DAFTAR ISI

Halaman

SAMPUL DEPAN
SAMPUL DALAM ii
LEMBAR PENGESAHAN iv
UCAPAN TERIMAKASIH vii
RINGKASAN xiii
SUMMARY xv
ABSTRACT xvii
DAFTAR ISI xviii
DAFTAR TABEL xxii
DAFTAR GAMBAR xxiii
DAFTAR LAMPIRAN xxvi
DAFTAR ARTI, LAMBANG, SINGKATAN, DAN ISTILAH..... xxvii
BAB 1 PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang Masalah..... 1
1.2 Rumusan Masalah 5
1.3 Tujuan Penelitian 6
1.3.1 Tujuan umum 6
1.3.2 Tujuan khusus 6
1.4 Manfaat Penelitian 8
1.4.1 Manfaat teoritis 8
1.4.2. Manfaat praktis 8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA 9
2.1 Anatomi dan Jaras Penglihatan Aferen 9
2.2 Retina 10
2.2.1 Fotoreseptor 11
2.2.2 Sel bipolar 13
2.2.3 Sel ganglion 13
2.2.4 Saraf optik 14
2.2.5 Neuron genikulokalkarina 15
2.3 Tuberkulosis 16
2.3.1 Definisi kasus tuberkulosis 17
2.3.2 Klasifikasi tuberkulosis 18
2.3.3 Morfologi tuberkulosis 18
2.3.4 Pengobatan tuberkulosis 19
2.3.5 Ethambutol 20
2.3.5.1 Mekanisme ethambutol 21
2.3.5.2 Efek samping ethambutol 22
2.3.6 Neuritis optik toksik ethambutol 23
2.4 Peran Mitokondria dan Transportasi Aksoplasma di Retina 24
2.5 Stres Oksidatif 32
2.6 Autofagi 36

2.7 Lipid Peroksidase 38
2.8 Malondialdehide 41
2.9 Mekanisme Perubahan pada Struktur Membran Lipid 44
2.10 Peran PKC δ 45
2.11 Protein p53 48
2.12 Apoptosis..... 51
2.13 Model hewan coba 56
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN 58
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian 58
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual 59
3.3 Hipotesis Penelitian 61
BAB 4 METODE PENELITIAN 63
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian 63
4.1.1 Jenis penelitian 63
4.1.2 Rancangan penelitian 63
4.2 Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel 64
4.2.1 Sampel penelitian 64
4.2.2 Besar sampel 64
4.2.3 Tekhnik pengambilan sampel 65
4.3 Kriteria Sampel 65
4.3.1 Kriteria inklusif 65
4.3.2 Kriteria eksklusif 65
4.3.3 Kriteria *drop out* 66
4.4 Variabel Penelitian 66
4.4.1 Variabel bebas 66
4.4.2 Variabel antara 66
4.4.3 Variabel tergantung 66
4.5 Definisi Operasional Penelitian 67
4.6 Instrumen Penelitian 70
4.6.1 Hewan coba yang dikenai perlakuan 70
4.6.2 Sarana penelitian 71
4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian 72
4.7.1 Penelitian di kendang hewan coba 72
4.7.2 Penelitian di laboratorium (terhadap jaringan) 73
4.8 Prosedur penelitian,pengambilan dan pemeriksaan sampel 73
4.9 Protokol Penelitian 74
4.10 Cara Kerja Penelitian 74
4.10.1 Induksi ethambutol 74
4.10.2 Isolasi sel ganglion retina 75
4.10.3 Fiksasi dan pemrosesan pembuatan *paraffin block* jaringan 76
4.10.4 Proses pewarnaan *hematoxylin eosin* (HE) 76
4.10.5 Pewarnaan imunohistokimia SOD_2, MDA, Cyt c, p53, PKCδ dan Caspase 3 77
4.10.6 Penghitungan ekspresi SOD_2, MDA, Cyt c, p53, PKCδ dan Caspase 3 dengan teknik imunohistokimia 78

4.9.7 Pemeriksaan apoptosis sel ganglion retina dengan *tunnel assay* 79
4.10 Analisis Data 80
4.10.1 Analisis deskriptif 80
4.10.2 Analisis analitik 80
BAB 5 HASIL PENELITIAN 82
5.1 Hasil Analisis Deskriptif 82
5.1.1 Profil gambaran histologis hasil induksi ethambutol pada pemeriksaan SOD_2 83
5.1.2 Profil gambaran histologis hasil induksi ethambutol pada pemeriksaan MDA 85
5.1.3 Profil gambaran histologis hasil induksi ethambutol pada pemeriksaan PKCδ 86
5.1.4 Profil gambaran histologis hasil induksi ethambutol pada pemeriksaan p53 87
5.1.5 Profil gambaran histologis hasil induksi ethambutol pada pemeriksaan Cyt c 88
5.1.6. Profil gambaran histologis hasil induksi ethambutol pada Caspase 3..... 89
5.1.7. Profil gambaran histologis hasil induksi ethambutol pada pemeriksaan apoptosis 91
5.1.8. Profil gambaran histologis hasil induksi ethambutol pada SGR Dengan pemeriksaan HE 92
5.2. Hasil Analisis Inferensial 94
5.2.1 Hasil analisis komparasi bivariat antara kelompok kontrol dan perlakuan pada ekspresi SOD_2 menurut lama hari..... 94
5.2.2 Hasil analisis komparasi bivariat antara kelompok kontrol dan perlakuan pada ekspresi MDA menurut lama hari 95
5.2.3. Hasil analisis komparasi bivariat antara kelompok kontrol dan perlakuan pada ekspresi PKCδ menurut lama hari 97
5.2.4 Data hasil analisis komparasi bivariat antara kelompok kontrol dan perlakuan pada ekspresi p53 menurut lama hari 98
5,2.5. Hasil analisis komparasi bivariat antara kelompok kontrol dan perlakuan pada ekspresi Cyt c menurut lama hari 100
5.2.6. Hasil analisis komparasi bivariat antara kelompok kontrol dan perlakuan pada ekspresi Caspase 3 menurut lama hari 101
5.2.7. Hasil analisis komparasi bivariat antara kelompok kontrol dan perlakuan pada ekspresi apoptosis menurut lama hari 102
5.2.8. Hasil analisis komparasi bivariat antara kelompok kontrol dan perlakuan pada jumlah SGR dengan pewarnaan HE menurut lama hari 104
5.3 Data Hasil Analisis Komparasi Bivariat antara Kelompok Perlakuan Kontrol pada perlakuan 5, 10 dan 15 hari. 105
5.3.1 Data analisis komparatif bivariat ekspresi protein SOD_2, MDA, p53, PKCδ , Cyt c, Caspase 3 dan apoptosis pada perlakuan 5 hari..... 105
5.3.2 Data analisis komparatif bivariat ekspresi protein SOD_2, MDA, p53,

PKCδ, Cyt c, Caspase 3 dan apoptosis pada perlakuan 10 hari…….. 107
5.2.3 Data analisis komparatif bivariat ekspresi protein SOD_2, MDA, p53, PKCδ, Cyt c, Caspase 3 dan apoptosis pada perlakuan 15 hari ……. 108
5.4. Hasil Analisis Jalur ……. 110
BAB 6 PEMBAHASAN 114
6.1 Ethambutol Menginduksi Penurunan SOD_2 SGR *Rattus norvegicus* 116
6.2 Ethambutol Menginduksi Peningkatan MDA pada SGR *Rattus norvegicus* ……. 117
6.3 Ethambutol Menginduksi Peningkatan PKCδ pada SGR *Rattus norvegicus*……. 119
6.4 Ethambutol Menginduksi Peningkatan p53 pada SGR *Rattus norvegicus*……. 120
6.5 Ethambutol Menginduksi Peningkatan Cyt c pada SGR *Rattus norvegicus*……. 123
6.6. Ethambutol Menginduksi Peningkatan Caspase 3 pada SGR *Rattus norvegicus*……. 124
6.7 Ethambutol Menginduksi Peningkatan Apoptosis pada SGR *Rattus norvegicus*……. 125
6.8 Ethambutol Menginduksi Apoptosis melalui mekanisme ekspresi SOD_2, MDA, p53, PKCδ , Cyt c, dan Caspase 3 pada SGR *Rattus norvegicus*……. 127
6.9 Temuan Baru …….. 129
6.10 Keterbatasan Penelitian. …….. 131
BAB 7 PENUTUP 133
7.1 Kesimpulan 133
7.2 Saran 134
7.3 Manfaat ……. 135
DAFTAR KEPUSTAKAAN 136
LAMPIRAN 142

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jenis dan dosis obat anti tuberkulosis 20
Tabel 4.1 Definisi operasional 67
Tabel 5.1 Data deskriptif variabel ……... 83
Tabel 5.2 Data nilai median ekspresi SOD_2 pada SGR kelompok kontrol dan perlakuan ……. 94
Tabel 5.3 Data nilai median ekspresi MDA pada SGR kelompok kontrol dan perlakuan…….. 95
Tabel 5.4 Data nilai median ekspresi PKCδ pada SGR kelompok kontrol dan perlakuan…….. 97
Tabel 5.5 Data nilai median ekspresi p53 pada SGR kelompok kontrol dan perlakuan…….. 98
Tabel 5.6 Data nilai median ekspresi Cyt c pada SGR kelompok kontrol dan perlakuan…….. 100
Tabel 5.7 Data nilai median ekspresi Caspase 3 pada SGR kelompok kontrol dan perlakuan…….. 101
Tabel 5.8 Data nilai median ekspresi apoptosis pada SGR kelompok kontrol dan perlakuan…….. 102
Tabel 5.9 Data nilai median jumlah SGR kelompok kontrol dan perlakuan …….. 104
Tabel 5.10 Data komparatif variabel pada pengamatan selama 5 hari …… 105
Tabel 5.11 Data komparatif variabel pada pengamatan selama 10 hari …….. 107
Tabel 5.12 Data komparatif variabel pada pengamatan selama 15 hari …….. 108
Tabel 5.13 Analisis jalur dengan korelasi bertahap ……. 110

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema jalur penglihatan aferen dan komponen neuron (Schiefer&Hart,2007) 9
Gambar 2.2 Retina normal. A. Anatomi fovea. B. Tripsin retina. C. Reflek cincin fovea. D. Gambar fovea sentral (Mc.Cannel *et al*., 2018) 11
Gambar 2.3 Lapisan sel retina pada bagian ekstra fovea (Barrett*et al*., 2016) 12
Gambar 2.4 Skematis sel batang dan sel kerucut retina (Barrett*et al.*, 2016) 13
Gambar 2.5 Gambaran perkiraan sebaran TB di seluruh dunia. (WHO,2018) 17
Gambar 2.6 Rumus kimia ethambutol (Katzung,2018) 21
Gambar 2.7 Komplek I di membran mitokondria 26
Gambar 2.8 Proses fosforilasi oksidatif pada membranemitokondria 27
Gambar2.9 Mekanisme ethambutol menginduksi sitotoksisitas neuron sel retina (Huang *et al.*,2015) 37
Gambar 2.10 Struktur plasma membrane sel 38
Gambar 2.11 Proses peroksidasi lipid hidroperoksida 41
Gambar 2.12 Siklus pembentukan MDA dan metabolit 43
Gambar 2.13 Disfungsi mitokondria 45
Gambar 2.14 Model yang diusulkan untuk efek pencegahan yang dimediasi Rottlerin 4.....48
Gambar 2.15 *Extrinsic dan intrinsic pathway Apoptosis* 53
Gambar 2.16 Gambaran sel yang mengalami proses apoptosis 55
Gambar 3.1 Gambar kerangka konsep 58
Gambar 4.1 Rancangan penelitian 63
Gambar 4.2 Protokol penelitian 74
Gambar 5.1 Sebaran nilai ekspresi SOD_2 pada SGR pada semua kelompok……83
Gambar 5.2. Perbandingan gambaran ekspresi SOD_2 pada retina mata berbagai kelompok (K.1, K.2, K.3, P.1, P.2 dan P.3). Pada panah merah menunjukkan adanya ekspresi SOD_2 pada sel ganglion retina yang ditandai dengan adanya warna coklat *chromogen* (tanda panah)……..83
Gambar 5.3 Sebaran nilai hasil induksi ethambutol melalui ekspresi MDA pada semua kelompok ……..... 85
Gambar 5.4 Perbandingan gambaran ekspresi MDA pada retina mata berbagai kelompok (K.1, K.2, K.3, P.1, P.2 dan P.3). Pada panah merah menunjukkan adanya ekspresi MDA pada sel ganglion retina yang ditandai dengan adanya warna coklat *chromogen* (tanda panah). IHC. 400x ……. 85
Gambar 5.5 Sebaran nilai hasil ekspresi PKCδ pada semua kelompok …….. 86
Gambar 5.6 Perbandingan gambaran ekspresi PKCδ pada retina mata berbagai kelompok (K.1, K.2, K.3, P.1, P.2 dan P.3). Pada panah merah menunjukkan adanya ekspresi PKCδ pada sel ganglion retina yang ditandai dengan adanya warna coklat *chromogen* (tanda panah). IHC. 400x …… 87

Gambar 5.7 Sebaran nilai hasil ekspresi p53 pada semua kelompok ……. 87
Gambar 5.8 Perbandingan gambaran ekspresi p53 pada retina mata berbagai kelompok (K.1, K.2, K.3, P.1, P.2 dan P.3). Pada panah merah menunjukkan adanya ekspresi p53 pada sel ganglion retina yang ditandai dengan adanya warna coklat *chromogen* (tanda panah)…… 88
Gambar 5.9 Sebaran nilai hasil ekspresi Cyt c pada semua kelompok ……. 89
Gambar 5.10 Perbandingan gambaran ekspresi Cyt c pada retina mata berbagai kelompok (K.1, K.2, K.3, P.1, P.2 dan P.3). Pada panah merah menunjukkan adanya ekspresi Cyt c pada sel ganglion retina yang ditandai dengan adanya warna coklat *chromogen* (tanda panah). IHC. 400x …….. 89
Gambar 5.11 Sebaran nilai hasil ekspresi Caspase 3 pada semua kelompok …….. 90
Gambar 5.12 Perbandingan gambaran ekspresi Caspase3 pada retina mata berbagai kelompok (K.1, K.2, K.3, P.1, P.2 dan P.3). Pada panah merah menunjukkan adanya ekspresi Caspase3 pada sel ganglion retina yang ditandai dengan adanya warna coklat *chromogen* (tanda panah).IHC. 400x ……. 90
Gambar 5.13 Sebaran nilai hasil ekspresi apoptosis pada semua kelompok …….. 91
Gambar 5.14 Perbandingan gambaran ekspresi apoptosis pada retina mata berbagai kelompok (K.1, K.2, K.3, P.1, P.2 dan P.3). Pada panah. merah menunjukkan adanya ekspresi apoptosis pada sel ganglion retina yang ditandai dengan adanya warna coklat *chromoge* (tanda panah IHC. 400x ……. 91
Gambar 5.15 Sebaran hasil jumlah SGR pada pemeriksaan HE pada semua kelompok ……... 92
Gambar 5.16 Menunjukkan perbedaan kepadatan sel-sel bodi neuron pada lapisan ganglioner retina (panah) mata diantara kelompok perlakuan pewarnaan HE. Pembesaran 400x; mikroskop *Nikon H600L*; *camera DS Fi2* 300 *megapixel* ……... 93
Gambar 5.17 Distribusi nilai H-*score* SOD_2 perperlakuan menurut lama hari …… 94
Gambar 5.18 Perbandingan hasil ekspresi SOD_2 pada SGR pada masing-masing kelompok dengan p 0,002 pada uji Kruskal-Wallis …….. 95
Gambar 5.19 Distribusi nilai H-*score* MDA perperlakuan menurut lama hari ……. 96
Gambar 5.20 Perbandingan hasil ekspresi MDA pada SGR pada masing-masing kelompok dengan p 0,001 pada uji Kruskal-Wallis……. 96
Gambar 5.21 Distribusi nilai H-*score* PKC-δ perperlakuan menurut lama hari …. 97
Gambar 5.22 Perbandingan hasil ekspresi PKCδ pada SGR pada masing-masing kelompok dengan p 0,06 pada uji Kruskal-Wallis……. 98
Gambar 5.23 Distribusi nilai H-*score* p53 perperlakuan menurut lama hari ……. 99
Gambar 5.24 Perbandingan hasil ekspresi p53 pada SGR pada masing-masing kelompok dengan p 0,001 pada uji Kruskal-Wallis…… 99
Gambar 5.25 Distribusi nilai H-*score* Cyt c perperlakuan menurut lama hari …... 100
Gambar 5.26 Perbandingan hasil ekspresi Cyt c pada SGR pada masing-masing kelompok dengan p 0,002 pada uji Kruskal-Wallis……. 100
Gambar 5.27 Distribusi nilai H-*score* Caspase 3 perperlakuan menurut lama hari. 102

Gambar 5.28 Perbandingan hasil ekspresi Caspase3 pada SGR pada masing-masing kelompok dengan p 0,001 pada uji Kruskal-Wallis……. 102
Gambar 5.29 Distribusi nilai H-*score* apoptosis perperlakuan menurut lama hari.. 103
Gambar 5.30 Perbandingan hasil ekspresi apoptosis pada SGR pada masing-masing kelompok dengan p 0,001 pada uji Kruskal-Wallis……. 103
Gambar 5.31 Distribusi jumlah SGR pada pemeriksaan HE menurut lama hari…. 104
Gambar 5.32 Perbandingan hasil jumlah SGR dengan HE pada masing-masing Kelompok dengan p 0,001 pada uji Kruskal-Wallis……. 105
Gambar 5.33 Sebaran nilai ekspresi SOD_2, MDA, PKCδ, p53, Cyt c, Caspase 3 dan apoptosis antara kelompok kontrol dan perlakuan pada pengamatan 5 hari ……..... 106
Gambar 5.34 Sebaran nilai ekspresi MDA, PKCδ, p53, Cyt c, Caspase 3 dan apoptosis antara kelompok kontrol dan perlakuan pada pengamatan 10 hari …….. 107
Gambar 5.35 Sebaran nilai ekspresi MDA, PKCδ, p53, Cyt c, Caspase 3 dan apoptosis antara kelompok kontrol dan perlakuan pada pengamatan 15hari ……..... 109
Gambar 5.36 Model analisis jalur apoptosis sebagai akibat pemberian ethambutol. 111
Gambar 6.1 Model analisis jalur kebaruan penelitian …….. 130

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Sertifikat Pembelian Hewan Coba..... 142
Lampiran 2 Sertifikat strain *Rattus norvegicus*..... 143
Lampiran 3 Sertifikat Analisis Ethambutol..... 144
Lampiran 4 Sertifikat Kelaikan etik..... 147
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian 148
Lampiran 6 Laporan Statistik …… 149

DAFTAR ARTI LAMBANG, SINGKATAN DAN ISTILAH

ADH	:	*Adenosive difosfat*
Akt	:	*AKT8 virus oncogene cellular homolog*
Apaf-1	:	*Apoptotic protease activating factor 1*
ASC	:	*Apoptosis associated speck-like protein*
ATP	:	*Adenosine Three Phosphatase*
Bad	:	*Bcl2 – associated agonist of cell death*
Bax	:	*Bcl2 – associated x protein*
Bcl	:	*B cell leukemia*
Bcl-xl	:	*B-cell leukemia – extra large*
BTA	:	Basil Tahan Asam
Ca^{2+}	:	*Calsium*
Caspase	:	*Cysteine proteases with aspartate specificity*
Caspase 1	:	*Cysteine proteases with aspartate specificity 1*
Caspase 3	:	*Cysteine proteases with aspartate specificity 3*
Caspase 8	:	*Cysteine proteases with aspartate specificity 8*
Caspase 9	:	*Cysteine proteases with aspartate specificity 9*
Cyt C	:	*Cytochrome C*
DAMPs	:	*Danger Associated Mollecular Patterns*
DNA	:	*Deoxyribo Nucleic Acid*
ELM	:	*External Limiting Membrane*
EMB	:	*Ethambutol*
Endo 6	:	*Endonuclease 6*
EON	:	*Ethambuthol Induced Optic Neuropathy*
FAD	:	*Flavin adenine dinucleotide*
FADD	:	*Fas associated death domain*
FMN	:	*Flavin mononucleotide*
GSSG	:	*Glutathione disulfida*
GSH	:	*Glutathione*
GR	:	*Glutathione reductase*
H_2O_2	:	Hidrogen peroksida
IAP	:	*Inhibitor of apoptosis protein*
ILM	:	*Internal Limiting Membrane*
IUALTD	:	*International Union Against Lung and Tuberculosis Disease*
LDH	:	*Lactate Dehydrogenase*
LED	:	Laju Endap Darah
M	:	*Magnocellular*
MDA	:	Malondealdehyde
MTBC	:	*Mycobacterium Tuberculosis Complex*
mTOR	:	*Mammalian target of rapamycin complex*
NADH	:	*Nicotineamide Adenine Dinucleotid*
NFL	:	*Nerve Fiber Layer*

NMDA	:	*N-methyl-D-aspartate*
NLR	:	*Nucleotide Domain and Leucine-Rich Repeat*
NLRP3	:	*Nucleotide Domain and Leucine-Rich Repeat Pyrin domain contain 3*
O_2^-	:	Superoksida
OAT	:	Oral Anti Tuberkulosis
OCT	:	Optical coherence tomography
OH	:	*Hidrokside*
P	:	*Parvocellular*
p53	:	*Tumor suppressor protein that protects from DNA damage*
PAMP	:	*Patogen Associated Mollecular Patterns*
PI3 kinase	:	*Phosphatidyl inositol 3-kinase*
PKC	:	*Protein Kinase C*
PMB	:	*Papillomacular bundle*
PMN	:	*Polymorphonuclear*
RAPD	:	*Relative Afferent Pupillary Defect*
RPE	:	*Retinal Pigment Epithelium*
ROS	:	*Reactive Oxygen Species*
SGR	:	Sel Ganglion Retina
Smac	:	*Second mithocondira – derived activator of caspase*
SOD	:	*Superoxide dismutase*
TB	:	Tuberkulosis
TNFR 1	:	*Tumor necrosis factor receptor 1*
TRADD	:	*TNF receptor associated death domain*
TRAIL	:	TNF - related apoptosis - inducing ligand
UQ	:	*Ubiquinone*
$UQH_{2.}$	:	*Ubiquinol*
VEP	:	*Visual Evoked Potential*
VPS 34	:	*Vacuolar protein sorting 34*
WHO	:	*World Health Organization*