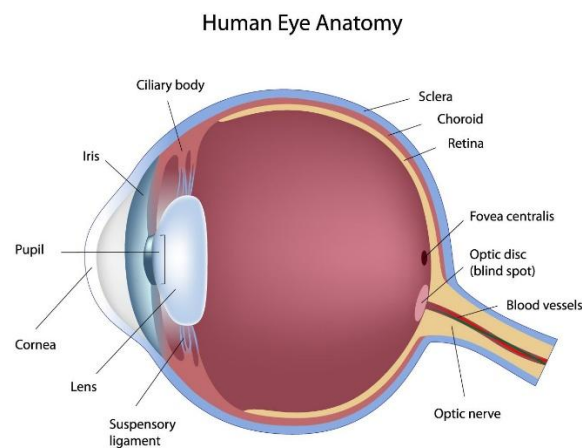
### d. Glaukoma

Glaukoma akibat DM dapat terjadi karena adanya mikroaneurisma pada pembuluh darah retina yang selanjutnya akan menurunkan pasokan darah, terjadinya oklusi kapiler, angiogenesis, pendarahan, dan pembentukan jaringan fibrotik.

## 2.2 Retinopati Diabetik

### 2.2.1 Anatomi dan Histologi Mata

Retina mata adalah sejenis saraf yang terletak di bagian belakang mata dan memiliki ketebalan sekitar 0,5 mm. Retina memiliki diameter antara 30 dan 40 mm. Saraf optik dan arcade vaskular bagian temporal adalah dua fitur yang paling menonjol. Bagian tengah makula atau fovea memiliki panjang 1,5 mm, yang berguna untuk observasi spasial dan peringatan. *Zona Avaskular Foveal* ( FAZ ) adalah area retina yang tidak tervaskularisasi.<sup>6</sup>

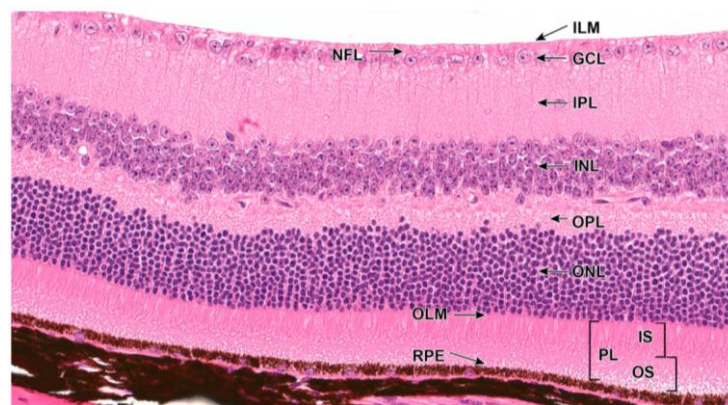


Gambar 2. 2 Human Eye Anatomy

Lapisan retina bagian terdalam terdiri dari membrana limitan interna, *Retina Nerve Fiber Layer* (RNFL) yang berisi sel ganglion, lapisan badan ganglion yang terdiri dari sel ganglion, lapisan pleksiform dalam, lapisan nuklear dalam, membrana limitan medial, lapisan pleksiform luar, lapisan serabut henle, lapisan nuklear luar yang tersusun nukleus fotoreseptor, membrana limitan ekstenal, *conus cell*, *rod cell* dalam dan luar. Retina memiliki 2 tipe sel glial yaitu makroglia terdiri dari sel Muller dan astrosit dan juga mikroglia.<sup>6</sup>

Sel ganglion memberikan respon terhadap sel bipolar dan sel amakrin. Akson sel ganglion membentang sepanjang permukaan retina dan menyatu membentuk

saraf optik. Sel ganglion dapat diklasifikasikan berdasarkan respon terhadap cahaya atau bisa di area pusat atau sekitar ganglion, yaitu Tipe “ON” (menyala saat terstimulus), “ON-OFF” (respon ganda), dan “OFF” (mati saat terstimulus). Secara morfologi sel ganglion juga dibagi menjadi sel alfa dan beta. Tiap sel juga dibagi pula menjadi tipe a dan b berdasarkan pola percabangan ganglion di lapisan sublamina. Subtipe a merupakan sel ganglion tipe sentral untuk “OFF” sementara subtipe b merupakan tipe sentral untuk “ON”. Berdasarkan karakteristik respon, sel ganglion dibedakan menjadi sel tipe X (respon berkelanjutan) dan Y (respon singkat/ transien).<sup>26</sup>



Gambar 2.3 Histologi Lapisan Retina Mencit Jantan

Sedangkan dalam fungsi pengolahan visual diklasifikasikan menjadi sel magnoseluler (sel M) dan parvoseluler (sel P). Retina manusia didominasi oleh sel P yang memiliki tingkat sensitivitas frekuensi spasial tinggi, sehingga optimal dalam penglihatan tajam. Sedangkan sel M lebih banyak pada perifer retina dan memiliki frekuensi spasial rendah berfungsi pada penglihatan gerak pada kontras rendah dan ketajaman yang kurang detail. Sel ganglion membentuk aksi potensial yang berasal dari retina menuju nukleus genikulat lateral. Sel ganglion membentuk aksi potensial ditransfer dalam jarak jauh hingga menuju otak. Seluruh stimulus visual yang dilihat oleh seseorang terjadi karena respon sel ganglion, jika terjadi

masalah dalam transmisi sinyal ini ke otak, maka akan terjadi penurunan fungsi penglihatan.<sup>8,26</sup>

### **2.2.2 Definisi**

Retinopati Diabetik merupakan komplikasi mikrovaskular DMT2 yang berdampak pada retina dan bersifat irreversible. Komplikasi ini terjadi pada mata yang diawali dengan kerusakan pembuluh darah. Kerusakan pada pembuluh darah retina muncul karena peningkatan kadar glukosa dalam darah yang berlangsung lama, sehingga menyebabkan nutrisi yang diperlukan retina terhambat. Hal ini mengakibatkan terbentuknya mikroaneurisma yang rentan mengalami kebocoran sehingga akan menyebabkan gangguan dalam penglihatan bahkan kebutaan permanen.<sup>27</sup>

### **2.2.3 Epidemiologi**

Tingkat kejadian RD berdasarkan data nasional belum bisa dipastikan namun menurut data penelitian yang dilakukan oleh *Urban Eye Health Study* ditemukan jumlah penderita RD di wilayah DKI Jakarta sebesar 58,3%. Retinopati Diabetik juga merupakan kasus rujukan paling banyak disalah satu RSUD DR. H Abdul Moeloek Provinsi Lampung yang terus meningkat selama tahun 2019-2022.<sup>10</sup>

### **2.2.4 Faktor Risiko**

Faktor risiko terjadinya RD sama hal pada DMT2 dan dapat dibagi menjadi faktor risiko yang bisa dimodifikasi dan tidak bisa dimodifikasi :<sup>28</sup>

Faktor risiko yang bisa dimodifikasi :

#### **a. Diabetes tidak terkontrol**

Gula darah tinggi (hiperglikemia) tidak terkontrol dapat memicu peningkatan radikal bebas seperti produk *Advanced Glycation End-products* (AGE), sorbitol, dan *Reactive Oxygen Species* (ROS).<sup>36</sup>

Peningkatan radikal bebas ini dapat mengganggu sirkulasi, menyebabkan hipoksia, dan inflamasi retina.

*b. Body Mass Index*

Massa indeks tubuh yang tinggi menjadi salah satu faktor risiko terjadinya RD pada orang dewasa. Obesitas dapat menjadi pemicu terjadinya stres oksidatif dan meningkatkan *growth factor* pada endotel vaskular sehingga dapat memicu RD.

*c. Defisiensi Vitamin D*

Konsumsi vitamin D berperan dalam menurunkan risiko RD pada anak-anak dan dewasa. Vitamin D mampu meregulasi terjadinya inflamasi dan neovaskularisasi pada pasien RD. Penelitian sebelumnya menemukan bahwa kekurangan vitamin D dapat menjadi salah satu faktor risiko terjadinya RD.

*d. Rokok*

Rokok menjadi salah satu faktor risiko RD karena dapat merusak sel endotel vaskular sehingga meningkatkan tekanan darah dan mengganggu metabolisme glukosa yang mendukung terjadinya RD.

Faktor risiko yang tidak bisa dimodifikasi :

*a. Durasi mengidap DMT2*

Hiperglikemia yang kronis dapat menyebabkan perubahan fisiologis dan biokimiawi yang kemudian dapat menyebabkan kerusakan pembuluh darah retina, hilangnya perisit, proliferasi sel endotel, penebalan membran basalis hingga oklusi kapiler dan keadaan iskemia. Retinopati Diabetik biasanya terjadi pada pasien DMT2 tidak terkontrol dengan durasi mengidap

penyakit ini  $\pm 10$  tahun.

b. Jenis DM

Diabetes tipe 1 cenderung memiliki risiko lebih tinggi untuk mengembangkan RD lebih awal, sementara DMT2 sering kali berhubungan dengan durasi penyakit yang lebih lama dan dapat menyebabkan komplikasi yang lebih serius.

### 2.2.5 Gejala Klinis

Retinopati Diabetik pada stadium awal biasanya tidak menimbulkan gejala, hal ini mengakibatkan keterlambatan penanganan RD, pasien akan menyadari jika sudah mengalami gejala gangguan penglihatan. Gejala yang dirasakan oleh pasien RD berdasarkan ADA tahun 2021 sebagai berikut:<sup>27,29</sup>

1. Muncul bayangan seperti bintik atau garis pada penglihatan (*floaters*)

*Floaters* sering terjadi dan tidak berbahaya jika jumlahnya sedikit, terjadi sesekali, tidak bertambah parah, dan tidak mengganggu penglihatan. Kondisi normal *floaters* dapat muncul ketika melihat cahaya matahari atau memandang warna cerah terlalu lama, hal ini karena iluminasi terang yang meningkatkan kontras cahaya di sekitarnya. *Floaters* yang tak kunjung hilang menyimpulkan telah terjadi proses patologi pada mata, lebih tepatnya pada cairan vitreus yang berkurang sehingga membentuk struktur kolagen.

2. Penglihatan buram

Penglihatan yang buram pada RD disebabkan terjadinya kerusakan vaskular retina, pembengkakan lensa mata, dan terbentuknya jaringan fibrotik.

3. Penglihatan berubah secara periodik dari kabur menjadi jelas

Hal ini disebabkan karena fluktuasi hiperglikemi yang mempengaruhi lensa

mata menyebabkan pembengkakan dan perubahan fokus lensa mata.

4. Terdapat area *blank* atau gelap di lapang pandang

Area gelap pada lapang pandang RD disebabkan oleh kerusakan vaskular retina, jaringan parut/ fibrosis atau iskemia pada retina akibat kematian sel retina.

5. Penurunan fungsi penglihatan saat malam hari dan persepsi warna

Penurunan fungsi penglihatan saat malam hari atau *nyctalopia* disebabkan oleh kerusakan pada fotoreseptor sel *rods* dan *cones* yang bertanggung jawab untuk penglihatan saat malam hari dan persepsi warna, sehingga pada penderita RD juga mengalami gangguan persepsi warna, selain itu penyebab lainnya yaitu edema pada makula dan fluktuasi hiperglikemi.

### 2.2.6 Patogenesis

Retinopati Diabetik merupakan salah satu komplikasi mikrovaskular DMT2 yang menyerang organ mata ditandai dengan kerusakan pada kapiler retina yang jika tidak ditangani akan mengakibatkan kebutaan total dan bersifat permanen. Mekanisme terjadinya RD berhubungan erat dengan tingkat kadar glukosa darah yang tinggi, dimulai dari terjadinya peningkatan fluks glukosa pada jalur heksosamin, aktivasi Protein Kinase C (PKC), hiperaktivitas dari jalur *Plasma Kallikrein-Kinin* (PKK) dan peningkatan kadar AGEs. Peningkatan dari komponen-komponen ini akan merangsang aktivitas sitokin, *growth factor*, dan disfungsi endotel vaskular sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan permeabilitas vaskular dan penyumbatan mikrovaskular. Penyumbatan mikrovaskular dapat menimbulkan mikroaneurisma, iskemia retina hingga neovaskularisasi.<sup>12, 30</sup>

Abnormalitas vaskular pada RD memperlihatkan terjadi perubahan struktur



retina seperti lenyapnya sel perisit, membran basal yang menebal, menghilangnya sel endotel, leukositosis, peningkatan permeabilitas vaskular. Proses terjadinya RD ditandai dengan vaskular retina mengalami perubahan, adanya lesi pada vaskular, disfungsi glial, dan sel Muller mengalami pembengkakan, kerusakan saraf, teraktivasinya mikroglia, rusaknya *Retinal Pigmen Epitelium* (RPE) dan *Blood Retinal Barrier* (BRB) yang menipis sehingga terjadi penumpukan cairan pada retina dan dapat terlihat seperti edema, penebalan lapisan retina, dan peningkatan cairan pada subretina.<sup>8</sup>

Sel perisit merupakan sel kontraktile retina yang memiliki fungsi terhadap autoregulasi mikrovaskular retina. Lenyapnya sel perisit merupakan awal mula terjadinya RD. Proses ini ditandai dengan munculnya mikroaneurisma yang disebabkan melemahnya kekuatan dinding kapiler. Terdapat 2 hipotesa terjadinya degenerasi sel perisit yang disebabkan oleh kondisi hiperglikemi yaitu melalui jalur *aldose reductase* dan *platelet-derived growth factor-beta*. Kedua jalur ini diduga terlibat dalam degenerasi sel perisit karena memiliki peran penting dalam menjaga daya hidup sel perisit yang matur.<sup>6</sup>

Penebalan membran basalis disebabkan aktivasi melalui jalur *aldose reductase* dalam mengubah glukosa menjadi sorbitol oleh koenzim *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH). Sorbitol dibentuk menjadi fruktosa oleh *sorbitol dehydroginase* (SDH). Sorbitol memiliki sifat hidrofilik sehingga tidak bisa berdifusi ke dalam membran sel, hal ini menyebabkan terjadinya penumpukan dan peningkatan osmotik endotel di vaskular retina, sel perisit menghilang, dan penebalan membran basalis. Fruktosa akan berikatan dengan fosfat menjadi *fructose-3-phosphate* dan berdiferensiasi menjadi *3-deoxyglucosone* yang

kemudian membentuk AGEs.<sup>6</sup>

*Advance Glycation Endproducts* merupakan unsur lipid yang telah termodifikasi. AGEs dapat merusak morfologi retina melalui reseptor dependent dan independent. Jalur reseptor dependent merupakan jalur AGEs yang berikatan dengan reseptornya sendiri yaitu *receptor for AGEs* (RAGE) yang ditemukan pada retina pasien penderita DMT2. Hubungan antara AGEs dengan reseptornya akan menyebabkan stres oksidatif dan reaksi inflamasi, kemudian pada jalur independent dimediasi oleh aktivasi superoksida mitokondria dan PKC. Kedua jalur ini mengakibatkan kerusakan saraf retina akibat apoptosis sel ganglion yang dipicu oleh stres oksidatif.<sup>6</sup>

Ketidakseimbangan regulasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan salah satu faktor penyebab RD. Saat kondisi normal, ROS membantu tubuh untuk seleksi mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh yang dapat merusak sel. Namun, saat kadar ROS melonjak tinggi dapat merusak sel itu sendiri melalui proses peroksidase lipid, modifikasi DNA, destruksi protein, serta merusak unsur mitokondria. Aktivasi ROS juga mengaktifkan jalur *poly-(ADP-ribose)-polymerase* (PARP) yang menghambat *glyceraldehyde phosphate dehydrogenase* (GAPDH) sehingga terjadi penumpukan kadar metabolit glikolitik. Akumulasi metabolit ini akan mengaktifkan jalur lainnya seperti AGEs, PKC, polyol, dan hexosamin yang memperburuk RD.<sup>9</sup>

Peningkatan AGEs dan ROS merupakan unsur yang menyebabkan teraktivasinya PKC tanpa melibatkan jalur *aldose reductase*. Aktivasi PKC dapat merusak vaskular melalui peningkatan permeabilitas vaskular, peningkatan *nitric oxide*, leukositosis, dan perubahan aliran darah. Jumlah PKC yang berlebihan

mengakibatkan terbentuknya *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang merupakan faktor petogenik *Diabetic Macular Edema* (DME) dan *Proliferative Diabetic Retinopathy* (PDR).<sup>9</sup>

Mekanisme lain yang terlibat dalam RD selain perubahan vaskular adalah proses neurodegeneratif. Proses ini melibatkan apoptosis yang merupakan kematian sel yang terprogram dengan perubahan morfologi sel, seperti penurunan komponen air sel, fragmentasi nukleus dan penebalan sel membran. Apoptosis yang terjadi pada RD adalah apoptosis sel ganglion yang dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti aktivasi stres oksidatif, peningkatan kadar AGEs, reaktivasi sel glial, dan penurunan faktor neuroprotektif. Apoptosis sel ganglion didukung oleh gliosis reaktif pada sel glial yaitu makrogliol berupa sel muller dan astrosit serta mikrogliol. Hiperglikemi yang berlangsung lama akan menimbulkan reaktif gliosis yang berlebihan dari *Glial Acidic Fibrillar Protein* (GFAP) oleh sel muller. Komponen normalnya diproduksi oleh sel astrosit bukan sel muller. Aktivasi sel mikrogliol akan menyebabkan pelepasan sitokin yang berperan dalam kematian sel neuron. Agen proapoptosis dan *survival signal* dapat dideteksi pada retina pasien DMT2.<sup>6</sup>

Penyebab timbulnya apoptosis sel ganglion dipengaruhi oleh 2 rute yaitu rute intrinsik dan rute ekstrinsik. Rute intrinsik atau biasanya dikenal dengan jalur mitokondria terjadi karena aktivasi dari caspase 3 atau caspase eksekutor. Pada jalur mitokondria ini melibatkan komponen intrasel dan proses stres pada intrasel yaitu kerusakan DNA, ROS, atau eksitoksisitas. Rute ekstrinsik menyebabkan apoptosis dengan melibatkan komponen diluar sel seperti pengikatan ligan dengan FAS/CD95, TNF- $\alpha$  atau ligan yang berpindah apoptosis TNF (TRAIL) dengan reseptor masing-masing. Pada rute ekstrinsik yang mengalami aktivasi adalah

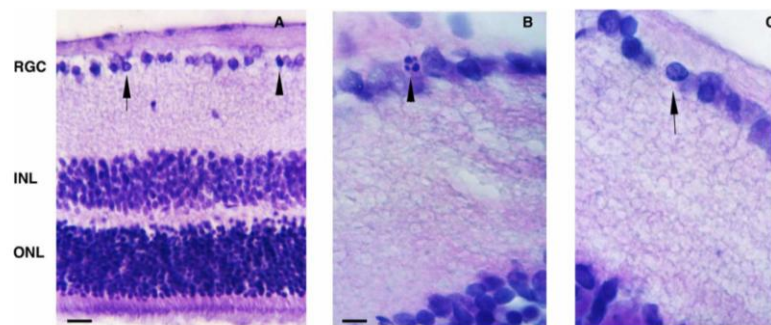
caspase 8 dan kemudian mendorong proses pembelahan caspase 3 dan memulai proses apoptosis. Mekanisme yang terjadi pada kedua rute ini berkontribusi pada mekanisme kerusakan yang terjadi pada retina. Apoptosis sel ganglion melibatkan pengaktifan pada jalur caspase dengan distimulus oleh nuklease dan merusak nukleus kemudian terjadinya aktivasi protease yang akan merusak sitoplasma dan sitoskeleton yang merupakan penyokong suatu sel. Caspase 3 merupakan media terjadinya apoptosis neuron retina dan menghambat penglihatan. Apoptosis sel ganglion bukan hanya melibatkan faktor proapoptosis namun juga terjadinya penurunan faktor neuroprotektif seperti somatostatin (SST), *Pigment Epithelial Derived Factor* (PEDF), dan *Intertitial Retinol Binding Protein* (IRBP) yang ditemukan pada penderita DM.<sup>6, 12</sup>

Teori *Wear and Tear* menjelaskan bahwa kerusakan pada tubuh dikarenakan penggunaan yang berlebihan dan adanya penyalahgunaan organ. Selain itu, penurunan fungsi organ juga disebabkan oleh toksin dari makanan dan lingkungan, seperti konsumsi makanan berlemak, gula, kafein, alkohol, dan lain-lain secara berlebihan. Paparan tersebut jika dibiarkan dalam waktu yang lama akan mempercepat penuaan dan penurunan fungsi organ. Teori ini meliputi rusaknya DNA dan radikal bebas yang menyebabkan oksidasi lipid kemudian menghasilkan melanodehid yang menyebabkan gangguan fungsi biologi dan protein jaringan tersebut. Teori *Wear and Tear* juga didukung oleh teori terprogram atau apoptosis. Teori terprogram merupakan jam biologis dalam tubuh manusia dengan waktu kematian sel yang terjadi secara alamiah. Teori ini berupa adanya keterbatasan replikasi sel dikarenakan setiap replikasi sel susunan telomer juga ikut memendek. Kemudian dilanjutkan dengan teori hormon, bertambahnya usia seseorang maka

akan terjadi penurunan hormon yang akan mengganggu fungsi tubuh.<sup>31</sup>

Apoptosis retinal pada tikus dengan diabetik dapat dilihat paling cepat 1 minggu sampai 1 bulan setelah induksi diabetik. Retina tikus (*Rattus norvegicus*) ditemukan adanya peningkatan ROS secara signifikan dan pembelahan dari molekul pro-apoptosis yang menyebabkan hilangnya sel ganglion, sel fotoreseptor dan penipisan lapisan retina. Disamping itu, stres oksidatif juga turut terlibat dalam degenerasi retina pada RD.<sup>12</sup>

Studi eksperimental yang dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa perubahan neurodegeneratif seperti terjadinya apoptosis ganglion dan reaktivitas glial merupakan awal mula terjadinya RD yang terjadi dalam 2 fase yaitu kerusakan langsung pada *Retinal Ganglion Cell* (RGC) dan kerusakan sekunder pada RGC akibat respon sel non-neuronal disekitarnya.<sup>32</sup>



Gambar 2.4 Histopatologi Apoptosis Sel Ganglion Retina  
Tikus Jantan

Keterangan gambar : (A) iskemia yang berlangsung selama 45 menit pada retina tikus dan diikuti reperfusi selama 6 jam menyebabkan kondensasi (kepala panah) atau protein dan DNA inti sel memadat dan terorganisir serta marginalisasi (kepala panah hitam) menandakan sel mengalami apoptosis. Sel ganglion mengalami kondensasi (B) dan marginalisasi (C) lebih jelas.<sup>33</sup>

Hasil penelitian lain yang menggunakan *Zebrafish* diinduksi sukrosa

menyatakan ciri dari apoptosis sel ganglion yaitu sel yang telah mengalami piknotik ditandai adanya fragmentasi sel warna ungu kehitaman pada inti sel, dan sel yang sudah mengalami marginalisasi sel ganglion (*apoptotic body*).<sup>32</sup>

### 2.2.5 Pemeriksaan penunjang

Penegakan diagnosis pada RD dapat dilakukan dengan pemeriksaan *Optical Coherence Tomography* (OCT) dan *Fluorescein Angiografi* (FA)

#### 1.) Pemeriksaan OCT

Pemeriksaan OCT mampu mendeteksi suatu patologi makula seperti oklusi vena di retina, degenerasi makula, dan RD. Neurodegenerasi yang melibatkan apoptosis sel ganglion dapat dievaluasi secara *in vivo* dengan menilai RGC dan ketebalan RNFL menggunakan OCT.<sup>34,9</sup>

#### 2.) Pemeriksaan FA

Temuan pada pemeriksaan FA tampak kebocoran kapiler pada makula (mikroaneurisma) dan terjadi *hard exudate* yang mengakibatkan resorpsi cairan ekstrasvaskular lebih cepat dibandingkan lipid, sehingga terjadi deposit *yellow to white* di lapisan pleksiform dalam dan luar.<sup>9</sup>

### 2.2.6 Tatalaksana

Tatalaksana yang diberikan pada pasien RD bertujuan untuk mengurangi risiko terjadinya retinopati tahap lanjut dengan cara rutin untuk mengontrol gula darah, tekanan darah, lemak dan dilakukan observasi setiap tahun untuk melihat perkembangannya. Kemudian dapat pula dilakukan terapi lanjutan sebagai berikut:<sup>27</sup>

#### 1.) Fotokoagulasi Laser.

Fotokoagulasi laser tujuan terapi untuk meningkatkan asupan oksigen,

mengatasi hipoksia pada retina, dan menurunkan proliferasi pada vaskular retina, dan menekan terjadinya neovaskularisasi.

## 2.) Anti-VEGF.

Anti-VEGF berfungsi untuk mengurangi mikroaneurisma dan neovaskularisasi, selain itu juga berfungsi dalam mengurangi perdarahan selama operasi dan menekan kejadian perdarahan berulang serta memperbaiki ketajaman penglihatan.

## 3.) Steroid interval

Steroid interval merupakan salah satu terapi untuk edema makula pada pasien RD. Jenis kortikosteroid yang digunakan adalah triamcinolone acetone, dexamethasone, dan fluocinolon acetone.

## 4.) Virektomi pars plana

Tujuan terapi yaitu membersihkan korteks vitreus dan jaringan fibrovaskular serta mengobati retina jika terjadi robekan pada retina.

### **2.2.7 Pencegahan**

Pencegahan yang dilakukan dengan tujuan agar DM tidak berlanjut menjadi RD dengan cara menghindari dari faktor risiko yang mengakibatkan komplikasi.

Pencegahan RD dibagi menjadi 2 yaitu primer dan sekunder : <sup>7,27</sup>

#### a. Pencegahan primer

##### 1.) Meningkatkan ilmu pengetahuan

Mengetahui penyebab dan komplikasi yang timbul oleh penyakit ini diharapkan peningkatan kesadaran masyarakat untuk menghindari faktor risiko RD dan kenali gejala awal sebelum berlanjut menjadi komplikasi yang lebih parah.

## 2.) Modifikasi gaya hidup

Olahraga yang teratur dapat membantu pengendalian gula darah, menurunkan tekanan darah tinggi, dan kolesterol. Melakukan aktivitas fisik secara rutin dapat membantu dalam mengurangi risiko komplikasi RD.

## 3.) Rutin skrining dini

Retinopati Diabetik dapat terjadi tanpa gejala jika belum menyebabkan gangguan pada makula atau media penglihatan sehingga pemeriksaan mata rutin tiap tahun dilakukan untuk penderita DM.

### b. Pencegahan sekunder

Pencegahan sekunder diterapkan kepada pasien yang sudah menderita RD dengan tujuan menekan perkembangan penyakit tersebut.

#### 1.) Kontrol gula darah

Pengukuran dan pemeliharaan tingkat HbA1c yang tepat sangat penting dalam pengelolaan diabetes untuk mengurangi risiko kebutaan yang disebabkan RD.

#### 2.) Kontrol tekanan darah

Hipertensi dapat memperburuk kerusakan pembuluh darah di retina mata yang sudah rentan akibat diabetes, meningkatkan risiko perkembangan dan progresi RD. Pengelolaan hipertensi secara efektif dan pemantauan tekanan darah yang teratur sangat penting dalam upaya pencegahan dan pengendalian RD pada pasien DMT2.

#### 3.) Rutin jalani skrining

Skrining yang dilakukan berfungsi untuk menekan perkembangan RD agar



tidak semakin parah dan menurunkan kemungkinan terjadinya komplikasi lanjut seperti kebutaan permanen.

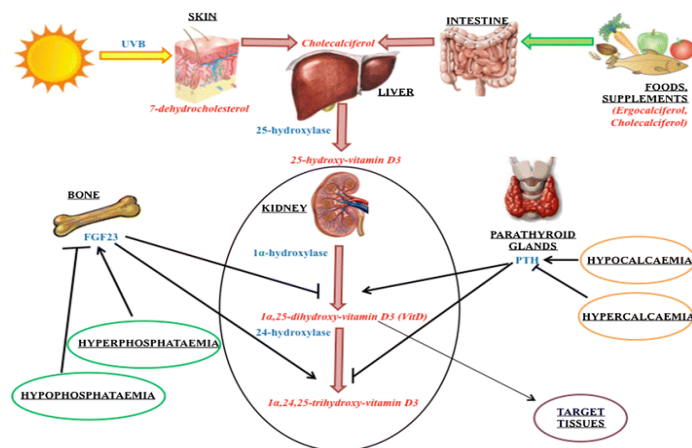
### 2.3 Vitamin D

Seiring berjalannya waktu banyak penelitian yang menggali lebih dalam manfaat antioksidan, salah satunya vitamin D. Vitamin D menjadi pusat perhatian karena perannya dalam sistem endokrin yang mengatur metabolisme mineral dan fungsi imun serta memungkinkan dalam mengatasi penyakit kronik. Manfaat yang dimiliki vitamin D terhadap sistem endokrin dapat dijadikan sebagai salah satu cara untuk mengendalikan glukosa darah.<sup>35, 11</sup>

Vitamin D atau kalsiferol merupakan bentuk vitamin larut lemak yang tersedia dalam bentuk vitamin D3 (kolekalsiferol) dan vitamin D2 (ergokalsiferol). Vitamin D3 disintesis di bawah kulit dengan pengaruh dari sinar ultraviolet B, sedangkan vitamin D2 bisa diperoleh melalui makanan. Vitamin D yang dibawa ke hepar akan mengubah D3 dan D2 ke bentuk 25-hidroksi vitamin D, kemudian dibawa ke renal agar terjadinya konversi vitamin D ke bentuk aktifnya yang siap diantar ke sel target dalam bentuk 1,25 dihidroksi vitamin D.<sup>35</sup>

Aktivitas molekuler 1,25(OH)D dibantu oleh *Vitamin D Receptor* (VDR). VDR berperan penting dalam reaktivitas vitamin D dengan 1,25(OH)D sebagai reseptor agonis. Selain itu 1,25(OH)D memiliki aksi hubungan genetik dan non-genetik. Aksi hubungan genetik yaitu dengan melalui ikatan dengan VDR, yang berfungsi sebagai pencetus transkripsi yang diaktifkan oleh agonis vitamin D. Selanjutnya VDR membentuk kompleks dimerik dengan *Retinoid X Receptor* (RXR). Hubungan antara 1,25(OH)D-VDR-RXR kemudian berpindah ke nukleus dan berinteraksi dengan *Vitamin D Responsive Elements* (VDRE) yang berada pada

reseptor gen yang responsif terhadap vitamin D.<sup>11, 36</sup>



Gambar 2.5 Metabolisme Vitamin D

### 2.3.1 Peran Vitamin D Terhadap Berbagai Penyakit

Reseptor vitamin D terdapat pada banyak tipe sel dan hampir di setiap jaringan tubuh manusia. Hal ini memungkinkan potensi vitamin D dalam menghambat berbagai kondisi medis, disamping fungsinya terhadap tulang vitamin D dapat digunakan untuk mencegah keganasan, penyakit kardiovaskuler, gangguan autoimun, infeksi dan diabetes.<sup>35, 37</sup>

#### 1.) Mencegah terjadinya keganasan

Penelitian oleh Lin dkk menunjukkan ada hubungan kuat antara kadar vitamin D dan kanker payudara di perempuan pascamenopause. Lin menyatakan ada kemungkinan vitamin D berfungsi dalam mengatur antiproliferasi dan prodiferensiasi sel manusia melalui reseptor vitamin D. Data dari 980 orang perempuan menunjukkan semakin tinggi asupan vitamin D akan mengurangi sebanyak 50% bahaya kanker payudara bila dibandingkan dengan mereka yang berasupan rendah.

#### 2.) Menurunkan risiko penyakit kardiovaskular

Holick dkk menunjukkan individu dengan hipovitaminosis D mengalami

kejadian infark miokard lebih banyak dibandingkan dengan yang berkadar vitamin D dalam darah yang normal. Hipotesis yang diajukan mengenai kondisi tersebut adalah bahwa ada pengaruh vitamin D dalam hasil renin, kemampuan vitamin D untuk: memperlambat proliferasi sel otot polos vaskular, menurunkan kadar kolesterol LDL dan meningkatkan kadar HDL.

### 3.) Memperbaiki Sensitivitas Insulin

Mekanisme yang mungkin mendasari peran vitamin D yaitu merangsang sel  $\beta$  secara langsung dan melalui perannya dalam kadar kalsium di sel beta pankreas menyebabkan peningkatan sekresi insulin. Diduga vitamin D juga meningkatkan ambilan glukosa di perifer dan meningkatkan kepekaan insulin.

### 4.) Imunomodulator Alami Pada Autoimun

Penelitian terdahulu menemukan bahwa adanya hubungan vitamin D dengan penyebaran penyakit, genetik, dan kejadian penyakit autoimun seperti DMT1, *multiple sclerosis*, rematoid arthritis dan penyakit Chron. Mekanisme yang mendasari antara lain vitamin D merangsang imunitas alami dengan mengaktifasi makrofag untuk menghasilkan *cathelicidin* yang berpeptida antimikroba. Vitamin D juga menekan imunitas adaptif dengan menghambat maturasi sel dendrit, mengurangi kemampuan untuk menunjukkan sel CD4. Defisiensi vitamin D juga menghambat proliferasi dan diferensiasi sel CD4 menjadi Th1 dan Th17 dan hasilan Th2.

### 5.) Mencegah Penyakit Infeksi

Bergman dkk menunjukkan suplementasi vitamin D satu kali per hari berdampak melindungi terhadap infeksi saluran pernapasan. Peran vitamin D pada pencegahan dan pengobatan infeksi kemungkinan disebabkan oleh

pengaruh di sistem imunitas tubuh melalui pengaturannya yang alami dan didapat. Vitamin D juga mempengaruhi hasil peptide antimikroba endogen seperti: cathelicidin dan mengatur kaskade inflamasi.

### **2.3.2 Pengaruh Vitamin D Dalam Menghambat DMT2**

Peran vitamin D pada DMT2 terdiri atas 4 mekanisme: pengaruh terhadap sekresi insulin, aksi insulin, sitokin inflamasi dan stress oksidatif.<sup>35</sup>

#### **1. Vitamin D Terhadap Sekresi Insulin**

Terdapat reseptor vitamin D di sel  $\beta$  pankreas dan ekspresi enzim 1,25 hidroksilase di sel  $\beta$  pankreas. Selain itu, vitamin D memperbaiki sekresi insulin dan toleransi glukosa melalui regulasi kadar kalsium. Kadar kalsium merangsang sekresi insulin secara tidak langsung dengan meningkatkan konsentrasi kalsium intrasel. Vitamin D juga memediasi aktivasi *endopeptida calcium-dependent* dengan memfasilitasi perubahan pro-insulin menjadi insulin.<sup>35</sup>

#### **2. Vitamin D Terhadap Aksi Insulin**

Vitamin D dapat memediasi aktivasi transkripsi gen insulin manusia (VDREs terdapat pada promotor gen insulin manusia) dan juga merangsang ekspresi reseptor insulin dengan demikian meningkatkan respons transport glukosa. Selain itu, vitamin D bermanfaat pada aksi insulin secara tidak langsung melalui peranannya dalam mengatur kadar kalsium ekstrasel, kalsium berguna untuk proses mediasi insulin di jaringan-jaringan yang berespons terhadap insulin.<sup>11, 35</sup>

#### **3. Vitamin D Terhadap Sitokin Inflamasi**

Vitamin D berinteraksi dengan elemen-elemen yang respons vitamin D di lokasi promotor gen sitokin untuk mengganggu faktor transkripsi inti yang terlibat dalam pembentukan dan aksi sitokin. Vitamin D menghambat terbentuknya sitokin

dengan mengatur ekspresi calbindin, protein pengikat kalsium sitosol yang ditemukan di banyak jaringan, termasuk sel  $\beta$  pankreas. Calbindin mencegah terjadinya apoptosis yang disebabkan oleh sitokin yang terjadi setelah peningkatan dalam kalsium bebas sitosol. Metabolit aktif 54 vitamin mempunyai efek anti-inflamatorik terhadap jumlah monosit inflamatorik, menurunkan ekspresi dan produksi beberapa sitokin pro-inflamatorik, termasuk TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, dan IL-8.<sup>35</sup>

#### **4. Vitamin D Terhadap Stres Oksidatif**

Salah satu konsekuensi paparan glukosa tinggi adalah mengaktivasi jalur poliol. Poliol saat kondisi normal berfungsi sebagai osmoregulasi, namun pada kondisi DM berkaitan dengan kerusakan jaringan. Aktivasi jalur poliol oleh hiperglikemia berkaitan dengan peningkatan produksi ROS intraseluler. Sel-sel pada pasien DM menunjukkan peningkatan kadar sorbitol, berkaitan dengan peningkatan produksi ROS intraseluler yang memicu stress oksidatif. Pemberian vitamin D signifikan menurunkan konsentrasi sorbitol intraseluler, yang dapat mencegah sel terpapar stres oksidatif.<sup>11, 35</sup>

Penelitian terdahulu menyatakan bahwa ada keterlibatan vitamin D dalam produksi insulin dan penurunan sensitivitas insulin karena pengikat vitamin D dan enzim 1- $\alpha$ -hidroksilase teridentifikasi di dalam sel  $\beta$  pankreas. Oleh karena itu, rendahnya jumlah vitamin D akan berdampak pada penurunan sensitivitas insulin dan apabila seseorang mengalami penurunan sensitivitas terhadap insulin maka akan membaik setelah diberikan suplemen vitamin D.<sup>35</sup>

#### **2.3.3 Peran Vitamin D Dalam Menghambat Retinopati Diabetik**

Diabetes Melitus Tipe 2 kronik dengan kadar gula yang tidak terkontrol

dapat menimbulkan komplikasi serius. Komplikasi yang terjadi dapat dibedakan secara makrovaskular dan mikrovaskular. Komplikasi makrovaskular merupakan gangguan pada pembuluh darah besar seperti penyakit arteri koroner, arteri perifer dan stroke. Komplikasi mikrovaskular melibatkan pembuluh darah kecil salah satunya adalah RD. Hiperglikemia kronik akan mengaktifkan beberapa jalur abnormal di dalam tubuh, salah satunya jalur poliol akibat peningkatan sorbitol dan ROS intraseluler, sehingga menyebabkan stres oksidatif. Penelitian menunjukkan bahwa vitamin D berperan dalam melindungi retina dengan cara mengurangi ROS dan radikal bebas intraseluler. Selain itu, vitamin D juga berperan dalam menghambat pembentukan mikroaneurisma dan mengurangi apoptosis sel melalui jalur caspase 3.<sup>38,35</sup>

Peran vitamin D dalam RD bisa dilihat dari berbagai cara pertama vitamin D yang berperan dalam meningkatkan sekresi insulin, mengurangi peradangan dengan menghambat sitokin proinflamasi, menekan proliferasi sel inflamasi, serta secara khusus menghambat neovaskularisasi yang tidak terkendali. Berikut merupakan cara vitamin D dalam menghambat perkembangan RD :<sup>39, 40</sup>

### **1. Peningkatkan produksi NO oleh eNOS (*Endothelial NO syntase*)**

Vitamin D berfungsi dalam peningkatan produksi NO yang bergantung pada enzim eNOS yang berperan dalam relaksasi otot dan dilatasi vaskular. *Nitric Oxide* tidak hanya berperan dalam relaksasi pembuluh darah, namun juga sebagai pelindung sel endotel dan menghambat agregasi platelet. Selain itu, NO juga berperan dalam patogenesis DM dan memberikan efek protektif terhadap RD.

### **2. Menurunkan Kadar Stres Oksidatif**

Vitamin D dapat mengurangi stres oksidatif melalui berbagai mekanisme seperti

meningkatkan sistem perlindungan antioksidan, menjaga fungsi mitokondria, memulihkan fungsi eNOS. Penelitian terbaru membuktikan bahwa hiperglikemi kronik menyebabkan peningkatan sitokin pro-inflamasi dan penurunan enzim antioksidan. Kelompok perlakuan dengan vitamin D mampu mengurangi produksi ROS dan aktivitas caspase 3 pada sel epitel pigmen retina yang terpapar dengan kadar glukosa yang tinggi. Hal ini menunjukkan vitamin D mampu melindungi retina dari kerusakan oksidatif dan peradangan yang disebabkan oleh hiperglikemi kronik.

### **3. Meningkatkan regulasi VEGF**

Vitamin D meningkatkan ekspresi VEGF dan reseptornya dengan cara mengikat langsung pada reseptor vitamin D pada area promotor VEGF. Produksi VEGF dalam keadaan fisiologis berperan dalam meningkatkan produksi NO melalui aktivitas enzim eNOS yang berfungsi sebagai vasodilator, namun ketika ekspresi VEGF berlebihan akan menyebabkan rusaknya sawar darah retina dan terbentuknya neovaskularisasi. Penelitian menunjukkan bahwa VDR dapat mengurangi neovaskularisasi abnormal pada retina ikan *zebrafish* dan tikus diabetik.

### **4. Menurunkan Proses Inflamasi dan Meningkatkan Sistem Imun**

Vitamin D menurunkan inflamasi melalui jalur inflamasi seperti ROS/TXNIP/NLRP3 dan menekan sinyal NF-kB. Selain itu, vitamin D meningkatkan aktivitas sel angiogenik myeloid, dan memodulasi respon imun dengan meningkatkan respon imun bawaan dan menghambat respon imun adaptif, serta mengurangi jumlah makrofag dan sel dendrit di retina..

### **5. Mengurangi Ekspresi Cascade 3**

Vitamin D dapat mengatur aktivasi cascade 3 yang beredar melalui modifikasi

inflamasi pada hepar dan menurunkan kadar sekresi cascade 3 dari adiposit. Diabetes Melitus menyebabkan perubahan berbagai sistem kekebalan tubuh yang berperan dalam patogenesis RD, perubahan ini menyebabkan peningkatan jumlah dan ukuran trombi yang berhubungan dengan proses apoptosis sel sehingga dapat menimbulkan obstruksi pada kapiler dan iskemia pada jaringan retina.

## **6. Regulasi Apoptosis Sel endotel**

Vitamin D mengatur apoptosis pada sel endotel dengan meningkatkan transkripsi yang mendukung kelangsungan hidup sel. Proses ini ditandai dengan peningkatan ekspresi gen anti-apoptotik dan menurunkan ekspresi gen pro-apoptotik. Selain itu, vitamin D juga mengaktifkan jalur kinase PI3K-Akt yang berfungsi dalam kelangsungan hidup sel melalui jalur non genomik.

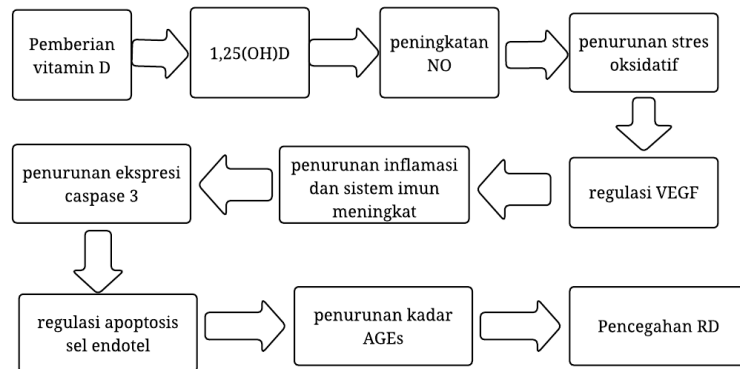
## **7. Menurunkan Kadar AGEs**

Vitamin D menurunkan kadar AGEs dan RAGE dengan memanfaatkan enzim *glyoxalase-1* yang berfungsi dalam mengurangi AGEs. Vitamin D juga mengurangi kadar AGEs pada pembuluh darah dengan menurunkan kadar IL-6 dan aktivitas Nf-kB-p65 sebagai mediator pelepas sinyal AGEs. Ikatan AGEs dan RAGE berperan dalam komplikasi DM, karena interaksi keduanya dapat menyebabkan disfungsi endotel, yang ditandai dengan peningkatan biomarker seperti ICAM-1, endothelin-1, dan E-selectin.

Penelitian yang dilakukan oleh Lu dkk menemukan vitamin D secara signifikan mengurangi ROS intraseluler dan memiliki kemampuan untuk menghambat sitokin inflamasi seperti TNF-alpha, beta dan IL-6. Efek antiinflamasi dari vitamin D mengurangi proliferasi T helper set dan sel T sitotoksik serta pembentukan sel pembunuh alami. Kemudian, vitamin D juga mampu mengurangi



ekspresi VEGF sehingga dapat dihubungkan dalam menghambat proses RD.<sup>35</sup>



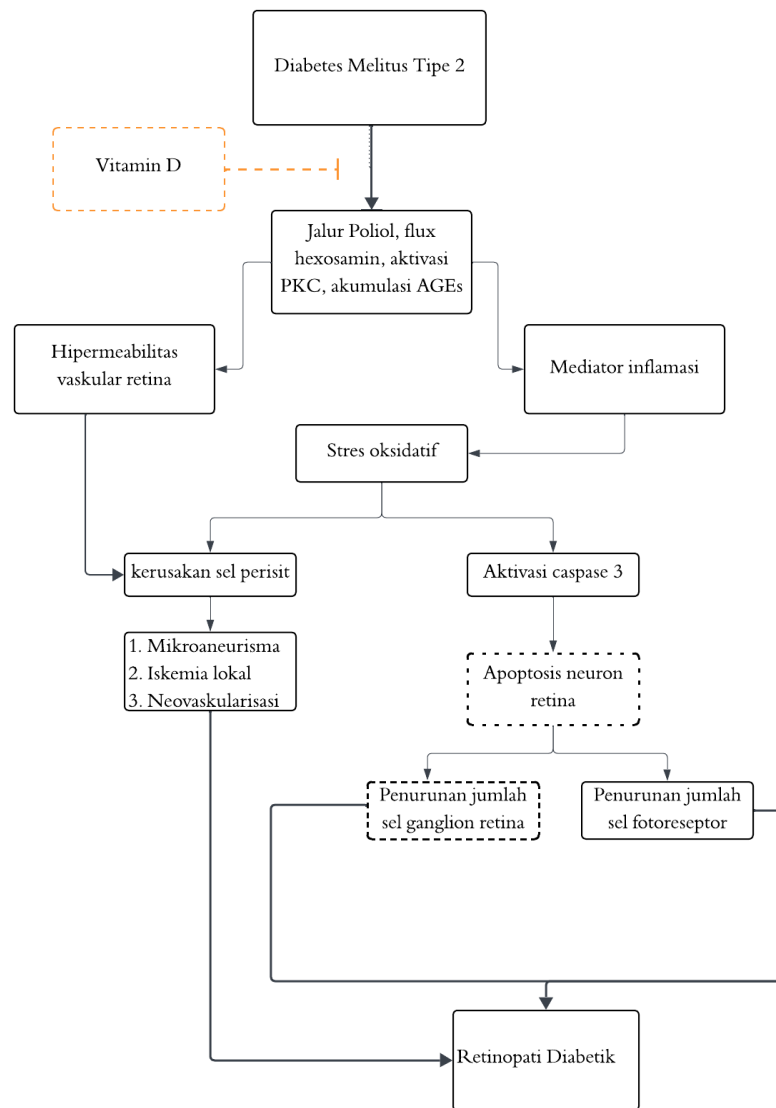
Gambar 2. 6 Cara Vitamin D dalam menghambat Perkembangan Retinopati Diabetik

Efek protektif vitamin D juga dapat dilihat dari penelitian terdahulu melalui jalur menghambat stres oksidatif, studi *in vivo* yang dilakukan selama 14 hari pada tikus menunjukkan penurunan efek stres oksidatif terhadap disfungsi mitokondria pasca induksi diabetik. Studi lain, melakukan uji terhadap ekspresi RAGE yang memiliki peran terhadap perkembangan RD, pemberian vitamin D dapat memodulasi kadar RAGE yang berlebihan setelah diinduksi selama 4 minggu. Penelitian lain menyatakan efek vitamin D dalam menurunkan risiko RD serta menghambat komplikasi hiperglikemi yang disebabkan melalui jalur ROS dan inflamasi dapat dilihat setelah pemberian vitamin D selama 4 minggu.<sup>38,13</sup>

# BAB III

## KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

### 3.1 Kerangka Teori



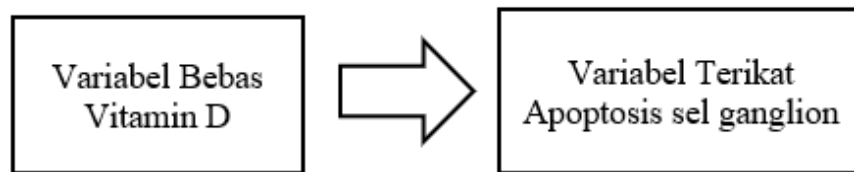
Gambar 3.1 Kerangka Teori

#### Keterangan :

  : Diteliti

  : Tidak diteliti

### 3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

### 3.3 Hipotesis

H1 : Terdapat efek protektif vitamin D Terhadap sel ganglion retina tikus jantan DMT2

H0 : Tidak terdapat efek protektif vitamin D terhadap sel ganglion retina tikus jantan DMT2

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini mencakup Ilmu Penyakit Dalam, Patologi Anatomi, dan Gizi.

#### **4.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Laboratorium *Animal House*, Fakultas Kedokteran, Universitas Baiturrahmah dan Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Baiturrahmah. Penelitian akan berlangsung dari bulan April sampai selesai.

#### **4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian dikerjakan secara eksperimental menggunakan teknik *posttest control group design*.

#### **4.4 Populasi Dan Sampel**

##### **4.4.1 Populasi**

Populasi target dalam penelitian ini adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus*). Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus*) berusia 8-12 minggu dengan berat badan tikus 150-200 gram.

##### **4.4.2 Sampel**

Sampel DMT2 serta memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Berikut kriteria inklusi dan eksklusi untuk penelitian ini :

##### **A. Kriteria inklusi**

1. Tikus jantan dewasa
2. Tikus jantan sehat dan tidak cacat.

B. Kriteria Eksklusi :

1. Tikus mati ditengah penelitian.
2. Tikus sakit selama penelitian.
3. Preparat histologi tidak terbaca jelas (artefak berat, jaringan rusak, dan tidak dapat dianalisis)

#### 4.4.4 Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel menggunakan teknik *simple random sampling*.

#### 4.4.5 Besar Sampling

Untuk besaran sampel yang digunakan menggunakan perhitungan *feederer* sebagai berikut :

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

Keterangan :

t = Jumlah Kelompok

n = Jumlah sampel

Penelitian menggunakan 5 kelompok pada tikus jantan, antara lain:

Kelompok 1 : Kontrol negatif pemberian pakan standar.

Kelompok 2 : Perlakuan, pakan standar ditambahkan vitamin D 415 IU/KgBb.

Kelompok 3 : perlakuan, pakan tinggi lemak induksi STZ (*streptozotocin*) tanpa pemberian vitamin D/KgBb.

Kelompok 4 : Perlakuan, pakan tinggi lemak induksi STZ dengan pemberian vitamin D 415 IU/KgBb.

Kelompok 5 : Perlakuan, pakan tinggi lemak induksi STZ dengan pemberian Vitamin D 1.100 IU/KgBb.

$$(5 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$4(r - 1) \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$r \geq 5$$

#### 4.5 Variabel Penelitian

##### 4.5.1 Variabel Bebas

Vitamin D 415 IU/KgBb, 1100 IU/KgBb.

##### 4.5.2 Variabel Terikat

Apoptosis sel ganglion retina pada tikus DMT2.

#### 4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini dijelaskan dalam tabel berikut :

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
<b>Kadar Vitamin D</b>	Kadar vitamin D pada sampel berupa plasma darah yang diukur menggunakan metode ELISA ( <i>Enzyme linked immunosorbent assay</i> ).	ELISA	Menggunakan enzim untuk mendeteksi ikatan antara antigen dengan antibodi.	µg/ml	rasio
<b>Jumlah apoptosis ganglion retina</b>	Menilai apoptosis yang terjadi pada ganglion retina dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)	<i>Image J</i>	Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop trinokuler dengan preparat difoto dan dpindahkan ke <i>image j</i>	rasio	rasio

#### 4.7 Cara Pengumpulan Data

##### 4.7.1 Bahan

##### 4.7.1.1 Hewan Coba dan Bahan untuk Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Tikus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi
- b. Sekam
- c. Makan dan minum tikus

#### **4.7.1.2 Bahan Sediaan Uji**

- a. Vitamin D
  - 415 IU/KgBb
  - 1100 IU Kg/Bb
- b. STZ
- c. Sampel organ retina tikus

#### **4.7.1.3 Bahan untuk analisis apoptosis ganglion mata**

- a. Formalin 10%
- b. Alkohol
- c. Xylol
- d. Paraffin
- e. Pewarnaan HE

#### **4.7.2 Alat**

- a. Tempat makan dan minum hewan coba
- b. Oral sonde
- c. Glucometer
- d. Sarung tangan
- e. Masker
- f. Sabun cuci antiseptic
- g. Alkohol
- h. Alat tulis
- i. Jas laboratorium

#### **4.7.3 Jenis Data**

Jenis data yang digunakan bersifat data primer. Data diperoleh dari bahan baku tersimpan (BBT) yang digunakan pada penelitian sebelumnya namun peneliti hanya akan meneliti organ mata yang telah diisolasi kemudian akan diteliti di laboratorium histopatologi mengenai perubahan sel ganglion retina pada tikus DMT2.

#### 4.7.4 Cara Kerja

##### ***Pembagian kelompok uji***

Tikus jantan (*Rattus norvegicus*) dikelompokkan menjadi 5 kelompok yaitu :

1. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol non DM.
2. Kelompok 2 kelompok perlakuan tikus non DM yang diberikan vitamin D dosis 415 IU/KgBb.
3. Kelompok 3 perlakuan tikus DM tanpa pemberian vitamin D.
4. Kelompok 4 perlakuan tikus DM dengan pemberian vitamin D dosis 415 IU/KgBb.
5. Kelompok 5 tikus DM dengan pemberian vitamin D dosis 1100 IU/KgBb.

##### ***Pengembangan Model Tikus Jantan dengan DMT2***

Pengembangan DMT2 pada tikus menggunakan diet tinggi lemak dan induksi STZ bertujuan menjadikan tikus obesitas, hiperinsulinemia, dan akan mempengaruhi sensitivitas insulin yang menyebabkan kegagalan kompensasi sel beta pankreas dan merusak sel beta pankreas sehingga produksi insulin terganggu. Penelitian yang telah dilakukan terlebih dahulu menyatakan bahwa penggunaan diet tinggi lemak mampu menginduksi resistensi insulin secara stabil.<sup>41</sup>

Tikus jantan kelompok 3,4, dan 5 diberi pakan tinggi lemak ditambah induksi STZ selama 3 minggu. Induksi STZ melalui intraperitoneal (IP) dengan dosis yang disesuaikan dengan berat badan tikus. Setelah 10 hari injeksi dilakukan cek kadar gula darah menggunakan *glucotest*, ujung ekor tikus dipotong 0,2-2 cm menggunakan gunting, lalu darah yang keluar akan diteteskan pada stik glukometer kemudian catat angka yang muncul. Jika saat dilakukan pretest namun tikus belum dalam keadaan DM maka tindakan injeksi STZ akan diulang sampai menyentuh



angka >200 mg/dl.<sup>42</sup>

### ***Pemberian Vitamin D***

Pemberian vitamin D dilakukan secara intragastrikal pada kelompok perlakuan 2,4, dan 5 menggunakan sonde 1× sehari selama 30 hari, dimana vitamin D akan dimasukkan ke dalam spuit dan disondekan ke tikus. Pemberian vitamin D pada tikus dikonversikan dari dosis manusia. Dosis vitamin D 62 IU/KgBb pada tikus setara dengan 600 IU/hari pada manusia. Pada penelitian ini digunakan 415 IU/KgBb pada tikus yang setara dengan 4.000 IU/hari pada manusia. Kemudian, 1.100 IU/KgBb pada tikus setara dengan 10.000 IU/hari pada manusia. Konversi ini berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya diperoleh melalui rasio besar tubuh.<sup>42</sup>

Penentuan pemberian dosis Vitamin D berdasarkan rumus standar konversi antar spesies

$$AED \left( \frac{mg}{kg} \right) = Dosis\ manusia \left( \frac{mg}{kg} \right) \times \frac{K_M (Manusia)}{K_M (Tikus)}$$

$$K_M \text{ Manusia} \approx 37$$

$$K_M \text{ Tikus} \approx 6,2$$

Jadi, untuk mendapatkan dosis untuk tikus dari dosis manusia adalah :

Dosis manusia (IU/hari) ÷ berat manusia (Kg) = IU/Kg (manusia) kemudian dikalikan dengan konversi pada tikus yaitu 6,2 = IU/Kg (tikus)

Contoh :

$$1. \text{ Dosis Manusia} = 600 \text{ IU} \div 60 \text{ Kg} = 10 \text{ IU/Kg}$$

$$\text{Dosis tikus} = 10 \times 6,2 = 62 \text{ IU/Kg}$$

$$2. \text{ Dosis manusia} = 4000 \text{ IU} \div 60 \text{ Kg} = 66,66$$

$$\text{Dosis tikus} = 66,66 \times 6,2 = 413,333 \text{ (dibulatkan)} \approx 415 \text{ IU/Kg}$$

$$3. \text{ Dosis manusia} = 10.000 \text{ IU/hari} \div 60 \text{ Kg} = 166,6 \approx 167 \text{ IU/Kg}$$

$$\text{Dosis Tikus} = 166,7 \times 6,2 = 1,03 \approx 1.100 \text{ IU/Kg}$$

Rumus untuk berat tikus 150-200 gr

$$IU \text{ per ekor} = IU/Kg (\text{Tikus}) \times \text{berat tikus (Kg)}$$

Tikus dengan berat 150 gram = 0,150 kg:

$$62 \text{ IU/Kg} = 62 \times 0,150 = 9,3 \text{ IU/ekor}$$

$$415 \text{ IU/Kg} = 415 \times 0,150 = 62,25 \approx 62 \text{ IU/ekor}$$

$$1.100 \text{ IU/Kg} = 1.100 \times 0,150 = 165 \text{ IU/ekor}$$

Tikus dengan berat 180 gram = 0,180 kg :

$$62 \text{ IU/kg} \times 0,180 = 11,16 \approx 11 \text{ IU/ ekor}$$

$$415 \text{ IU/kg} \times 0,180 = 71,7 \text{ IU} \approx 75 \text{ IU/ekor}$$

$$1.100 \text{ IU/Kg} \times 0,180 = 198 \text{ IU/ekor}$$

Dan seterusnya

Pemberian vitamin D menggunakan rumus

$$Volume (mL) = \frac{\text{dosis yang harus diberikan}}{\text{dosis sediaan}}$$

Dosis vitamin D dipasaran menggunakan dosis 1000 IU, jadi jika perlu 75 IU dan dengan sediaan 1000 IU/mL =  $75/1000 = 0,075 \text{ ml}$  atau  $75 \mu\text{L}$ .<sup>43</sup>

### ***Isolasi organ mata***

Hari ke-30 tikus akan dikorbankan dan dilakukan pembedahan kemudian diambil organ matanya. Seluruh mata dikeluarkan dengan cara batang otak dibelah dengan sayatan rostral-kaudal melalui otak, kemudian jaringan mata dimasukkan kedalam larutan formalin 10% untuk inkubasi sebelum dilakukan pembuatan preparat.<sup>32</sup>

### ***Pembuatan Preparat Histologi Retina dengan Pewarnaan HE***

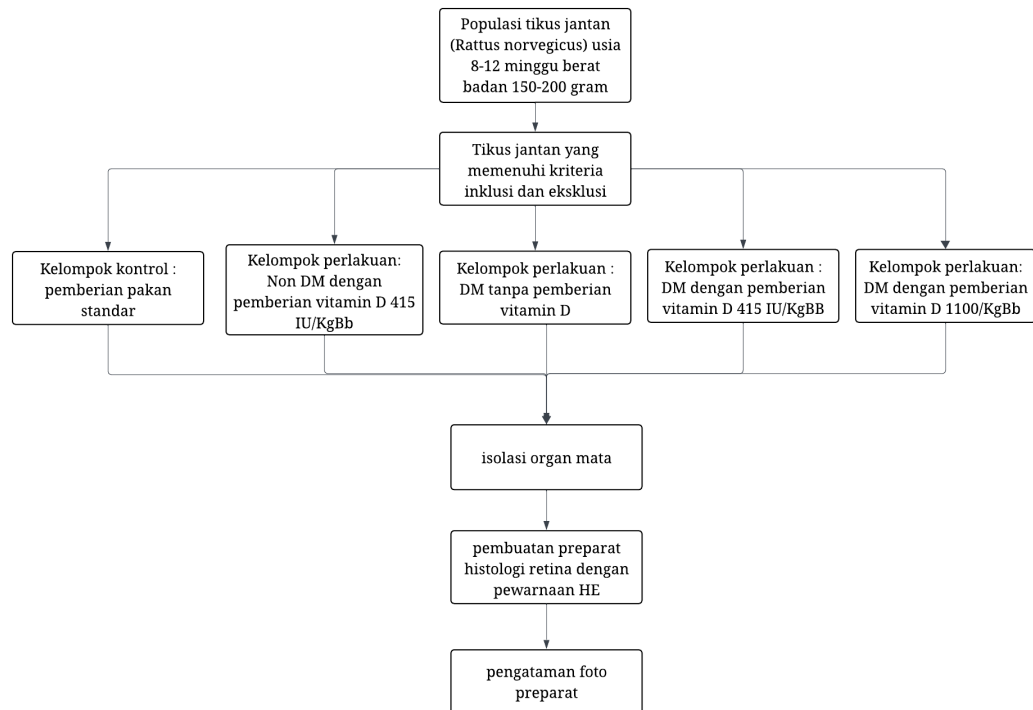
Mata yang telah diisolasi kemudian diinkubasi dalam larutan formalin 10% selama

1 minggu, mata diiris  $\pm 3\mu\text{m}$  agar dapat dimasukkan ke dalam kaset dalam proses *tissue processor*. Selanjutnya dilakukan dehidrasi dengan alkohol. Setelah dehidrasi jaringan direndam dalam larutan xylol dan diikuti dengan infiltrasi menggunakan paraffin cair selama 2 jam sebanyak 2 kali dalam suhu  $56^{\circ}\text{C}$ . Kemudian preparat kembali direndam menggunakan xylol dan dehidrasi menggunakan alkohol lalu dilanjutkan pewarnaan menggunakan HE selama 7 menit. Preparat dikeringkan dan mounting menggunakan etelan (lem).<sup>32</sup>

#### ***Tahap pengamatan dan foto preparat***

Preparat retina yang sudah dilakukan pewarnaan HE akan dilakukan perhitungan apoptosis sel ganglion retina menggunakan alat mikroskop trinokuler pembesaran 400x pada 10 lapang pandang untuk tiap preparat. Perhitungan jumlah apoptosis sel ganglion retina dilakukan secara manual dengan bantuan aplikasi *ImageJ*. Apoptosis sel ganglion ditandai dengan inti sel yang mengalami piknotik/inti mengecil dan apoptosis sel muncul sebagai massa bulat/oval dengan sitoplasma eosinofilik gelap serta fragmen inti kromatin padat. Perhitungan apoptosis sel ganglion retina dengan rumus proporsi yaitu  $(\%) \frac{a}{b} \times 100\%$ . Keterangan a = Jumlah apoptosis sel ganglion dalam 1 lapang pandang b = Jumlah keseluruhan sel ganglion dalam 1 lapang pandang.<sup>32</sup>

#### 4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

#### 4.9 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan uji statistik menggunakan SPSS. Pertama dilakukan uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk. Selanjutnya uji homogenitas data dengan menggunakan *Test Of Homogeneity Of Variances*. Penelitian ini menggunakan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji post hoc Mann-Whitney. Perbedaan secara bermakna atau tidak antara kontrol dan perlakuan dalam penelitian apabila nilai  $p < 0,05$ .

#### 4.10 Etika Penelitian

Sebelum melakukan penelitian, peneliti melaksanakan uji etik terhadap kelayakan dari proposal peneliti di Fakultas Kedokteran Universitas Baiturrahmah. Selanjutnya mendapatkan persetujuan dan dilanjutkan dengan melakukan penelitian. Dalam melakukan penelitian tersebut harus memperhatikan etik

penelitian yang merupakan aspek penting dalam melakukan proses penelitian. Penggunaan hewan sebagai subjek penelitian harus dapat menghormati hewan yang dimanfaatkan dalam penelitian (*Respect*), memiliki manfaat dan menguntungkan dalam bidang pengetahuan (*Beneficent*) dan harus dapat bersikap adil dalam proses penelitian (*Justice*). Pada penelitian yang menggunakan hewan coba harus menerapkan konsep 3R yaitu *Replacement*, *Reduction* dan *Refinement*.

*Replacement* merupakan upaya menggunakan hewan coba yang sudah diperhitungkan secara seksama dan tidak dapat digantikan dengan hewan uji lain. *Reduction* merupakan pemanfaatan hewan dalam penelitian seminimal mungkin, namun tetap mendapatkan hasil yang optimal. *Refinement* merupakan upaya dalam memperlakukan hewan coba secara manusiawi, meminimalkan dan mengurangi rasa sakit sehingga dapat menjamin kesejahteraan hewan coba sampai akhir penelitian.

#### 4.11 Jadwal Penelitian

Tabel 4. 2 Rencana Jadwal Penelitian

	Keterangan kegiatan							
		Bulan						
		Apri	Mei	Juni	Juli	Agustus	September	Oktober
	Pengantar judul							
	Penyusunan Proposal							
	Seminar Proposal Perbaikan Proposal							
	Kode Etik							
	Penelitian							
	Analisis Data							
	Penulisan Skripsi Akhir							
	Seminar Akhir							