

DISERTASI

PERAN SITOKIN TNF- α , IL-10 dan TGF- β TERHADAP PENINGKATAN TEKanan BOLA MATA GLAUKOMA SUDUT TERBUKA PRIMER



ADMADI SOEROSO

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006



**PERAN SITOKIN TNF- α , IL-10 dan TGF- β
TERHADAP PENINGKATAN TEKANAN BOLA MATA
GLAUKOMA SUDUT TERBUKA PRIMER**

DISERTASI

**Untuk Memperoleh Gelar Doktor
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga
Telah dipertahankan di hadapan
Panitia Ujian Doktor Terbuka
Pada Hari : Kamis
Tanggal : 23 Nopember 2006
Pukul 10.⁰⁰ WIB**

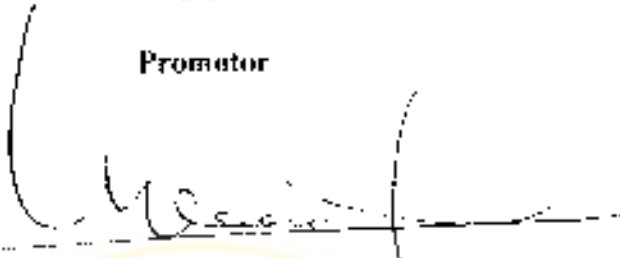
Oleh :

**ADMADI SOEROSO
NIM : 090214899 D**

Lembar pengesahan

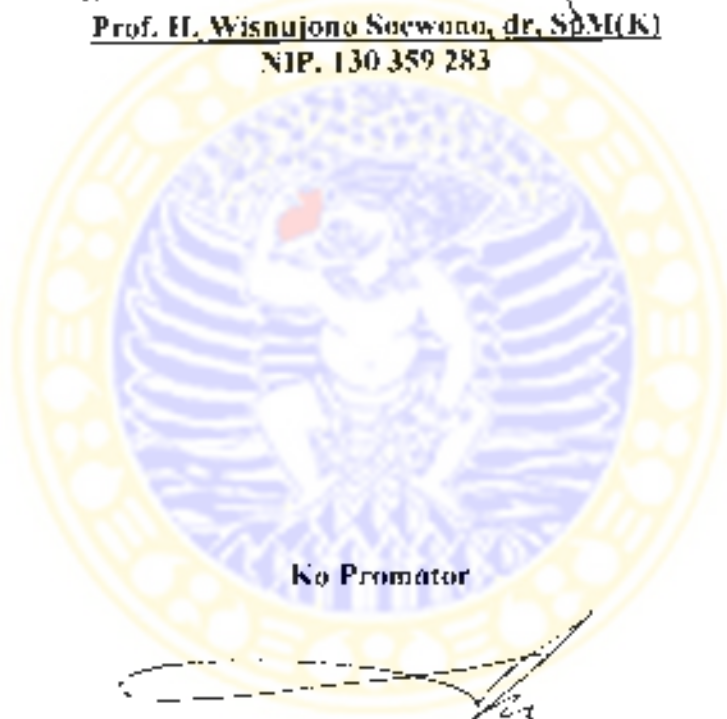
Oleh

Promotor

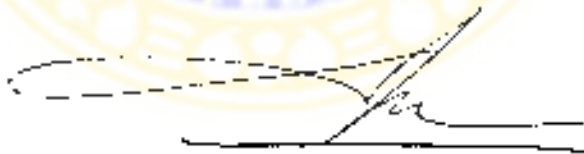


Prof. H. Wisnujono Saewana, dr, SpM(K)

NIP. 130 359 283



Ko Promotor



Dr. F.M. Judajana, dr, SpPK(K)

NIP. 130 675 339

PANITIA PENGUJI DISERTASI

Ketua : Prof. Dr. Roem Werdiniadi Soedoko, dr, SpPA(K)

Anggota : 1. Prof. H. Wisnujono Soewono, dr, SpM(K)

2. Dr. F.M. Judajana. dr, SpPK(K)

3. Prof. Dr. Harry H.B. Mailangkay, dr, SpM(K).

4. Prof. Hj. Diany Yogiantoro. dr. SpM(K)

5. Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD.

6. Prof. H. Kuntoro. dr. MPH. DrPH .



**Surat Keputusan
Rektor Universitas Airlangga
No : 5930/JO3/PP/2006
Tanggal 23 Agustus 2006**

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur saya panjatkan ke Hadirat Allah SWT atas semua limpahan kasih dan hidayah, serta perkenanNya, sehingga saya mendapatkan kekuatan dan petunjuk untuk menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi ini. Banyak tantangan dan hambatan yang saya alami dalam proses penyelesaian disertasi ini, namun berkat bantuan, bimbingan, saran serta dorongan dari berbagai pihak, tantangan dan hambatan tersebut dapat teratasi. Untuk itu dengan segala kerendahan hati, perkenankan saya menghaturkan terimakasih yang tulus dan tak terhingga kepada yang terhormat :

Prof. H. Wisnujono Soewono, dr, SpM(K). Guru Besar Ilmu Penyakit Mata, yang telah bersedia menjadi Promotor, di tengah kesibukan beliau yang begitu padat. Sebagai seorang pembimbing yang sarat dengan tugas, beliau selalu memberikan dorongan dan dukungan moril yang memberi kesejukan dan ketenangan tersendiri bagi anak didiknya dalam menyelesaikan disertasi ini.

Dr. F.M. Judajana, dr, SpPK(K) atas kesediaan beliau menjadi Ko Promotor, yang sejak awal selalu memberikan bimbingan dan tidak bosan memberikan saran serta kritik dalam menumbuhkan alur pikir seorang ilmuwan dalam penulisan disertasi. Sebagai seorang pendidik yang sangat sibuk, beliau tetap mempunyai komitmen yang kuat terhadap keberhasilan studi semua peserta didik dan bimbingannya.

Pemerintah Republik Indonesia, khususnya Menteri Pendidikan Nasional Republik Indonesia, serta Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti program pendidikan doktor.

Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. H. Fasichulisan, Drs, Apt dan mantan Rektor Prof. Dr. Med. H. Purnhito, dr, SpBTKV yang telah menerima dan memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti program pendidikan doktor di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Prof Dr H Muhammad Amin, dr, SpP(K), Prof Dr Laba Mahaputera, drh, MSc, selaku Asisten Direktur I dan Dr Sunaryo, dr, M.S, MSc, selaku asisten Direktur II, beserta seluruh staf dan karyawan Program Pasca Sarjana Unair serta mantan Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Prof Dr H Soedijono Tirtowidardjo, dr, SpTHT (K), yang telah menerima dan memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti program pendidikan doktor di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Prof. Dr. Mandojo Rukmo, drg, MSc, SpKG, selaku Ketua Program Studi S3 Kedokteran Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Hj. Juliaty Hood Alsagaff, dr, MS, SpPA, FIAC, selaku mantan Ketua Program Studi S3 Kedokteran Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya, yang telah membimbing dan membantu kelancaran proses pendidikan, sehingga saya dapat menyelesaikan program pendidikan doktor.

Rektor Universitas Sebelas Maret, Prof. Dr. H.M. Syamsulhadi, dr, SpKJ dan mantan Rektor Universitas Sebelas Maret Prof. Haris Mudjiman, Drs, MA, PhD, yang telah

mengijinkan dan membantu saya untuk mengikuti program pendidikan doktor di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Dr. H. A.A. Subijanto, dr, MS, serta Direktur RSUD Dr. Moewardi Surakarta, Mardiatno, dr, SpRad, yang telah memberikan kesempatan dan mengijinkan saya mengikuti program pendidikan doktor di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Kepala Laboratorium/bagian Ilmu Penyakit Mata Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret/RSUD Dr. Moewardi Surakarta, H. Djoko Susianto, dr, SpM dan mantan Kepala Laboratorium/bagian Ilmu Penyakit Mata Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret/RSUD Dr. Moewardi Surakarta, H. Sutrisno Danusastro, dr, SpM dan semua sejawai di Laboratorium/bagian Ilmu Penyakit Mata Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret/RSUD Dr. Moewardi Surakarta atas segala dorongan semangat, pengertian serta semua bantuannya.

Ketua bagian ilmu Penyakit Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSU Dr. Soetomo Surabaya, Prof. Hj. Diany Yogiantoro, dr, SpM(K) beserta semua staf atas segala dorongan semangat dan bimbingannya, sehingga saya dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini.

Ketua bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSU Dr. Soetomo Surabaya, Dr. S.P. Edijanto, dr, SpPK(K) yang telah berkenan mengijinkan saya melakukan pemeriksaan kadar sitokin di bagian Patologi Klinik yang beliau pimpin, dalam rangka menyelesaikan penelitian disertasi ini.

Koordinator Penelitian bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSU Dr Soetomo Surabaya, Prof. Dr. Indro Handoyo dr, SpPK(K-IM), yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan serta pendalaman materi mengenai imuno asai sitokin yang sangat bermanfaat bagi penyelesaian disertasi ini. Terima kasih juga saya sampaikan kepada ibu Indrastuti, selaku analis senior Patologi Klinik yang telah banyak membantu dalam pemeriksaan kadar sitokin dalam penelitian ini. Terima kasih atas segala perhatian dan bantuannya.

Direktur Rumah Sakit Mata Undaan Surabaya, guru sekaligus sejawatku, H. Moch Badri dr, SpM, beserta seluruh staf medis dan para medis atas segala partisipasi dan komitmennya, sehingga pengambilan, penyimpanan serta pengumpulan data penelitian di Rumah Sakit Mata Undaan dapat terlaksana secara baik. Ketua Komite Medik Rumah Sakit Mata Undaan Surabaya, Sudjarno W. dr, SpM, sekretaris Ria Sylvia H. dr, SpM, serta para anggota, yaitu Slamet Soedibyo, dr, SpM, Hermeni Widjajanto, dr, SpM, serta Soemartono Samadikoen, dr, SpM, atas pemberian Surat Keterangan Kelaikan Etik Penelitian yang saya ajukan.

Ucapan terima kasih yang tiada terhingga saya sampaikan pula kepada, Prof. Dr. Harry H.B. Mailangkay dr, SpM(K) Gurubesar Ilmu penyakit mata Universitas Kristen Indonesia serta Prof. Dr. Y.B. Suparyatno, dr, SpPK(K), selaku, kepala Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret/RSUD Dr. Moewardi Surakarta, Tahono, dr, SpPK(K), Bhisma Murti, dr, MPH, MSc, PhD, Diding Heri Prasetyo dr, MSi, Soedarman Syamsoc dr, SpM(K) serta Hadi Prakoso dr, SpM(K), Evelyn Komaratih, dr, SpM, yang telah meluangkan waktunya yang sangat berharga dan

memberikan pengarahan tentang banyak hal yang bersangkutan dengan penelitian disertasi ini.

Terima kasih dan penghargaan tiada terhingga saya sampaikan pula kepada yang terhormat, seluruh staf pengajar Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Prof. Dr. Lasiyo, Prof. Dr. M. Zainudin, Drs. Apt, Widodo J Pudji Rahardjo dr. MS, MPH, DrPH, Fuad Amsyari, dr, MPH, PhD, Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr, MS, Prof. Soegeng Soekanto Martoprawiro dr, MS, SpPA, PhD(Alm), Prof. Ari Gunawan dr. MS, PhD, Aucky Hinting, dr, PhD, SpAnd, Dr. F.M. Judajana dr, SpPK(K), Dr. Ketut Suidiana, Drs, Msi, Prof. Purnomo Surjohudojo, dr. Prof. Dr. Habil Josef Glinka, SVD, Prof. Eddy Pranowo, dr, MPH (Alm), Siti Pariani dr, MS, MSc, PhD, Prof. H. Kuntoro, dr, MPH, DrPH, Dr. Sustini, dr, MS, yang telah berkenan membagi ilmu yang tidak ternilai harganya kepada saya dan teman-teman selama pendidikan di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Seluruh staf pengajar Mata Kuliah Penunjang Disertasi Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Prof. Els Aswan Gumansalangi, dr, SpM(K) (Alm), Prof. Dr. H. Budihardjo, dr, SpM(K) (Alm), Prof. Dr. Indro Handoyo, dr, SpPK(K-IM), Prof. H. Soetjipto, dr, MS, PhD yang telah memberikan bekal ilmu yang sangat bermanfaat dalam penyusunan kerangka ilmiah dalam pembuatan disertasi.

Prof. H. Kuntoro, dr, MPH, DrPH, selaku konsultan biostatistik, yang masih menyempatkan diri membimbing saya di samping kesibukan beliau yang sangat padat, sampai selesainya penyusunan dan penulisan disertasi ini.

Seluruh tim penguji mulai saat ujian kualifikasi, ujian proposal penelitian, ujian kelayakan naskah disertasi sampai dengan ujian disertasi tahap I (tertutup) yaitu: Prof. H. Wisnujono Soewono, dr, SpM(K), Dr. F.M. Judajana, dr, Sp PK(K), Prof. Dr. Roem Werdiniadi Soedoko, dr, SpPA(K), selaku ketua tim penguji ujian tahap I (tertutup), Prof. Dr. Harry H.B. Mailangkay, dr, SpM(K), Prof. Hj. Diany Yogiartoro, dr, SpM(K), Prof. H. Soetjipto, dr, MS, PhD, Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD, Prof. H. Kuntoro, dr, MPH, Dr PH, Prof. Els Aswan Gumansalangi, dr, SpM(K) (Alm), Prof. Dr. H. Budihardjo, dr, SpM(K) (Alm), Dr. Watadianta, dr, MS, SpPA, yang telah berkenan menguji dan memberikan asupan serta koreksi yang sangat berharga demi kearah kesempurnaan penulisan naskah disertasi, saya ucapkan terima kasih tiada terhingga atas segala dukungan, pengertian dan dorongan semangat, sehingga ujian disertasi ini dapat terlampaui dengan selamat.

Ucapan terima kasih yang tulus dan penuh rasa haru patut saya sampaikan kepada semua penderita glaukoma sudut terbuka primer dan katarak lentis yang dioperasi di RS Mata Undaan Surabaya, atas kerelaan dan kesediaannya berpartisipasi sebagai sampel penelitian.

Dengan penuh hormat, terimakasih saya sampaikan kepada semua guru saya, sejak di tingkat sekolah dasar, SMP, SMA, kedokteran umum sampai dengan spesialis mata, serta tingkat magister. Karena mereka jualah, maka saya sampai pada tingkat pendidikan tertinggi. Secara khusus, ingin saya haturkan terima kasih saya kepada Prof. Hj. R.K. Tamin Radjamin, dr, SpM (alm) dan Isnania Koento, dr, SpM (alm) yang telah mendidik dan membentuk saya hingga menjadi dokter spesialis mata seperti sekarang ini. Terima kasih saya haturkan pula kepada guru-guru yang saya hanggakan, Dr. P.N. Oka, dr, SpM

(alm), Kuntjoro Liman, dr, SpM serta Yosef. Kadi, dr, SpM(K) serta para senior serta sejawat saya terutama yang baru promosi guru besar yaitu Prof. Hj. Rowena Gazali Hoesin dr, SpM(K), MARS, Prof. Dr. H. Gatut Suhendro, dr, SpM(K) dan Prof. Hj. Hamidah Ali, dr, SpM(K), atas bimbingannya yang membuat saya selalu ingin lebih mendalami ilmu penyakit mata.

Saya haturkan pula rasa terima kasih yang tidak mungkin terbalaskan dari lubuk hati yang paling dalam, kepada kedua orangtua saya, yaitu almarhum Bapak R. Soejono dan almarhumah Ibu Soekartidjah yang telah membesarkan dan mendidik saya dengan penuh kasih sayang serta memberikan contoh dan tauladan agar menjadi pribadi yang tangguh, namun sayang beliau berdua tidak sempat menyaksikan keberhasilan putra tertuanya memperoleh gelar ilmiah tertinggi.

Saya haturkan terima kasih yang tiada ternilai kepada mertua saya, almarhum Bapak Mayor Jendral TNI (Purn) H. Sukadji Hendrotomo, SH serta almarhumah Ibu Hj. Widji Oetami atas segala doa, perhatian serta bimbingannya, namun sayang beliau berdua juga tidak sempat menyaksikan menantunya yang handal ini meraih gelar doktor di bidang kedokteran.

Penghargaan dan rasa terima kasih yang dalam saya sampaikan untuk kedua kakak ipar saya, mas H. Bambang Watuadji, Ir, beserta mbak Hj. Srie Roostiani dan mas Johnny Hendrosudjono beserta mbak Renny Swasti, Dra, MSi atas dorongan semangat dan doanya, disamping terima kasih yang tiada terhingga kepada ketiga adik iparku, dik Djiet Gardjito Utomo bersama istri, dik Hj. Anny Sri Rahmani Hendrotomo SH, bersama suami dik H. Santoso serta dik Hj. Happy Prasetyawati SE, atas segala doa dan perhatiannya selama saya menekuni pendidikan program doktor.

Penghargaan dan ungkapan kasih juga saya sampaikan kepada keenam adik saya, dik H Theo Setijono, drh, Sri Oetami Budi Rahayu dan Sukanto Wibowo, Sri Sunarti, Harry Wibowo dan Indrawatie, Edy Walujo, Drs, dan Wiwiek Muhartina, dan akhirnya sibungsu Winarto, Drs, MM serta Endah Kustijani SPI, atas segala doa, perhatian dan dorongan semangat

Kepada nanda bertiga yang sangat saya cintai dan banggakan, Hendrarini Suryaningtiyas, SE, Ak, MAk, Heru Prasetyono, S.Ked dan Hanindyo Tri Wibowo S.IP, bapak sampaikan terima kasih yang tiada terhingga kepada kalian bertiga, atas pengertian, dorongan semangat, selalu siap membantu kapanpun diperlukan tanpa menuntut, serta doa dan keikhlasannya, sehingga bapak dapat segera menyelesaikan disertasi ini. Bapak selalu berdoa semoga nanda bertiga mempunyai cita-cita mulia, tangguh serta mempunyai daya juang yang tinggi dalam menjalani kehidupan dan pendidikan. Semoga nanda bertiga segera dapat mencapai semua cita-cita, berguna bagi nusa, bangsa, negara dan agama, senantiasa dalam lindungan dan bimbinganNya, serta selalu mendapatkan petunjuk agar selalu berada di jalan yang benar dan diridlohi Allah SWT. Amien, Amien, Amien ya robbal 'alamin.

Rasa terima kasih yang tidak dapat saya lukiskan dengan ungkapan kata dan kalimat, saya sampaikan kepada istri tercinta, Hj. Susy Susmartini, Ir, MSIE, yang selalu memberi dorongan, melontarkan saran kritis yang positif, siap mendampingi saya Solo-Surabaya dan menemani saya berkeliling kota Solo di malam hari untuk mencairkan ketegangan yang sering saya alami, serta siap membantu sehingga akhirnya penulisan disertasi ini dapat terselesaikan.

Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi umat manusia, khususnya bagi pengembangan pengobatan serta pencegahan kenaikan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer.

Semoga Allah SWT, melimpahkan taufik dan hidayahNya kepada semua pihak yang telah membantu saya dalam bentuk apapun, sehingga penulisan disertasi ini terselesaikan dengan baik. Amien, Amien, Amien ya robbat'alamina.



RINGKASAN

Peran Sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β Terhadap Peningkatan tekanan bola mata Glaukoma Sudut Terbuka Primer

Admadi Soeroso

Saat ini, glaukoma merupakan penyebab kedua kebutaan di seluruh dunia setelah katarak, dengan jumlah penderita sekitar 70 juta orang. Sedangkan di Indonesia, glaukoma merupakan penyebab kebutaan utama ketiga untuk kedua mata setelah katarak dan kebutaan karena kelainan refraksi. Prevalensi glaukoma di Indonesia sekitar 0.16% penduduk, serta berpotensi cenderung meningkat. Kondisi ini disebabkan karena gejalanya yang memang tidak khas dan bahkan tanpa gejala sama sekali. Kalaupun ditemukan penderita glaukoma sudut terbuka primer, biasanya langsung berada dalam stadium lanjut dari neuropati optik glaukomatosa, serta gangguan lapang pandangan yang sudah sangat menyempit. Disamping itu, pengobatan yang diberikan terhadap penderita glaukoma sudut terbuka primer, hampir selalu ditujukan pada kenaikan tekanan bola mata, yang sementara ini masih mungkin dimanipulasi dibanding dengan neuropati optik glaukomatosa dan gangguan lapang pandangan. Namun sampai saat ini, pengobatan dan penanganan terhadap kenaikan tekanan bola mata dengan cara medikamentosa maupun tindakan operasi belum atau bahkan kurang memuaskan. Keadaan ini mungkin disebabkan karena mekanisme kenaikan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer yang diduga akibat berkurangnya/hilangnya sel endotel *trabecular meshwork*, sampai saat ini belum diketahui secara jelas.

Dalam penelitian ini diduga, bahwa salah satu penyebab berkurangnya atau hilangnya sel endotel *trabecular meshwork* adalah adanya jejas atau injury letal baik yang berasal dari luar (eksternal) maupun dari dalam sel itu sendiri. Jejas atau injury letal yang berasal dari luar (eksternal) dapat bersifat fisik, kimia, iskemik maupun biologis. Jejas atau injury letal yang bersifat biologis dapat terjadi pada semua sel dalam tubuh akibat adanya infeksi dan atau inflamasi yang berasal dari invasi mikro-organisme, jamur parasit maupun virus yang terjadi di masa lalu, yang bersifat antigenik, yang kemudian akan dapat mengaktifasi APC dan limfosit T. Limfosit T akan mengekspresikan molekul untuk mengikat antigen pada membrannya yang disebut dengan reseptor limfosit T. Reseptor limfosit T ini hanya dapat mengenal antigen yang terikat pada protein sel membran yang disebut molekul MHC kelas I maupun kelas II. Fungsi utama limfosit T adalah sebagai limfosit T *helper* (Th) dan limfosit T *Cytotoxic* (Tc). Limfosit T *Helper* ini akibat antigen akan berdiferensiasi menjadi limfosit Th₁, limfosit Th₂ maupun Th₃. Selanjutnya limfosit Th₁ akan dapat memproduksi beberapa sitokin, antara lain TNF- α yang akan menimbulkan lisis sel target atau sel endotel *trabecular meshwork* dan akhirnya terjadi apoptosis. Limfosit Th₂ antara lain akan mengekspresikan IL-10. Hampir pada semua proses inflamasi terdapat IL-10, yang sebagian besar diproduksi oleh monosit. IL-10 dapat meningkatkan harapan hidup sel dengan cara meningkatkan protein anti apoptosis Bcl₂. Sedangkan limfosit Th₃ merupakan sumber utama dalam memproduksi sitokin TGF- β , yang dapat berfungsi ganda, yaitu sebagai sitokin *pro-inflammatory* dan sitokin *anti-inflammatory*. Di samping itu, TGF- β mempunyai

hubungan yang sangat erat dengan proses apoptosis sel akibat pengaruh enzim *endonuklease*. Pada penderita glaukoma ditemukan kadar TGF- β_2 yang lebih tinggi dari orang normal. Selain itu, TGF- β_1 dan TGF- β_2 dapat merangsang peningkatan akumulasi matriks ekstra seluler, *fibronectin* dan peningkatan enzim *Tissu -Transglutaminase*, yang sangat berperan dalam proses kematian sel (apoptosis).

Ketiga sitokin yang diekspresikan oleh limfosit Th₁, Th₂ serta Th₃ adalah TNF- α , IL-10 dan TGF- β , kesemuanya berperan terhadap kematian sel. Ketiga sitokin tersebut ditemukan dalam cairan akuos dengan kadar yang berbeda dibandingkan dengan orang normal. Keadaan ini berpeluang menimbulkan kematian sel, termasuk di dalamnya sel endotel *trabecular meshwork*. Kematian sel endotel *trabecular meshwork* mengakibatkan jumlah sel endotel *trabecular meshwork* akan sangat berkurang, serta akan mengakibatkan penurunan *outflow* cairan akuos yang melewati *trabecular meshwork*, sehingga menyebabkan peningkatan tekanan bola mata.

Penelitian ini berusaha mengungkap penyebab terjadinya kenaikan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer, melalui pendekatan imunologis dengan dasar infeksi dan atau inflamasi akibat mikro-organisme intra maupun ekstra seluler, yaitu dengan melakukan pemeriksaan kadar sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β cairan akuos penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan kenaikan tekanan bola mata, kemudian dibandingkan dengan kadar sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β cairan akuos orang normal (dalam hal ini penderita katarak yang dioperasi dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat, karena secara etik tidak dibenarkan mengambil cairan akuos pada orang sehat). Nilai rerata ketiga sitokin pada kedua kelompok tersebut diuji perbedaannya secara statistik.

Pengambilan sampel dilakukan terhadap penderita yang menjalani operasi anti-glaukoma atau trabekulektomi dan operasi katarak di Rumah Sakit Mata Undaan Surabaya yang memenuhi syarat penelitian, selama kurun waktu Januari 2005 sampai dengan Januari 2006. Selanjutnya pemeriksaan sitokin dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik FK UNAIR/RSU dr. Soetomo Surabaya, dengan cara *ELISA-sandwich*, menggunakan alat merek Organon. Sampel yang dilibatkan dalam penelitian ini adalah 21 orang penderita glaukoma dengan kenaikan tekanan bola mata yang telah dioperasi anti glaukoma (rerata umur 62.05 ± 13.385 tahun) dengan rerata tekanan bola matanya 36.1781 ± 6.67779 mmHg, serta 13 orang penderita katarak dengan tekanan bola mata normal yang telah dioperasi katarak (rerata umur 66.00 ± 11.415 tahun) dengan rerata tekanan bola mata 15.9550 ± 2.01806 mmHg.

Dalam penelitian ini ditemukan perbedaan secara statistik bermakna, yaitu bahwa rerata kadar sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β pada glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata yang meningkat, lebih tinggi dibanding dengan rerata kadar sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β penderita katarak dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat (nilai $p_{TNF-\alpha} = 0.029$; $p_{IL-10} = 0.001$ dan $p_{TGF-\beta} = 0.010$). Simpulan yang dapat ditarik dari penelitian ini adalah bahwa kenaikan kadar sitokin TGF- β , IL-10 dan TNF- α dalam cairan akuos secara berurutan (dengan menggunakan statistik regresi) mempunyai peran penting terhadap tekanan bola mata pada penderita glaukoma sudut terbuka primer.

SUMMARY

The Role of TNF- α , IL-10 and TGF- β Cytokines in increased intra ocular pressure Primary Open Angle Glaucoma

Admadi Soeroso

Currently glaucoma is the second leading cause of blindness in the world after cataract, with a total of approximately 70 million people. In Indonesia, glaucoma ranks third as the leading cause of blindness after cataract and refractive errors. The prevalence of glaucoma in Indonesia is about 0.16% of the population with its potential to increase. This condition is due to the unspecific symptoms or even without symptoms at all of the glaucoma. Even if primary open angle glaucoma patients are detected, they usually have reached an advanced stage with glaucomatous optic neuropathy and visual field changes. The target treatment for primary open-angle glaucoma is almost always aimed at the increasing intra ocular pressure, since it is the only easier to manipulate than the glaucomatous optic neuropathy and visual field changes. The current medical and surgical treatments for the increasing intra ocular pressure, however, are unsatisfactory. This is because the mechanism for the primary open angle glaucoma, in particular the reducing endothelial cell trabecular meshwork as one of the possible mechanisms, is still unclear.

It is hypothesized in the current study that one of possible etiologic factors of glaucoma is external lethal injury, which may be physical, chemical, ischemic, or biologic in nature. The biologic lethal injury can occur in any body cell, resulting from an infection and or inflammation of micro-organism invasion, including past exposure to antigenic parasitic fungi or virus, which in turn will activate antigen processing and presenting cells (APC) and T-lymphocytes. The T-lymphocytes will express molecules to bind antigen on its membrane so-called as T-cell receptor. The T lymphocyte receptor will only recognizes antigen that is bound to cell membrane protein so-called as MHC class I or class II molecule. The key functions of the T lymphocyte rest on T helper lymphocyte (Th) and T cytotoxic lymphocyte (Tc). Given an antigens, the T lymphocyte helper will differentiate into Th₁ lymphocyte, Th₂ lymphocyte and Th₃ lymphocyte. Subsequently Th₁ lymphocyte will produce some cytokines, including TNF- α that will lead to a lysis in the target cell or endothelial cell trabecular meshwork, and finally lead to necrosis. Th₂ lymphocyte, among others, will express Interleukin-10 (IL-10). Interleukin-10 is present in almost all of inflammatory process, which is largely produced by monocyte. Interleukine-10 increases the survival of cells by increasing protein of the anti-apoptosis Bcl₂. Th₃ lymphocyte is a primary source for the production of TGF- β cytokine, which has multiple functions, i.e. a pro-inflammatory cytokine and an anti-inflammatory cytokine. In addition, TGF- β has a

strong relationship with cellular apoptosis process that is influenced by endonuclease enzyme. The level of TGF- β_2 is higher in glaucoma patients than in normal people. In addition, TGF- β_1 and TGF- β_2 can stimulate an increase in the accumulation of extra-cellular matrix, fibronectin, and an elevation of tissue-transglutaminase enzyme, that have important role in the cellular death process (i.e. apoptosis).

The three cytokines expressed by Th₁, Th₂, and Th₃ lymphocytes are TNF- α , IL-10, and TGF- β , all of which have their roles in cellular death. The three cytokins are found in the aqueous humor with difference concentrations among glaucoma patients than normal people. This condition gives the chance of causing cellular death, including those of the endothelial cell trabecular meshwork. The death of the endothelial cells in the trabecular meshwork will cause the number of the endothelial cells of the trabecular meshwork to decrease, which leads to decreasing aqueous humor outflow within the trabecular meshwork, and finally causes increase the intra ocular pressure.

Therefore, this study aimed to discover the causes of the increasing the intra ocular pressure of the eye among the primary open angle glaucoma patients, by use of immunologic approach on the basis of an infection or inflammation resulting from intra and extra-cellular microorganisms, and an examination of the levels of TNF- α , IL-10, TGF- β cytokines in the aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma with increased intra ocular pressure. These cytokine levels were then compared with the levels of TNF- α , IL-10, TGF- β cytokines in the aqueous humor of cataract patients with normal normal intra ocular pressure. The difference in means of the three cytokines levels between the two groups was then tested.

Sampling was undertaken among patients who underwent anti-glaucoma or trabeculectomy, and cataract surgery at Undaan Eye Hospital, Surabaya, who met some eligibility criteria for the study, during the period of January 2005 to January 2006. Subsequently, cytokine examination was carried out at the Clinical Pathology Laboratory, Faculty of Medicine Airlangga University/Dr. Soetomo General Hospital, Surabaya, by use of ELISA-sandwich method and an Organon instrument. The sample for the study included 21 glaucoma patients who had anti-glaucoma surgery or trabeculectomy (mean age 62.05 ± 13.385 years) with increasing intra ocular pressure (mean 36.1781 ± 6.67779 mmHg), and 13 cataract patients (mean age 66.00 ± 11.415 years) who had cataract operation with normal intra ocular pressure (mean 15.9550 ± 2.01806 mmHg).

The current study found statistically significant difference in means of the cytokine levels between the two groups. The mean levels of TNF- α , IL-10, TGF- β cytokines among patients with primary open angle glaucoma and increasing intra ocular pressure were higher than the mean levels of TNF- α , IL-10, TGF- β cytokines among cataract patients with normal intra ocular pressure (p for TNF- α = 0.029; p for IL-10= 0.001, and p for TGF- β = 0.010). It is concluded that increases in the TNF- α , IL-10, TGF- β cytokine levels, respectively, in the aqueous humor have important role in the increase of the intra ocular pressure among patients with primary open angle glaucoma.

ABSTRACT

**The Role of TNF- α , IL-10 and TGF- β Cytokines
in increased intra ocular pressure
Primary Open Angle Glaucoma**

Admadi Soeroso

Currently glaucoma is the second leading cause of blindness in the world after cataract, with a total of approximately 70 million people. In Indonesia, glaucoma ranks third as the leading cause of blindness after cataract and refractive errors. The prevalence of glaucoma in Indonesia is about 0.16% of the population with its potential to increase. This condition is due to the unspecific symptoms or even without symptoms at all of the glaucoma. Even if primary open angle glaucoma patients are detected, they usually have reached an advanced stage with glaucomatous optic neuropathy and visual field changes. The target treatment for primary open-angle glaucoma is almost always aimed at the increasing intra ocular pressure, since it is the only easier to manipulate than the glaucomatous optic neuropathy and visual field changes. The current medical and surgical treatments for the increasing intra ocular pressure, however, are unsatisfactory.

TGF- β is known to be present at elevated levels in aqueous humor of patients with Primary Open Angle Glaucoma (POAG)

Our study aimed to investigate whether transforming growth factor- β and another cytokines as tumor necrosis factor- α and interleukine-10 are difference level in the aqueous humor of eyes with primary open angle glaucoma through infections- Th_1 , Th_2 , Th_3 pathway.

The aqueous humor levels of tumor necrosis factor- α , interleukine-10 and transforming growth factor-beta were detected in twenty-one eyes which has been done trabeculectomy from patients primary open-angle glaucoma with increased intra ocular pressure, and the control consist 13 cataract extracted patients with normal intra ocular pressure using Elisa method.

Results of these study showed that, mean age of glaucoma patients (62.05 ± 13.38 years) was similar to that the control patients (66.00 ± 11.415 years with $p= 0.372$). Mean level of tumor necrosis factor- α in aqueous humor samples of glaucoma patients (11.0057 ± 10.07931 ng/ml), interleukine-10 (6.8343 ± 2.11976 ng/ml) and transforming growth factor-beta ($592.78 + 168.92823$ pg/ml) were found to be elevated compared to those the control patients with mean level of tumor necrosis factor- α in aqueous humor (0.1633 ± 0.25303 ng/ml with $p= 0.029$), interleukine-10 (2.6943 ± 0.61196 ng/ml with $p= 0.001$) and transforming growth factor- β (362.0229 ± 105.21864 pg/ml with $p= 0.010$)

As conclusion of these study suggests that the elevated levels of transforming growth factor- β , interleukine-10 and tumor necrosis factor- α in aqueous humor of glaucoma patients could play a role in the pathogenesis of increased intra ocular pressure in Primary Open Angle Glaucoma.

Keywords : role of cytokines – increased intra ocular pressure – Th_1 , Th_2 , Th_3 – immune response

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Cielar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia	v
Ucapan Terima Kasih	x
Ringkasan	xii
Summary	xiv
Abstract	xv
DAFTAR ISI	xvii
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
DAFTAR SINGKATAN	1
BAH 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	7
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Manfaat Penelitian	10
BAH 2 TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Cairan Akuos	12
2.2 Glaukoma	15
2.2.1 Klasifikasi Glaukoma	18
2.2.2 Glaukoma Sudut Terbuka Primer	20
2.2.3 Epidemiologi Glaukoma Sudut Terbuka Primer	26
2.2.4 Patologi Glaukoma Sudut Terbuka Primer	27
2.2.5 Goniioskopi Pada Glaukoma	29
2.2.6 Glaukoma Dengan Tekanan Bola Mata Normal	30
2.2.7 Hipertensi Okuler	31
2.2.8 Kecurigaan Glaukoma	32
2.3 Respons Imun	35
2.3.1 Sistem Pertahanan Tubuh Alamiah	37
2.3.2 Sistem Pertahanan Tubuh Didapat	39
2.3.2.1 Mekanisme Daya Tahan Tubuh Terhadap Masuknya Kuman Ekstraseluler	40
2.3.2.2 Mekanisme Daya Tahan Tubuh Terhadap Masuknya Kuman Intraseluler	43
2.3.2.3 Sistem Imun Spesifik Humoral	45
2.3.2.4 Sistem Imun Spesifik Seluler	46
2.3.3 Antigen	47
2.3.4 Antibodi	49
2.3.5 Auto-immunitas	51
2.4 Kematian Sel	51

2.4.1 Nekrosis	51
2.4.2 Apoptosis	52
2.5 Sitokin	59
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN ..	85
3.1 Kerangka Konseptual	85
3.2 Hipotesis Penelitian	89
BAB 4 METODE PENELITIAN	90
4.1 Jenis / Rancangan Penelitian	90
4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	90
4.2.1 Populasi Penelitian	90
4.2.2 Sampel Penelitian	92
4.2.3 Teknik Pengambilan Sampel	93
4.3 Variabel Penelitian	93
4.4 Bahan Penelitian	94
4.5 Instrumen Penelitian	94
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	95
4.6.1 Lokasi Penelitian	95
4.6.2 Waktu Penelitian	95
4.7. Prosedur Pengambilan Atau Pengumpulan data	95
4.7.1 Prosedur Pengambilan Data	95
4.7.2 Kerangka Operasional Penelitian	96
4.7.3 Pengambilan, Penyimpanan dan Pemeriksaan Sampel	97
4.7.4 Definisi Operasional	104
4.8 Cara Pengolahan dan Analisis Data	106
4.9 Etika Penelitian	106
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS	107
5.1 Penentuan Jumlah Sampel Penelitian	107
5.2 Data dan Rerata Umur & Tekanan Bola Mata	108
5.3 Data & Rerata Kadar Variable Bebas TNF- α , IL-10 dan TGF- β	109
5.4 Analisis dan Hasil Penelitian	111
5.4.1 Uji Normalitas Data	111
5.4.2 Uji Kesimetrisan dan Uji Kurtosis	112
5.4.3 Uji Beda Antar Kedua Kerata	113
5.4.4 Pengaruh Kenaikan Kadar Variabel Bebas TNF- α , IL-10 dan TGF- β terhadap Kenaikan Tekanan Bola Mata	114
BAB 6 PEMBAHASAN	117
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN	127
7.1 Simpulan	127
7.2 Saran	128
7.3 Saran Untuk Penelitian Lebih Lanjut	129
DAFTAR PUSTAKA	130
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1. Data, nilai rerata dan Standar Deviasi kadar TNF- α pada kedua kelompok sampel	109
Tabel 5.2. Data, nilai rerata dan Standar Deviasi kadar IL-10 pada kedua kelompok sampel	110
Tabel 5.3. Data, nilai rerata dan Standar Deviasi kadar TGF- β pada kedua kelompok sampel	110
Tabel 5.4. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test	111
Tabel 5.5. Descriptive Statistic	112
Tabel 5.6. Penentuan Kenormalan Data Variabel	113
Tabel 5.7. Uji Mann-Whitney U	113
Tabel 5.8. Independent Sample Test	114
Tabel 5.9. Uji Beda Antar Dua Rerata	114

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	88
Gambar 4.1 Kerangka Operasional Penelitian	96
Gambar 4.2 Prosedur Asai untuk menentukan kadar sitokin TNF- α	99
Gambar 4.3 Prosedur Asai untuk menentukan kadar sitokin IL-10	101
Gambar 4.4 Prosedur Asai untuk menentukan kadar sitokin TGF- β	103



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Data & Hasil Perhitungan Rerata & Uji Beda Umur & Tekanan Bola Mata Penderita Katarak & Glaukoma
- Lampiran 2 Data & Hasil Perhitungan Rerata & Uji Normalitas Data, Uji Kesimetrisan & Kurtosis, Uji Mann-Whitney U, serta Uji T untuk 2 sampel bebas Kadar Sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β
- Lampiran 3 Data & Hasil Perhitungan Uji Regresi Kenaikan Kadar Sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β Terhadap Kenaikan Tekanan Bola Mata
- Lampiran 4 Lain-lain



DAFTAR SINGKATAN

ADCC	: <i>Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity</i>
ADP	: <i>Adenosine Di Phosphate</i>
APAF-1	: <i>Apoptotic Protease Activating Factor-1</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
Apo-1	: <i>Apoptosis -1</i>
ATP	: <i>Adenosine Tri Phosphate</i>
BAF	: <i>B cell Activating Factor</i>
BCGF	: <i>B Cell Growth Factor</i>
CAD	: <i>Caspase-Activated Deoxyribonuclease</i>
CD	: <i>Clusters of Differentiation antigen</i>
cdk	: <i>cyclin dependent kinase</i>
CM	: <i>Ceramide</i>
C-myc	: <i>Cell-cycleus Regulator Oncogene</i>
COA	: <i>Camera Oculi Anterior</i>
COP	: <i>Camera Oculi Posterior</i>
CRP	: <i>C-reactive Protein</i>
CSF	: <i>Colony Stimulating Factor</i>
CTL	: <i>Cytotoxic T Lymphocyte</i>
DAF	: <i>Decay Accelerating Factor</i>
DAG	: <i>Diacylglycerol</i>
DED	: <i>Death Effector Domain</i>
DFF	: <i>DNA Fragmentation Factor</i>
DIC	: <i>Disseminated Intravascular Coagulation</i>
DNA	: <i>Deoxy - Ribonucleid Acid</i>
ds-DNA	: <i>Double Stranded DNA</i>
DTH	: <i>Delayed Type Hypersensitivity</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
ELISA	: <i>Enzyme - Linked Imunosorbant Assay</i>
FADD	: <i>Fas-Associated Death Domain</i>

FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GM-CSF	: <i>Granulocyte Macrophage- Colony Stimulating Factor</i>
HSP	: <i>Heat Shock Protein</i>
HLA	: <i>Human Leucocyte Antigen</i>
ICAD	: <i>Inhibitor-Caspase-Activated Deoxyribonuclease</i>
ICAM	: <i>Inter Cellular Adhesion Molecules</i>
ICC	: <i>Intra Cellular Cytokine</i>
ICE	: <i>Interleukin-1β Converting Enzyme</i>
IEP	: <i>Immuno Electrophoresis</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IGF	: <i>Insulin-like Growth Factor</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IL-1R	: <i>Interleukin-1 Receptor</i>
IL-1Ra	: <i>Interleukin-1 Receptor antagonist</i>
IR	: <i>Imuno-Reactivity</i>
LAF	: <i>Leucocyte Adhesion Factor</i>
LAK	: <i>Lymphokine Activated Killer</i>
LECAM	: <i>Lectin Adhesion Molecules</i>
LFA	: <i>Lymphocyte Function-associated Antigen</i>
LPS	: <i>Lipopolysaccharide</i>
LT-α	: <i>Limfotoksin-alfa</i>
LT-β	: <i>Limfotoksin-beta</i>
MAC	: <i>Membrane Attack Complex</i>
MAF	: <i>Macrophage Activating Factor</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
MIF	: <i>Migration Inhibitory Factor</i>
NCF	: <i>Neutrophil Chemotactic Factor</i>
NGF	: <i>Neutrophil Growth Factor; Nerve Growth Factor</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
PAF	: <i>Platelet Activating Factor</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>

PMN	: <i>Poly Morpho Nuclear Cell</i>
RNA	: <i>Ribo Nucleid Acid</i>
SLE	: <i>Systemic Lupus Erythematosus</i>
T _C	: <i>T Cytotoxic</i>
TCGF	: <i>T Cell Growth Factor</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor - β</i>
TRAF	: <i>TNF Receptor-Associated Factor (ada 1 s/d 6)</i>
TRF	: <i>Terminal Restriction Fragment</i>
tRNA	: <i>transfer Ribo Nucleid Acid</i>
T _s	: <i>T suppressor</i>
T _H	: <i>T helper</i>
TMF	: <i>Thymocyte Mitogenic Factor</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor - α</i>
tPA	: <i>tissue Plasminogen Activator</i>
tTg ase	: <i>tissue-Transglutaminase</i>
TRADD	: <i>TNF Receptor Activated Death Domain / Adapter Protein</i>
TRAF	: <i>TNF Receptor Associated Factor</i>
TRAIL	: <i>TNF Related Apoptosis Induced Ligand / atau APO-1.</i>

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Glaukoma merupakan penyebab kedua kebutaan utama di dunia setelah katarak atau kekeruhan lensa, dengan jumlah penderita diperkirakan sebanyak \pm 70.000.000 orang (Quigley, 1978). Selama ini dikenal dua macam glaukoma primer, yaitu glaukoma sudut terbuka primer dan glaukoma sudut tertutup primer. Di antara jumlah penderita kebutaan tersebut, sebanyak 50%-70% berasal dari bentuk glaukoma sudut terbuka primer, sementara menurut Vaughan pada tahun 1995, dinyatakan bahwa sekitar 85%-90% glaukoma berbentuk glaukoma sudut terbuka primer, sedang sebagian kecil (10%-15%), merupakan glaukoma sudut tertutup primer, atau disebut juga dengan glaukoma sudut sempit yang dapat melalui stadium akut, subakut dan khronik, serta bentuk glaukoma lainnya.

Di Amerika, jumlah penderita glaukoma sudut terbuka primer yang berasal dari kelompok pendatang (imigran) dengan ras kulit berwarna, 3-4 kali lebih besar daripada jumlah pendatang yang berkulit putih. Sementara itu, pada glaukoma sudut terbuka primer seringkali ditemukan pada kelompok umur di atas 40 tahun, dan prevalensinya terus meningkat sesuai dengan bertambahnya usia. Vaughan pada tahun 1995 menyatakan bahwa prevalensi glaukoma sudut terbuka primer pada usia 40 tahun sekitar 0.4%-0.7%, sedangkan pada usia 70 tahun sekitar 2%-3%. Pernyataan yang hampir sama dikeluarkan oleh Framingham Study dan Ferndale Glaucoma Study pada tahun 1994, yang menyatakan bahwa prevalensi glaukoma sudut terbuka primer sekitar 0.7%

penduduk yang berusia 52-64 tahun dan meningkat menjadi 1,6 % penduduk pada usia 65-74 tahun, serta menjadi 4,2% penduduk pada usia 75-85 tahun.

Sementara itu sebagian besar penderita glaukoma sudut terbuka primer hampir tidak pernah menyadari bahwa tekanan bola matanya yang meningkat. Seringkali mereka baru menyadari setelah merasakan ada gangguan yang jelas terhadap tajam penglihatan, atau penyempitan lapang pandangan.

Menurut *Luessgang pada tahun 2003*, menyatakan bahwa yang disebut dengan glaukoma adalah sekumpulan gejala dengan tanda karakteristik berupa adanya neuropati optik glaukomatosa bersamaan dengan defek atau gangguan penyempitan lapang pandangan (*visual field*) yang khas, disertai dengan kenaikan tekanan bola mata. *Goldberg pada tahun 2003*, juga menyatakan bahwa, glaukoma sudut terbuka primer adalah neuropati optik yang khronik progresif dengan karakteristik perubahan papila syaraf optik dan atau lapang pandangan tanpa disertai penyebab sekunder. Di samping itu *Luessgang (2003)*, juga menyatakan bahwa kenaikan tekanan bola mata, merupakan salah satu faktor resiko utama terjadinya glaukoma. Nilai batas normal tekanan bola mata dalam populasi berkisar antara 10 - 22 mmHg. Menurut *Summer (Boyd, 2002)*, pada populasi, nilai rerata tekanan bola mata yang normal adalah 16 mmHg dengan *standard deviasi 3 mmHg*.

Menurut etiologinya glaukoma sudut terbuka primer adalah salah satu bentuk glaukoma primer, yang ditandai oleh terganggunya atau terjadinya hambatan *outflow* cairan akuos melewati *trabecular meshwork*. Hambatan ini terjadi akibat hilang atau berkurangnya jumlah sel endotel *trabecular meshwork*,

namun mekanisme kejadiannya masih belum diketahui secara jelas dan sampai saat ini masih menjadi obyek penelitian.

Menurut survei Departemen Kesehatan Republik Indonesia yang dilaporkan tahun 1996 (Ilyas, 2001), glaukoma merupakan penyebab kebutaan utama yang ketiga untuk kedua mata, setelah katarak dan kebutaan karena kelainan refraksi, dengan prevalensi sekitar 0,16 % jumlah penduduk Indonesia.

Lutjen-Drecoll dan Rubin pada tahun 1994 menemukan bahwa pada glaukoma sudut terbuka primer terjadi pengurangan atau menghilangnya jumlah sel endotel *trabecular meshwork*, disertai penebalan lamela daerah uvea dan korneo-skeral. Penebalan tersebut akan menimbulkan penyempitan ruang antar-trabekulum yang berakhir dengan penutupan, sehingga terjadi hambatan *outflow* cairan akuos. Akan tetapi peneliti tersebut tidak atau belum menjelaskan mekanisme kejadian berkurang atau menghilangnya sel endotel *trabekular meshwork* pada glaukoma sudut terbuka primer. *Vaughan* pada tahun 1995, menyatakan bahwa kondisi berkurang atau hilangnya sel endotel *trabecular meshwork* tersebut terjadi akibat degenerasi, tetapi bukan akibat degenerasi seperti pada proses penuaan (*ageing process*). *Hogan dan Zimmerman* (1962), mengatakan bahwa kondisi tersebut merupakan akibat pembengkakan dan sklerosis sel endotel *trabecular meshwork*, sedangkan *Cotran* pada tahun 1999, menerangkan bahwa penyebabnya belum diketahui dengan jelas.

Berdasarkan beberapa pendapat tersebut di atas, dapat dimunculkan dugaan kuat bahwa penyebab berkurangnya jumlah sel endotel *trabecular meshwork*, adalah akibat kematian sel itu sendiri oleh karena berbagai sebab

Berkurangnya jumlah sel endotel *trabecular meshwork*, disertai dengan akumulasi matriks ekstra-seluler dan penebalan lamela daerah uvea dan korneo-sklera akan menimbulkan hambatan *outflow* cairan akuos pada glaukoma sudut terbuka primer (Lutjen-Drecoll, 1994)

Pada hakekatnya, kematian sel dapat terjadi karena rangsangan atau jejas letal yang berasal dari luar atau dari dalam sel itu sendiri (bersifat aktif atau pasif). Kematian sel yang berasal dari dalam sel dapat terjadi melalui mekanisme genetik, yang merupakan suatu proses fisiologis dalam usaha mempertahankan keadaan homeostasis atau keseimbangan fungsinya (Cotran, 1999).

Proses kematian yang berasal dari luar sel dan bersifat pasif dapat terjadi karena jejas atau injury yang letal akibat faktor fisik, kimia, iskemia maupun biologis (Cotran, 1999).

Jejas atau injury biologis dapat terjadi akibat pengaruh infeksi mikro-organisme, secara intra maupun ekstra seluler, baik akibat kuman, jamur, parasit ataupun virus, yang kesemuanya dapat merupakan antigen yang dapat menimbulkan inflamasi. Akhirnya antigen tersebut dapat mengaktivasi APC dan limfosit T (Clancy, 1998, Handoyo, 2003, dan Judajana, 2004)

Limfosit T mengekspresikan molekul untuk mengikat antigen pada membrannya, yang disebut sebagai sel reseptor T. Reseptor limfosit T ini hanya dapat mengenal antigen yang terikat pada protein sel membran, yang disebut sebagai molekul MHC (kelas I atau kelas II). Fungsi utama limfosit T adalah sebagai limfosit *T helper (Th)* dan limfosit *T cytotoxic (Tc)*. Antigen akan berpengaruh terhadap limfosit T helper, dan selanjutnya akan berdiferensiasi

menjadi limfosit Th₁, limfosit Th₂ dan limfosit Th₁₇, tergantung pada macam antigen yang mempengaruhinya (Clancy, 1998, Krutt, 2001).

Limfosit Th₁ akan memproduksi beberapa sitokin antara lain IL-2, IFN- γ , serta TNF- α . Menurut Abbas pada tahun 1994, sitokin TNF- α mempunyai peran terbesar sebagai pengatur mediator imun dalam proses inflamasi, yang dapat mengakibatkan lisis sel target, dan akhirnya mengalami kematian.

Sementara itu, limfosit Th₂ akan memproduksi IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 dan IL-13. Hampir pada semua proses inflamasi ditemukan IL-10, yang berfungsi sebagai anti inflamasi dan sebagian besar diproduksi oleh monosit (Theze, 1999). Menurut Petrolani pada tahun 1999, IL-10 dapat meningkatkan harapan hidup sel dengan cara meningkatkan protein anti apoptosis Bcl₂.

Oppenheim pada tahun 2001 mengatakan, bahwa limfosit Th₁ merupakan sumber utama dalam memproduksi sitokin TGF- β . Menurut Condas (2004) dan Judajana (2004), TGF- β merupakan sitokin yang dapat berfungsi ganda, yaitu sebagai sitokin *pro-inflammatory* dan sitokin *anti-inflammatory*. Oppenheim juga menyatakan bahwa, TGF- β mempunyai hubungan yang sangat erat dengan proses apoptosis sel akibat pengaruh enzim *endonuklease* (Pimentel, 1994).

Tripathi pada tahun 1994 juga menyatakan, bahwa pada glaukoma ditemukan kadar TGF- β_2 yang lebih tinggi dan orang normal. Kedua pendapat tersebut juga didukung oleh Welge-Luessen (2000), yang menginformasikan juga bahwa TGF- β_1 dan TGF- β_2 dapat merangsang peningkatan akumulasi matriks ekstra seluler, *fibronectin* dan peningkatan enzim *Tissue Transglutaminase*, yang sangat berperan dalam proses kematian sel (apoptosis).

Berdasarkan hal tersebut, sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β mempunyai pengaruh yang besar pada proses inflamasi, sehingga diperkirakan juga berperan terhadap kematian sel.

Wallach (1999), Petrolani (1999) dan Pimentel (1994) menyebutkan, bahwa ketiga sitokin yaitu TNF- α , IL-10 dan TGF- β memang berpengaruh terhadap kematian sel, namun sampai dengan saat ini, peran ketiga sitokin tersebut khususnya terhadap kematian sel endotel *trabecular meshwork*, belum pernah dijelaskan. Jika peran ketiga sitokin tersebut dalam respons inflamasi dan kematian sel tidak diperjelas, maka pemahaman tentang peran ketiga sitokin tersebut tidak dapat dimanfaatkan bagi kepentingan penanggulangan proses perjalanan dan perkembangan peningkatan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer. Hal ini akan menyebabkan kecacatan netra akibat glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat, tetap saja tinggi atau bahkan lebih meningkat.

Kondisi tersebut secara umum tentu akan berpengaruh terhadap kemampuan sumber daya manusia dan produktivitasnya. Sebaliknya, jika peran ketiga sitokin tersebut telah menjadi jelas, maka usaha penanganan dan pencegahan terhadap timbulnya kenaikan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer, diharapkan akan dapat dilakukan dengan cara pemberian bahan yang bersifat antagonis terhadap ketiga sitokin tersebut, atau bahkan dengan pemberian sitokinnya sendiri.

Sampai saat ini, pengobatan dan penanggulangan glaukoma sebagai salah satu penyakit mata yang menyebabkan kebutaan utama masih belum memuaskan

Kedasan ini disebabkan antara lain karena mekanisme kejadian berkurangnya atau hilangnya sel endotel *trabecular meshwork*, yang dianggap sebagai penyebab timbulnya hambatan *outflow* cairan akuos yang berakibat terjadinya peningkatan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer, masih belum diketahui secara pasti.

Oleh karena itu penelitian ini berusaha menemukan kejelasan mengenai peran sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β dalam cairan akuos terhadap peningkatan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer yang diduga akibat kematian sel endotel *trabecular meshwork*, yang mengakibatkan berkurangnya jumlah sel endotel *trabecular meshwork*, melalui pendekatan imunologis. Cara yang dipilih adalah dengan membandingkan kadar sitokin tersebut pada penderita glaukoma dan non glaukoma atau orang nonnal sebagai kontrol, dalam hal ini adalah penderita katarak lentis yang akan dioperasi dengan tekanan bola mata normal (karena secara etis tidak diperkenankan mengambil cairan akuos pada orang sehat).

1.2. Rumusan masalah

Berdasar pada latar belakang masalah, dapat disimpulkan beberapa rumusan masalah yang perlu dikaji lebih lanjut, yaitu :

1. Apakah kadar sitokin TNF- α dalam cairan akuos penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat, lebih tinggi dibanding kontrol non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat?

2. Apakah kadar sitokin IL-10 dalam cairan akuos penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat, lebih rendah dibanding kontrol non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat?
3. Apakah kadar sitokin TGF- β dalam cairan akuos penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat, lebih tinggi dibanding kontrol non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat?

1.3. Tujuan penelitian

1.3.1. Tujuan umum :

Menjelaskan peran sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β terhadap kenaikan tekanan bola mata penderita glaukoma sudut terbuka primer.

1.3.2. Tujuan khusus :

Membuktikan bahwa :

1. Kadar sitokin TNF- α dalam cairan akuos penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat, lebih tinggi dibanding kontrol non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat.
2. Kadar sitokin IL-10 dalam cairan akuos penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat, lebih rendah dibanding kontrol non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat.

3. Kadar sitokin TGF- β dalam cairan akuos penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat, lebih tinggi dibanding kontrol non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat.

1.4. Manfaat penelitian

1.4.1. Manfaat teoritis :

Untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, yaitu perihal **patogenesis atau mekanisme peningkatan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer yang diduga akibat kematian sel endotel *trabecular meshwork*, yang dapat diterangkan melalui pendekatan imunologi**

1.4.2. Manfaat praktis :

Terungkapnya mekanisme peningkatan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer akibat kematian sel endotel *trabecular meshwork*, maka dapat diharapkan :

- a. Pengobatan dan penanggulangan kenaikan tekanan bola mata penderita glaukoma sudut terbuka primer dapat dilakukan lebih optimal, disamping akan dapat memberikan nilai prognostik yang lebih baik
- b. Diharapkan dapat digunakan sebagai dasar usaha pencegahan terjadinya kenaikan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer, misalnya dengan pembuatan vaksin, atau pemberian bahan yang menghambat pengaruh sitokin TNF- α dan TGF- β , serta yang merangsang pengaruh IL-10 atau bahkan pemberian sitokinya sendiri

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Cairan akuos

Tempat pembentukan cairan akuos beserta dinamika pengalirannya yang dimulai dari epitel *proc. siliaris* sampai dengan pengeluarannya melalui sistem vena sistemik, sudah banyak diketahui. Tetapi sebaliknya, mekanisme pembentukan cairan akuos sampai dengan saat ini masih merupakan perdebatan para peneliti.

Liesegang pada tahun 2003, mengatakan bahwa pembentukan cairan akuos merupakan kombinasi dari beberapa proses yang terjadi hampir secara bersamaan, mencakup proses transport aktif atau sekresi, proses ultra filtrasi dan proses difusi yang sederhana.

Transport aktif yang terjadi memerlukan energi untuk menggerakkan beberapa substansi melalui perbedaan elektro-kemikal dan merupakan proses *pressure independent*, sedangkan identitas sejumlah ion yang bergerak secara tepat tidak jelas diketahui, namun ion Na^+ , Cl^- dan HCO_3^- termasuk di dalamnya. Proses transport aktif ini merupakan bagian terbesar dari mekanisme produksi cairan akuos, termasuk di dalamnya peran enzim *Carbonic- Anhydrase*.

Proses ultra filtrasi adalah proses yang *pressure dependent* akibat adanya perbedaan tekanan hidrostatis dan onkotik dalam kapiler *proc. siliaris* dengan tekanan bola mata, sehingga ada perpindahan cairan ke dalam bilik mata belakang (C.O.P), sementara itu hubungan antara sekresi dan ultra filtrasi sampai saat ini

belum jelas. Diffusi sederhana merupakan gerakan pasif beberapa ion melalui set membran.

Berbeda dengan pembentukannya yang masih merupakan misteri, maka pengaliran cairan akuos sudah banyak diketahui, yaitu setelah dibentuk di epitel *proc. siliaris* dengan segala teori pembentukannya, cairan akuos dialirkan ke arah bilik mata belakang (COP: *Camera Oculi Posterior*), kemudian terus mengalir melalui ruangan di antara iris bagian belakang dan bagian depan lensa. Selanjutnya melalui pupil menuju ke arah bilik mata depan (COA: *Camera Oculi Anterior*), cairan akuos akan meneruskan perjalanannya melalui *trabecular meshwork* yang letaknya berada pada sudut bilik mata depan, berupa jaringan dengan berpori banyak ± 1200 buah, diteruskan ke arah kanal *Schlemm*, yang letaknya melingkari mata dan berada di bawah *limbus*. Dari kanal *Schlemm* cairan akuos akan mengalir melalui sekitar $\pm 25-30$ saluran pengumpul (*collector channels*) menuju vena akuos (*aqueous vein*) yang jumlahnya sekitar 12 buah, kemudian bermuara di dalam sistem vena episkleral dan skleral. Semua gangguan keseimbangan antara produksi, perjalanan cairan akuos serta pengeluarannya ke sistem vena akan menimbulkan perubahan pada tekanan bola mata.

Cairan akuos merupakan cairan jernih yang mengandung asam askorbat dengan kadar tinggi serta rendah protein. Cairan tersebut secara kontinyu diproduksi oleh sel epitel *proc. siliaris* dari badan siliaris dengan kecepatan produksi sekitar 2-3 $\mu\text{L}/\text{menit}$ dengan mempertimbangkan variasi diurnal. Produksi cairan akuos akan menurun pada saat kondisi tidur. Bertambahnya umur juga dapat menurunkan produksi cairan akuos. Selain untuk mempertahankan

tekanan bola mata dan isi bola mata, cairan akuos berfungsi juga untuk mendistribusikan nutrisi ke daerah segmen depan bola mata yang avaskuler, yaitu pada kornea, lensa dan badan kaca (*corpus vitreus*).

Menurut *Vaughan* pada tahun 1995, tekanan osmotik cairan akuos sedikit lebih besar daripada tekanan dalam plasma, sementara itu komposisi beberapa bahan dalam cairan akuos dikatakannya sesuai dengan komposisinya dalam plasma, kecuali pada asam askorbat, asam piruvat dan asam laktat dengan konsentrasi lebih tinggi, serta konsentrasi lebih rendah ditemukan pada protein, urea dan glukosa (*Liesegang*, 2003).

2.2. Glaukoma

Definisi :

Glaukoma adalah suatu keadaan pada mata yang ditandai dengan adanya kenaikan tekanan bola mata (*Intra Ocular Pressure* = IOP atau Tekanan Intra-Okuler = TIO), disertai adanya penggaungan diskus optikus dengan defek atau gangguan penyempitan sampai hilangnya lapang pandangan (*Kolker*, 1983; *Vaughan*, 1995). *Goldberg* pada tahun 2003 menyatakan, bahwa glaukoma sudut terbuka primer, adalah suatu neuropati optik yang khronik progresif dengan karakteristik perubahan pada papila syaraf optik dan atau lapang pandangan tanpa disertai adanya penyebab sekunder.

Menurut *Liesegang* pada tahun 2003, glaukoma merupakan kumpulan gejala dengan tanda karakteristik berupa neuropati optik glaukomatosa bersama dengan gangguan sampai hilangnya lapang pandangan yang khas, disertai kenaikan tekanan bola mata yang merupakan salah satu faktor resiko utama. Nilai

normal tekanan bola mata dalam populasi berkisar antara 10–22 mmHg. Ada tiga faktor yang berperan dalam menentukan tekanan bola mata yaitu antara lain :

1. Kecepatan produksi cairan akuos oleh badan siliaris(*inflow*)
2. Hambatan pengeluaran(*outflow*) cairan akuos lewat *trabecular meshwork* dan kanal *Schlemm*
3. Tingginya tekanan vena episklera

Di antara ketiga faktor tersebut, yang paling banyak menyebabkan kenaikan tekanan bola mata adalah adanya hambatan *outflow* cairan akuos lewat *trabecular meshwork* dan kanal *Schlemm*.

Vaughan pada tahun 1995, menyatakan bahwa hampir sekitar 8.000 penduduk Amerika buta akibat glaukoma. Oleh karena itu glaukoma termasuk dalam penyakit utama penyebab kebutaan, yang sebenarnya masih diharapkan upaya pencegahannya.

Glaukoma sudut terbuka primer adalah bentuk glaukoma yang paling banyak ditemukan, dan merupakan penyebab kebutaan tanpa disadari atau tersembunyi, karena bersifat asimtomatis atau tanpa gejala yang berarti, serta berjalan progresif mengenai kedua mata, yang akhirnya menimbulkan hilangnya tajam penglihatan serta gangguan serta hilangnya lapang pandangan tanpa sepengetahuannya. Bentuk yang lain adalah glaukoma sudut tertutup yang mengenai sekitar 10%–15% kasus glaukoma. Presentasi glaukoma sudut tertutup primer yang mempunyai tanda dan gejala juga sangat khas ini, lebih tinggi di daerah Asia, terutama Asia Tenggara yaitu Burma dan Vietnam.

Terjadinya kenaikan tekanan bola mata seringkali ditemukan pada kedua bentuk glaukoma tersebut diatas, terutama terjadi akibat hambatan *outflow* pada glaukoma sudut terbuka. Sementara pada glaukoma sudut tertutup, terjadi penutupan sudut bilik mata depan akibat adanya perlekatan pada sudut tersebut, baik secara cepat maupun perlahan. Sebagian besar pengobatan ditujukan untuk menurunkan tekanan bola mata saat terjadi proses kejadian sakit, dan jika memungkinkan melakukan koreksi terhadap patogenesisnya.

Metoda untuk menurunkan tekanan bola mata, hampir dapat dilakukan pada semua bentuk glaukoma, misalnya dengan memberikan obat-obatan yang dapat menurunkan produksi cairan akuos, atau melalui tindakan pembedahan. Dapat juga dilakukan dengan cara meningkatkan *outflow* cairan akuos serta melakukan koreksi terhadap kemungkinan terjadinya perlekatan.

Menurunkan tekanan bola mata yang dilakukan melalui tindakan pembedahan, tampaknya perlu dilaksanakan sebagai alternatif terakhir yang harus dipertimbangkan, bilamana setelah usaha yang dilaksanakan dengan pemberian medikamentosa mengalami kegagalan.

Perhatian khusus sangat perlu dilakukan terhadap gangguan *outflow* cairan akuos yang melewati *trabecular meshwork* pada kasus glaukoma sudut terbuka primer, sedangkan pada glaukoma sudut tertutup yang baru terjadi dan masih bersifat reversibel, peningkatan *outflow* cairan akuos masih mungkin dapat dilakukan, walaupun sangat tergantung pada penyebab terjadinya penutupan sudutnya.

Bilamana sudut tertutupnya akibat hambatan pada pupil (*Pupillary Block*), usaha yang dapat dilakukan adalah dengan laser iridotomi, sementara itu pemberian golongan miotikum dapat bermanfaat bila terjadinya penutupan disebabkan terkumpulnya akar iris pada sudut bilik depan bola mata (*Angle Crowding*), dan pemberian golongan sikloplegikum akan bermanfaat bilamana penutupan terjadi akibat pergeseran lensa kearah depan yang menyebabkan perlekatan antara bagian depan lensa dengan bagian belakang iris yang disebut dengan *synchchia posterior*.

Bilamana semua usaha medikamentosa tersebut diatas ternyata tidak atau kurang mendapatkan hasil yang memuaskan, maka suatu tindakan pembedahan seperti *hy-paxs* untuk memperlancar aliran cairan akuos keluar dari bola mata diharapkan cukup bermanfaat pada kedua macam glaukoma tersebut. Sementara pada bentuk glaukoma sekunder, perhatian harus selalu diberikan untuk pemberian pengobatan yang ditujukan pada penyebab primernya.

Sebenarnya yang sangat penting dilakukan agar pengobatan yang diberikan menjadi lebih efektif, adalah melakukan deteksi secara lebih dini mengenai keadaan tekanan bola mata, pemeriksaan keadaan papil syaraf optik dan pemeriksaan gangguan lapang pandangan (*Quigley, 2002*)

2.2.1. Klasifikasi glaukoma :

Menurut *Vaughan* pada tahun 1995, klasifikasi glaukoma menurut etiologi adalah sebagai berikut :

A. Glaukoma Primer:

Glaukoma sudut terbuka disebut juga glaukoma simpleks, glaukoma simpleks

menahun. Bentuk glaukoma ini adalah bentuk yang paling sering ditemukan, dan presentasinya sekitar 85%-90% dari seluruh glaukoma

Glaukoma sudut tertutup disebut juga glaukoma sudut sempit, bentuk glaukoma ini dapat terjadi melalui beberapa stadium yaitu :

- (a) akut
- (b) subakut,
- (c) kronik/menahun
- (d) iris plato/plateau iris

B. Glaukoma Kongenital

1. Glaukoma kongenital primer,
2. Glaukoma yang berkaitan dengan anomali kongenital dan perkembangan:
 - a. Sindroma pembelahan bintik mata depan
 - ◆ sindroma *Axenfeld*
 - ◆ sindroma *Rieger*
 - ◆ anomali *Peter*
 - b. Aniridia
3. Glaukoma berkaitan dengan gangguan perkembangan ekstra okuler:
 - ◆ Sindroma *Sturge-Weber*
 - ◆ Sindroma *Murphy*
 - ◆ Neurofibromatosis
 - ◆ Sindroma *Lowe*
 - ◆ Rubela kongenital

C. Glaukoma Sekunder

1. Glaukoma berpigmen
2. Sindroma eksfoliatif
3. Karena kelainan lensa
 - dislokasi
 - intumesensi
 - kataraktik
4. Karena kelainan okuler
 - ❖ uveitis
 - ❖ *synchhia posterior*
 - ❖ tumor
5. Sindroma indokumen endotelial
6. Trauma
 - ✓ *Hiphema* dan perdarahan bilik mata belakang yang masif
 - ✓ Pergeseran akar iris / tekungan sudut
7. Pasca Operasi .
 - *Ciliary block glaucoma* / glaukoma akibat hambatan siliaris
 - Sinekhia Anterior Perifer
 - Pertumbuhan epitel ke dalam bilik mata depan
 - Pasca operasi Keratoplasti
 - Pasca operasi ablasi retina
8. Glaukoma neovaskuler, oleh karena
 - ❖ Diabetes melitus
 - ❖ Pembuntuan/sumbatan pembuluh darah vena retina yang sentral

9. Kenaikan tekanan vena epi sklera .

- ✓ Fistula kavernosa karotikus
- ✓ Sindroma *Sturge-Weber*

10. Akibat pemakaian kortikosteroid

D. Glaukoma Absolut

Akhir dari semua glaukoma yang tidak terkontrol akan terjadi glaukoma absolut, dengan tanda mata teraba keras, tajam penglihatan nol, dan seringkali disertai dengan nyeri mata hebat. Keadaan ini dapat terjadi pada bentuk Glaukoma sudut terbuka maupun glaukoma sudut tertutup

2.2.2. Glaukoma sudut terbuka primer

Glaukoma sudut terbuka primer merupakan salah satu bentuk glaukoma yang penyebabnya belum diketahui, dengan sudut bilik mata depan yang terbuka; serta merupakan bentuk glaukoma yang paling sering ditemukan. Frekuensi glaukoma bentuk ini menurut *Vaughan* (1995) berkisar antara 0.4%–0.7% jumlah penduduk di atas 40 tahun, sedangkan pada umur di atas 70 tahun frekuensinya meningkat menjadi 2%–3%. Pada ras kulit berwarna frekuensinya 3–4 kali lebih besar. Ada kecenderungan faktor genetik yang berpengaruh pada glaukoma sudut terbuka primer. Gambaran patologis pada glaukoma sudut terbuka primer (*Vaughan*, 1995) adalah adanya proses degenerasi pada sel *trabecular meshwork*, termasuk deposisi matriks ekstra seluler, serta degenerasi di bawah endotel dinding kanal *Schlemm* (berbeda dengan “degenerasi” yang terjadi pada proses penuaan yang normal), dengan konsekuensi adanya hambatan aliran keluar (*outflow*) cairan akueus dan berakibat akan meningkatkan tekanan bola mata

Kenaikan tekanan bola mata ini mendahului terjadinya perubahan pada diskus optikus dan lapang pandangan dalam beberapa tahun. Hubungan ini jelas tampak antara kerusakan papil diskus optikus dengan tingginya tekanan bola mata, walau proses ini terjadi sangat individual. Beberapa penderita lebih toleran terhadap adanya kenaikan tekanan bola mata, yaitu ditemukan kenaikan tekanan bola mata tanpa atau belum disertai kerusakan papil atau diskus optikus dan lapang pandangan. Kondisi yang demikian ini disebut dengan hipertensi okuler. Tetapi pada sebagian penderita dengan kondisi tekanan bola mata yang normal namun sudah terjadi kerusakan pada diskus optikus dan lapang pandangan yang khas glaukoma. Kondisi terakhir ini disebut dengan *normal tension glaucoma* atau *low pressure glaucoma*.

Mekanisme terjadinya kerusakan neuron pada glaukoma sudut terbuka primer dan hubungannya dengan kenaikan tekanan bola mata sampai saat ini masih banyak diperdebatkan, walaupun teori yang paling banyak dianut terhadap perubahan diskus optikus ini adalah merupakan akibat tekanan mekanis secara langsung dari kenaikan tekanan bola mata, serta adanya *supply* aliran darah yang berkurang menuju diskus optikus. Sementara itu, *Quigley (1998)*, menyebutkan bahwa selain adanya pengaruh langsung akibat tekanan mekanis pada diskus optikus disebutkan juga adanya pengaruh *penurunan gizi* serta pengaruh *gangguan molekul* di dalam neuron syaraf optik.

Tekanan bola mata yang lebih tinggi akan menimbulkan gangguan lapang pandangan yang lebih luas. Hal tersebut juga dinyatakan oleh *Vaughan*, bahwa bila pada pemeriksaan pertama ditemukan tanda berkurangnya lapang pandangan

akibat glaukoma, maka resiko bertambahnya gangguan lapang pandangan semakin besar. Oleh karena itu bila ditemukan perubahan diskus optikus yang jelas, dan gangguan lapang pandangan pada glaukoma sudut terbuka primer, dianjurkan untuk segera menurunkan tekanan bola matanya se-optimal mungkin.

2.2.3. Epidemiologi glaukoma sudut terbuka primer

Seperti telah diuraikan sebelumnya, menurut *Liesegang (2003)*, bahwa glaukoma merupakan sekumpulan gejala dengan tanda-tanda yang karakteristik, yaitu adanya neuropati optik glaukomatosa bersamaan dengan gangguan lapang pandangan yang khas disertai kenaikan tekanan bola mata yang merupakan salah satu faktor resiko utama. Nilai normal tekanan bola mata dalam populasi sekitar 10-22 mmHg dengan nilai rerata sekitar 16 mmHg dan *standard deviation* 3 mmHg.

Tiga faktor utama yang berpengaruh terhadap kenaikan tekanan bola mata, antara lain:

- Kecepatan produksi cairan akuos oleh badan siliaris (*inflow*)
- Hambatan pengeluaran (*outflow*) cairan akuos melalui *trabecular meshwork* dan kanal *Schlemm*
- Tingginya tekanan pada vena episkleral dan skleral

Di antara ketiga faktor tersebut, hambatan *outflow* melalui *trabecular meshwork* dan kanal *Schlemm* merupakan faktor penyebab terbanyak yang menimbulkan kenaikan tekanan bola mata.

Witensky pada tahun 1994, menyatakan bahwa diperkirakan sekitar 2 juta penduduk Amerika mengalami glaukoma, dimana sebagian besar berbentuk glaukoma sudut terbuka primer.

Di samping itu dikatakan pula bahwa separuh dari mereka tidak menyadari adanya glaukoma yang terjadi pada dirinya. Seringkali mereka baru menyadari setelah merasakan adanya gangguan yang jelas pada tajam penglihatan atau penyempitan lapang pandangan. Oleh karena itu *Witensky* menegaskan bahwa identifikasi dan pencegahan seorang penderita yang akan menjadi glaukoma adalah suatu tindakan yang sangat penting untuk mendapatkan hasil yang memuaskan dan meminimalkan kerusakan yang mungkin akan terjadi, sehingga beberapa faktor berikut ini, perlu dipertimbangkan sebagai faktor resiko glaukoma sudut terbuka primer, yaitu:

1. Tekanan bola mata yang meningkat

Sejumlah faktor yang dapat berhubungan dengan timbulnya glaukoma sudut terbuka primer adalah tekanan bola mata. Hal ini disebabkan karena tekanan bola mata merupakan salah satu faktor yang paling mudah dan paling penting untuk meramalkan timbulnya glaukoma dimasa mendatang (*Vaughan, 1995*).

Secara umum dinyatakan bahwa tekanan bola mata yang lebih tinggi akan lebih memungkinkan terhadap peningkatan progresifitas kerusakan diskus optikus, walaupun hubungan antara tingginya tekanan bola mata dan besarnya kerusakan sampai saat ini masih diperdebatkan. Beberapa kasus menunjukkan, bahwa adanya tekanan bola mata yang berada di atas normal akan diikuti dengan kerusakan diskus optikus dan gangguan lapang pandangan dalam beberapa tahun.

Sebaliknya, terjadi juga pada banyak kasus, bahwa selama pemeriksaan tekanan bola mata tidak pernah di atas normal, namun terjadi kerusakan pada papil dan lapang pandangan yang khas glaukoma.

Oleh karena itu, definisi tekanan bola mata yang normal sangat sukar untuk ditentukan dengan pasti. Jika dalam suatu populasi dinyatakan rerata tekanan bola mata 16 mmHg dengan *standard deviation* 3 mmHg, maka nilai tekanan bola mata yang normal berada di antara 10–22 mmHg. Jika dilakukan pemeriksaan tekanan bola mata pada populasi umur di atas 40 tahun, maka diperkirakan tekanan bola mata yang di atas 22 mmHg adalah 5%–10% (Boyd, 2002).

Masalah lain yang harus dipertimbangkan mengenai tekanan bola mata, adalah adanya pengaruh variasi diurnal dari tekanan bola mata itu sendiri, yaitu bahwa tekanan bola mata sangat fluktuatif, tergantung pada waktu saat pemeriksaan, yaitu pagi, siang, sore atau malam hari (Liesegang, 2003).

Di samping itu, terdapat pula pengaruh makanan dan konsumsi cairan. Disebutkan bahwa, variasi diurnal pada orang normal berkisar antara 3.5–5 mmHg. Keadaan ini menjadi lebih nyata pada glaukoma sudut terbuka primer yang tidak diobati.

Beberapa peneliti menyatakan bahwa, variasi diurnal yang lebih besar dari normal dapat digunakan sebagai pembeda untuk menentukan bentuk glaukoma-nya. Variasi tekanan bola mata yang luas ini sangat mempengaruhi kondisi untuk mendiagnosis secara dini dengan tepat, hal ini ditunjukkan dalam suatu survei populasi yang menyebutkan bahwa 50 % penderita terdiagnosis glaukoma sudut terbuka primer tidak menunjukkan adanya kenaikan tekanan bola mata pada saat

pemeriksaan pendahuluan, di samping itu juga ditemukan adanya kenaikan tekanan bola mata tanpa gangguan diskus optikus dan lapang pandangan (hipertensi okuler). Secara umum dinyatakan bahwa hanya sekitar 0.5%-2 % per tahun terjadi kerusakan papil dan lapang pandangan selama pengamatan.

2. Pelebaran Gaung Diskus Optikus (*Large optic disk cups*)

Faktor yang berhubungan dengan kerusakan yang khas glaukoma adalah melebarnya penggaungan pada diskus optikus. Oleh karena itu, pelebaran penggaungan diskus optikus merupakan salah satu tanda adanya kerusakan khas glaukoma. Jika pada penderita ditemukan adanya penggaungan diskus optikus, maka untuk sementara harus diduga bahwa, penderita mempunyai tanda-tanda permulaan dari penyakit glaukoma. Kondisi penggaungan diskus optikus ini secara normal juga sangat individual. Oleh karena, pada individu yang mengalami pelebaran gaung diskus optikus tidak harus dinyatakan telah menderita glaukoma, melainkan masih tergantung dari ada / tidaknya kerusakan pada jaringan neuroretinal rim. Hal ini dapat terjadi akibat adanya penggaungan yang bersifat fisiologis. Sementara dapat dimengerti bahwa *cupping* atau gaung yang lebih lebar merupakan faktor yang lebih besar untuk terjadinya kerusakan khas glaukoma daripada *cupping* yang lebih kecil dengan adanya kenaikan tekanan bola mata .

3. Ras

Witensky yang didukung oleh beberapa penelitian menyatakan, bahwa faktor ras dan atau kulit berwarna mempunyai prevalensi glaukoma sudut terbuka primer

yang lebih tinggi daripada orang kulit putih dan penderita yang berasal dari daerah oriental. Di Amerika Serikat perbandingan prevalensinya sekitar 2:1 untuk ras kulit berwarna. Sementara pada populasi lain tampaknya perbandingan tersebut lebih besar lagi. Hasil survei yang dilakukan di Kepulauan Karibia pada populasi umur di atas 40 tahun, dinyatakan bahwa prevalensi pada kulit berwarna sekitar 14%, sedang pada kulit putih hanya sekitar 2%.

Diperkirakan juga bahwa beratnya kasus glaukoma pada kulit berwarna lebih berbahaya daripada kulit putih. Sementara kasus yang menjadi buta pada orang kulit berwarna insidensinya 8 kali lebih banyak daripada kulit putih. Di samping itu ditinjau dari hasil pengobatan maupun tindakan pembedahan, hasilnya lebih baik pada kulit putih daripada kulit berwarna.

4. Faktor Umur

Faktor bertambahnya umur mempunyai peluang lebih besar untuk menderita glaukoma sudut terbuka primer. *Vaughan* pada tahun 1995, menyatakan bahwa frekuensi pada umur sekitar 40 tahun adalah 0.4%–0.7% jumlah penduduk, sedangkan pada umur sekitar 70 tahun frekuensinya meningkat menjadi 2%–3% dari jumlah penduduk.

Framingham Study dalam laporannya tahun 1994 menyatakan bahwa populasi glaukoma adalah sekitar 0.7% penduduk yang berumur 52–64 tahun, dan meningkat menjadi 1.6% penduduk yang berumur 65–74 tahun, serta 4.2% penduduk yang berusia 75–85 tahun. Keadaan tersebut didukung juga oleh pernyataan yang dikeluarkan oleh *Ferrdale Glaucoma Study* di tahun yang sama.

5. Faktor Keluarga

Glaukoma sudut terbuka primer merupakan suatu penyakit yang dipengaruhi faktor keluarga. Hal ini dapat ditunjukkan oleh beberapa survei yang dilakukan, namun hasil survei tersebut tidak lengkap karena tidak mengikut-serikan anak-anak dan orang yang belum mencapai umur 40 tahun yang kemungkinan dicurigai menderita glaukoma. Walaupun demikian hasil survei tersebut cukup bermanfaat karena dapat menunjukkan adanya indikasi bahwa 1 dari 10 orang pada garis keturunan pertama atau *first degree* menderita glaukoma seperti yang didenta orangtua mereka.

6. Penyakit Sistemik

Insiden dari glaukoma sudut terbuka primer seringkali dihubungkan dengan dua penyakit sistemik, yaitu Diabetes Mellitus dan Hipertensi arterial. Sehubungan dengan hal tersebut dilaporkan bahwa glaukoma sudut terbuka primer prevalensinya akan meningkat 3 kali lebih tinggi pada Diabetes Mellitus daripada non Diabetes Mellitus. Berdasarkan penelitian studi kasus-control, ditemukan perbedaan resiko-relatif antara penderita hipertensi yang diobati dengan tanpa pengobatan hipertensi

Problem yang sampai saat ini banyak menjadi bahan diskusi para pakar tentang glaukoma adalah patogenesis terjadinya glaukoma sudut terbuka primer yang masih belum diketahui secara jelas. Beberapa kemajuan sudah mulai tampak, yaitu mulai muncul kesepakatan diantara mereka, bahwa berkurangnya atau hilangnya sel endotel *trabecular meshwork* merupakan penyebab utama terjadinya hambatan *outflow* cairan akuos yang berakibat dengan kenaikan tekanan

bola mata. Tetapi semua peneliti tidak atau belum dapat menjelaskan tentang bagaimana mekanisme terjadinya pengurangan atau hilangnya sel *trabecular meshwork* tersebut sampai saat ini. Untuk memberikan penanganan yang tepat kepada penderita hipertensi okuler dan glaukoma, diperlukan usaha yang maksimal untuk mengungkap mekanisme terjadinya pengurangan sel endotel *trabecular meshwork* melalui upaya penelitian, melalui berbagai pendekatan.

2.2.4. Patologi glaukoma sudut terbuka primer

Lutjen-Drecoll pada tahun 1994, dalam penelitiannya yang dilakukan terhadap bahan trabekulektomi dari penderita glaukoma sudut terbuka primer ditemukan adanya bahan ekstra seluler yang sangat dominan yang berada disekitar lapisan berpori-pori pada *trabecular meshwork*, yang berasal dari sabut jaringan yang menyenupai jaringan ikat elastis yang semakin menebal dan akhirnya akan menutup pori-pori *trabecular meshwork*, dimana akan semakin menebal dengan bertambahnya umur. Keadaan ini berbeda sangat signifikan dengan orang normal pada umur yang sama. Hal ini diduga akibat pengaruh *iatrogenik*. Disebutkan juga bahwa penebalan tersebut juga ditemukan pada dinding luar kanal *Schlemm*. Keadaan ini mengindikasikan bahwa penebalan tersebut terjadi hampir pada seluruh segmen anterior mata, yang akan mengganggu *outflow* cairan akuos melalui kanal *Schlemm* karena obstruksi pada *trabecular meshwork*.

Disamping hal tersebut diatas, pada penderita glaukoma sudut terbuka primer, berkurangnya atau hilangnya sel endotel *trabecular meshwork* lebih banyak ditemukan dibandingkan pada orang normal dengan umur yang sama. Hal ini dapat diasumsikan bahwa penderita glaukoma sudut terbuka primer

mempunyai sel endotel *trabecular meshwork* yang lebih sedikit. Salah satu kemungkinan yang menyebabkan keadaan tersebut adalah pengaruh faktor genetik. Hilangnya sel endotel *trabecular meshwork* seringkali disertai dengan penebalan lamela-lamela daerah uveal dan korneo-skleral yang akan berakibat peningkatan penebalan membrana basalis.

Penebalan di sekitar lapisan berpori-pori dan membran basalis pada *trabecular meshwork* tersebut memegang peran penting terhadap isi ruang antar sel endotel trabekulum yang semakin menyempit dan pada akhirnya akan melekat dan menutup jalan aliran cairan akuos keluar lewat sejumlah pori *trabecular meshwork*.

2.2.5. Gonioskopi Pada Glaukoma

Pembagian dan klasifikasi glaukoma sesuai etiologinya menurut *Vaughan* (1995) dan *Goldberg* (2003), disebutkan salah satunya adalah bentuk glaukoma primer, yaitu bentuk glaukoma yang penyebabnya tidak diketahui. Menurut besarnya sudut bilik mata depan, glaukoma primer tersebut dapat bersudut terbuka ataupun tertutup. Oleh itu, maka pemeriksaan sudut bilik mata depan merupakan syarat yang harus dikerjakan untuk mengakkan diagnosis glaukoma menurut besarnya sudut bilik mata depan, maka diperlukan teknik pemeriksaan sudut bilik mata depan yang dikenal dengan Gonioskopi.

Melalui pemeriksaan Gonioskopi dapat ditentukan serta dibedakan besarnya sudut bilik mata depan yang terbuka lebar, terbuka, terbuka sempit atau sempit sekali dan bahkan tertutup. Untuk maksud tersebut di atas, metoda pemeriksaan

gonioskopi memegang peranan yang amat penting dalam menegakkan diagnosis glaukoma, termasuk dalam kriteria terbuka atau tertutup.

Perihal besarnya sudut bilik mata depan, Samadikoen (1987) dalam penelitian retrospektifnya di RSUD Dr Soetomo tahun 1986 menyatakan bahwa dari 123 mata yang terkena glaukoma simpleks tidak ditemukan satu matapun yang bersudut bilik mata depan yang terbuka lebar atau *grade IV*, sedangkan derajat III sebesar 13%, derajat II sebesar 17.88% dan derajat I sekitar 17.07%, serta yang paling banyak ditemukan adalah derajat yang mendekati tertutup yaitu sebesar 52.05%. Kadi dalam laporannya juga tidak menemukan derajat IV pada penderita Glaukoma simpleks pada tahun 1977 (Samadikoen, 1987).

Teknik pemeriksaan gonioskopi dapat dibedakan menjadi 2, jika ditinjau dari arah pantulan sinar yang keluar dari sudut bilik mata depan, yaitu gonioskopi langsung dan tidak langsung (Liesegang, 2003). Lensa yang digunakan pada gonioskopi langsung dapat menggunakan lensa *Kaeppe*, sedang gonioskopi yang tidak langsung dapat menggunakan lensa *Caldman*, *Zeiss*, dan *Allen Thorpe*.

Secara garis besar klasifikasi besarnya sudut bilik mata depan pada pemeriksaan gonioskopi dapat menggunakan beberapa kriteria. Salah satu kriteria yang banyak dianut adalah menurut Shaffer, yaitu berdasarkan besarnya sudut yang dibentuk oleh *trabecular meshwork* dan iris, yaitu antara $< 10^\circ$ sampai dengan 45° . Gradasinya adalah sebagai berikut (Liesegang, 2003):

1. *Grade IV* : jika sudut antara iris dan *trabecular meshwork* sebesar 45°
2. *Grade III* : jika sudut antara iris dan *trabecular meshwork* antara $20^\circ - 45^\circ$
3. *Grade II* : jika sudut antara iris dan *trabecular meshwork* adalah 20° :
possible menutup

4. *Grade 1* : jika sudut antara iris dan *trabecular meshwork* adalah 10° : *probable* menutup
5. *Nlt* : jika sudut antara iris dan *trabecular meshwork* kurang dari 10° : seringkali menutup
6. *Grade 0* : jika sudut antara iris dan *trabecular meshwork* menempel, sudutnya tertutup

2.2.6. Glaukoma dengan tekanan bola mata normal (*NORMAL TENSION GLAUCOMA*)

Merupakan salah satu bentuk dari glaukoma sudut terbuka primer dengan tanda adanya kerusakan atau penggaungan diskus optikus dan penyempitan lapang pandangan khas glaukoma disertai dengan tekanan bola mata dalam batas normal *Goldberg* (2003) menyatakan adanya tanda karakteristik neuropati optik glaukomatosa dengan tekanan bola mata normal secara statistik. *Vaughan* (1995) menyebutkan bahwa tekanan bola matanya hampir selalu berada di bawah 22 mmHg. Beberapa penulis menyatakan bentuk ini sebagai *low tension glaucoma* atau *low pressure glaucoma*. Diagnosis glaukoma bentuk diatas dapat ditegakkan setelah hal-hal berikut ini telah dieliminasi, yaitu:

1. Bahwa sebelumnya tidak pernah terjadi kenaikan tekanan bola mata akibat irido siklitis, trauma dan pengaruh pengobatan dengan steroid.
2. Tidak adanya variasi diurnal yang besar dari kenaikan tekanan bola mata yang bermakna terutama saat pagi hari
3. Perubahan tekanan bola mata yang disesuaikan dengan posisi tubuh pada saat melakukan pemeriksanaan tekanan bola mata .

4. Kenaikan tekanan yang intermitten dari tekanan bola mata seperti pada tahap permulaan glaukoma sudut tertutup subakut.
5. Tidak ada penyebab lain yang dapat menimbulkan kerusakan diskus optikus dan lapang pandangan termasuk kelainan kongenital dan atrofi syaraf optik akibat tumor dan atau penyakit vaskuler

2.2.7. Hipertensi okuler (*OCULAR HYPERTENSION*)

Merupakan salah satu bentuk dari glaukoma sudut terbuka primer yang ditandai dengan kenaikan tekanan bola mata tetapi belum atau tidak disertai kerusakan pada diskus optikus dan lapang pandangan. Frekuensi hipertensi okuler ini diperkirakan paling banyak ditemukan dari seluruh bentuk glaukoma sudut terbuka primer, dan ditambahkan pula oleh *Goldberg pada tahun (2003)* yang mendefinisikannya dengan adanya tekanan bola mata lebih tinggi dari 2 *standard deviasi* di atas nilai *mean* dalam populasi dengan sudut terbuka tanpa adanya neuropati optik glaukomatosa dan atau gangguan lapang pandangan, dengan ketebalan kornea bagian tengah normal. *Vaughan (1995)* memperkirakan bentuk ini akan berubah menjadi glaukoma sudut terbuka primer sekitar 5-10 per seribu orang per tahun. Risikonya akan meningkat dengan meningkatnya tekanan bola mata, bertambahnya umur, di samping juga adanya keluarga yang menderita glaukoma, miopia, diabetes mellitus, penyakit kardio vaskuler serta terutama pada penderita kulit berwarna.

Bilamana ditemukan adanya perdarahan di sekitar diskus optikus pada penderita dengan hipertensi okuler, kondisi tersebut dapat dianggap sebagai

indikasi kemungkinan adanya resiko terjadinya glaukoma sudut terbuka primer di masa datang.

Seorang penderita hipertensi okuler, untuk sementara dapat dianggap atau dicurigai sebagai glaukoma sudut terbuka primer. Oleh karena itu diperlukan monitoring yang ketat terhadap keadaan diskus optikus, tekanan bola mata, dan pemeriksaan keadaan lapang pandangan

2.2.8. Kecurigaan glaukoma (*GLAUCOMA SUSPECT*)

Menurut *Luwegang* (2003), *glaucoma suspect* adalah salah satu bentuk dari glaukoma sudut terbuka primer dengan keadaan tekanan bola mata yang bervariasi, dari yang rendah, normal, atau meningkat, tetapi belum ditemukan adanya tanda-tanda kerusakan yang jelas pada diskus optikus dan gangguan lapang pandangan (*Goldberg*, 2003). Keadaan ini akan berubah menjadi glaukoma, jika pada salah satu mata terdapat beberapa hal atau kelainan sebagai berikut :

1. - Pada pemeriksaan ulang terjadi penambahan C/D ratio
 - C/D ratio yang asimetris antara kedua mata
 - Pendangkalan tepi papil syaraf optik
 - Perdarahan sekitar diskus optikus
 - Gangguan yang bersifat menyeluruh atau lokal dari lapisan sabut syaraf dengan pemeriksaan perimetri
2. Kecurigaan adanya abnormalitas lapang pandangan
3. Kenaikan tekanan bola mata yang menetap sebesar lebih dari 22 mmHg.

Bilamana ditemukan tambahan minimal dua dari tanda-tanda di atas, maka akan mendukung diagnosis adanya glaukoma sudut terbuka primer, terutama jika ditemukan juga faktor resiko lainnya, misalnya umur di atas 40 tahun atau adanya keluarga yang menderita glaukoma.

Sehingga untuk membedakan kecurigaan glaukoma dengan permulaan glaukoma sudut terbuka primer diperlukan pemeriksaan secara hati-hati dan bekerja secermat mungkin serta melakukan monitoring yang ketat, agar dapat diketahui permulaan terjadinya kerusakan papil diskus optikus dan gangguan lapang pandangan yang khas glaukoma, dan bilamana ditemukan tanda-tanda seperti tersebut di atas, maka diagnosis permulaan glaukoma dapat ditegakkan dan segera melakukan pengobatan dengan cepat dan tepat.

2.3. Respons Imun

Infeksi merupakan suatu proses masuknya kuman atau mikroba, parasit ke dalam tubuh seseorang, sehingga dapat menimbulkan perubahan-perubahan pada daerah setempat ataupun secara sistemik. Karena mikroba dan parasit atau kuman lainnya tersebut merupakan suatu benda asing bagi tubuh, maka masuknya benda asing dan reaksi tubuh terhadap masuknya benda asing tersebut, dinamakan **respons imun**, tidak dapat dipisahkan satu sama lain. Setiap orang dapat dihindangi berbagai jenis mikroba atau benda asing di sekitarnya, tetapi setiap saat pula tubuh berupaya untuk mempertahankan diri. Hasil akhir dari konfrontasi antara benda asing dengan individu ini sangat tergantung pada hasil interaksi antar keduanya. Reaksi tubuh terhadap infeksi atau masuknya benda asing, sangat berbeda, tergantung pada jumlah dan fungsi limfosit *T-helper (Th)*, *T supresor*

(*T_H*) dan *T_H* (*Cytotoxic/T_C*) yang teraktivasi, jumlah dan fungsi sel B yang memproduksi antibodi, serta tergantung pada jumlah sel memori.

Berbeda dengan respons imun terhadap antigen sederhana, maka respons imun terhadap antigen yang lebih kompleks, pola reaksi imunologiknya juga sangat berbeda tergantung pada jenis dan sifat kuman yang menyecrangnya. Di lain pihak, berbagai jenis mikroba atau kuman mempunyai beberapa macam cara untuk menghindari reaksi imun. Pada dasarnya antigenitas kuman itu kompleks sekali. Suatu virus yang sederhana sekalipun dapat mengekspresikan berbagai jenis antigen, sedang parasit eukariotik-pun dapat mempunyai beberapa ratus *epitop* yang berbeda. Di samping itu, berbagai jenis kuman dapat melepaskan zat yang antikemoraktik, membentuk kapsul antifagositik, resistensi terhadap sistem pembunuhan yang terdapat pada fagosit, serta melepaskan beberapa enzim dan mengelabui sistem imun dengan membentuk analog sitokin. Oleh karena itulah dapat dimengerti, bahwa respons imun terhadap infeksi merupakan proses yang sangat kompleks.

Beberapa jenis kuman akan dieliminasi oleh sistem imun, segera setelah benda asing tersebut masuk ke dalam tubuh. Suatu perlawanan yang sengit akan terjadi dalam waktu yang singkat, dilakukan oleh sistem imun, yang akan dapat berakhir dengan kemenangan di pihak sistem imun, atau kemenangan di pihak benda asing atau kuman patogen.

Ada kalanya kuman patogen berlindung pada sel pejamu, sehingga tidak terjangkau oleh mekanisme respons imun, dan dapat hidup di dalam sel, walaupun

mekanisme respons imun tetap aktif. Keadaan ini merupakan ciri khas infeksi dengan mikro organisme yang intra seluler

Pada sebagian besar infeksi, ada keseimbangan antara kemampuan sistem pertahanan tubuh untuk melawan infeksi, dengan kemampuan kuman untuk menghindari dari sistem pertahanan tubuh.

Tahap awal mekanisme daya tahan tubuh dalam mengenali benda asing atau kuman, adalah tahap pengenalan. Dalam tahap ini tubuh mengenal benda asing atau kuman yang masuk ke dalam tubuhnya. Ada 2 (dua) sistem pertahanan tubuh yang berperan dalam hal ini, yaitu :

1. Sistem pertahanan tubuh alamiah (*Innate immune system*) :

Adalah sistem pertahanan tubuh yang dibawa sejak lahir dan mempunyai kemampuan untuk segera mengenal benda asing atau kuman tertentu dan menghancurkannya. Dalam sistem pertahanan tubuh ini komplemen memegang peranan penting.

2. Sistem pertahanan tubuh didapat (*Adaptive immune system*) :

Pada sistem pertahanan tubuh didapat, antibodi memegang peran utama. Dalam hal ini, reseptor yang dipakai untuk mengenal benda asing atau kuman tersebut dibentuk dengan cara menyatukan atau menempelkan ke beberapa segmen gen, sehingga terbentuk suatu reseptor yang unik untuk benda asing atau kuman tertentu.

Kedua sistem pertahanan tubuh tersebut hanya akan dapat berhasil terhadap patogen yang terdapat dalam cairan tubuh. Sebagian besar kuman atau benda asing yang masuk ke dalam tubuh justru dapat menyelipkan ke dalam sel tubuh.

sebelum tubuh sempat membentuk antibodi. Antibodi tidak dapat melewati membran lipid dari sel, sehingga tidak dapat mencapai kuman atau benda asing yang intra seluler.

Dalam menghadapi infeksi benda asing atau kuman yang intra seluler, sistem imun akan membentuk mekanisme khusus untuk menemukan adanya infeksi benda asing atau kuman di dalam sel yang akan berlangsung dalam 2 tahap. Berdasarkan pada landasan tersebut, maka akan diutarakan sistem pertahanan tubuh alamiah dan sistem pertahanan tubuh yang didapat, serta mencakup mekanisme daya tahan tubuh terhadap kuman ekstra seluler dan intra seluler.

2.3.1. Sistem pertahanan tubuh alamiah (*Innate Immune System*)

Masuknya kuman ke dalam tubuh seseorang, akan membangkitkan upaya pengerahan sel neutrofil sebagai usaha pertama sistem pertahanan tubuh, untuk kegiatan fagositosis terhadap kuman namun usaha tersebut belum tentu berhasil. Pada keadaan kuman yang patogen dan virulen, sel neutrofil yang berukuran pendek ini akan hancur, dan kuman akan segera meninggalkannya.

Dalam mekanisme daya tahan tubuh alamiah, komponen yang memegang peran penting adalah komplemen, yang merupakan salah satu kelas dari protein darah. Dalam menghadapi invasi suatu kuman, komplemen dapat melaksanakan aktivitasnya melalui 3 jalan, yaitu (Handojo, 2003):

- a. Komplemen dapat langsung menyerang kuman melalui komplemen C₃ yang dapat terikat pada semua protein, baik yang ada pada sel kuman (menimbulkan lisis sel kuman) maupun pada sel tubuh manusia. Tetapi sel

tubuh manusia dilindungi oleh protein yang dapat menginaktivkan komplemen.

- b. Komplemen diaktifkan oleh *mannose-binding protein*. Tidak semua patogen dapat langsung diserang oleh komplemen, karena beberapa patogen dilindungi oleh kapsul atau mantel yang terdiri dari rantai polisakarida yang panjang (*S. pneumoniae*), sehingga tidak dapat diserang secara langsung oleh komplemen. Dalam menghadapi patogen semacam ini, sistem alamiah dapat memakai 2 jalan, yaitu :
 1. polisakarida dari kuman tersebut akan diikat oleh sel reseptor makrofag, untuk selanjutnya dicerna oleh sel makrofag.
 2. sel makrofag yang bertemu dengan kuman tersebut, dapat memproduksi IL-6 yang merangsang hepar untuk memproduksi protein yang dapat mengikat *mannose* yang menonjol keluar dari permukaan tubuh kuman melalui kapsulnya. Setelah terikat pada *mannose*, protein tersebut berubah bentuk sedemikian rupa, sehingga dapat mengaktifkan kaskade komplemen dan menyebabkan fagositosis
- c. Aktivasi komplemen melalui antibodi. Antibodi yang terbentuk sebagai akibat dari suatu infeksi, dapat mengikat kuman penyebab infeksi tersebut. Ikatan ini akan mengaktifkan C_{1q} , yang selanjutnya dapat mengaktifkan molekul komplemen yang lain, dan melisis kuman atau menimbulkan fagositosis.

Tanggapan pertama oleh tubuh terhadap konfigurasi asing, pada umumnya berbentuk sebagai respons imun alamiah, dengan melalui mekanisme yang bersifat stereospik. Mekanisme tersebut terdiri atas mobilisasi unsur-unsur

fagositik ke dalam daerah tempat beradanya konfigurasi asing tersebut, atau merupakan bagian dari reaksi radang. Menyusul adanya berbagai jenis kerusakan jaringan, terjadilah peristiwa seluler yang bersifat sistemik, sebagai usaha yang untuk menyelenggarakan proses penyembuhan dan mempertahankan keadaan seimbang di bawah pengaruh lingkungan. Bersama-sama dengan terjadinya radang tersebut, terdapat sejumlah peristiwa sistemik, seperti panas dan perubahan gambaran susunan komponen sel darah.

Sel fagositik begitu berkumpul, langsung mengadakan penyerapan ke sasarannya dengan cara fagositosis. Sebelum fagositosis, terdapat beberapa tahap kejadian yang mendahului, yaitu pengenalan materi yang hendak dimangsa, gerakan menuju sasaran (kemotaksis), perlekatan kepada benda sasaran dan barulah terjadi penelanan oleh sel. Di dalam sel terjadi pencernaan materi oleh berbagai enzim.

Di samping proses fagositosis yang merupakan mekanisme seluler, dalam respons imun alamiah tersebut dilibatkan beberapa unsur humoral seperti beberapa enzim dalam cairan tubuh, komplemen, interferon yang bersifat tidak spesifik.

2.3.2. Sistem pertahanan tubuh didapat (*Adaptive Immune System*)

Jika sistem pertahanan tubuh alamiah tidak dapat mengatasi infeksi suatu patogen, maka tubuh akan mengerahkan sistem daya tahan tubuh yang didapat. Respon imun yang terbentuk akan melalui beberapa tahapan sebagai berikut (Handoyo, 2003):

- a. Pemberian isyarat/sinyal bahwa tubuh telah terinfeksi oleh suatu patogen yang dilanjutkan dengan pemrosesan dan pemaparan antigen tersebut ke permukaan APC (*Antigen Processing Cell*), sedangkan Clancy (1998) dan Judajana (2004) menjabarkan APC sebagai : *Antigen Processing and Presenting Cell*
- b. Pengenalan antigen pada permukaan APC oleh beberapa sel yang dibuat khusus untuk keperluan tersebut (sel limfosit T_H dan T_H).
- c. Aktivasi dari beberapa sel khusus tersebut (T_H dan T_H) sehingga memproduksi sitokin untuk menghancurkan patogen secara langsung atau melalui fagositosis dan komplemen.

Berbeda dengan respons imun alamiah yang kurang spesifik, respons imun adaptif bersifat lebih spesifik, yang dimulai dengan proses pengenalan konfigurasi benda asing yang dijumpai, yang diakhiri dengan pelenyapannya, melalui berbagai cara yang sangat rumit. Namun tentu saja hasil akhir dalam proses eliminasi oleh inang terhadap konfigurasi asing ini tergantung pada berbagai faktor yang mempengaruhi imunogenitas (Subowo, 1993). Misalnya tergantung pada substansi asing atau kuman tersebut, yaitu ukuran, struktur, sifat kimia dan jumlahnya, serta tergantung juga pada inang itu sendiri, seperti umur, konstitusi genetik serta sistem imun.

Sebaliknya adanya respons imun, dapat pula inang tidak menunjukkan respons terhadap konfigurasi asing, karena yang dihadapinya dikenalnya sebagai bukan benda asing. Keadaan ini dinamakan **toleransi imunologik**.

2.3.2.1. Mekanisme daya tahan tubuh terhadap masuknya kuman ekstra seluler

Beberapa patogen yang menginfeksi tubuh seseorang seperti *S. pneumoniae*, hidup di luar sel, dalam cairan tubuh dekat pembuluh darah. Dalam menghadapi kuman semacam ini, tubuh akan mengerahkan limfosit B, yang mempunyai antibodi pada permukaannya, dan berfungsi sebagai reseptor untuk antigen dari kuman tersebut. Jika antibodi pada permukaan sel limfosit B tersebut menemukan antigen dari bakteri dalam sirkulasi darah atau cairan tubuh yang lain, maka antigen akan diikat oleh antibodi, untuk selanjutnya dimasukkan ke dalam vesikel di dalam limfosit B (Handojo, 2003).

Di dalam vesikel tersebut, antigen akan diproses atau dipecah oleh enzim menjadi beberapa fragmen peptida. Pada saat itu, suatu molekul *MHC* kelas II diproduksi oleh retikulum endoplasma dan sel B tersebut, yang memiliki kantong /celah khusus yang dicipta agar mengikat antigen, tapi masih dalam keadaan terkunci oleh suatu rantai asam amino yang khusus, sehingga tidak aktif bergerak ke arah vesikel. Selama di dalam vesikel, rantai pengunci tersebut dilepaskan, menyebabkan molekul *MHC* kelas II menjadi aktif, sehingga dapat mengikat peptida antigen yang ditemukan di dalam vesikel. Kompleks ini selanjutnya akan mengangkat peptida yang diikatnya ke permukaan sel, sehingga dapat dikenal (*recognized*) oleh sel limfosit T-*CD4* *helper* (*Th*₂) dan diikat oleh reseptornya. Untuk mengaktifkan sel limfosit (*CD*₄*Th*₁, *CD*₄*Th*₂, *CD*₄*Th*₃ dan *CD*₄), sinyal pertama yang dibangkitkan oleh ikatan reseptor sel limfosit T dan molekul *MHC* kelas II ataupun kelas I, perlu adanya sinyal kedua yang dibangkitkan oleh

molekul CD_{28} , setelah mengenal lawannya, yaitu molekul B_7 yang terdapat pada APC.

Jika antigen tersebut berasal dari bagian tubuh sendiri, maka molekul CD_{28} tidak akan mengikat molekul B_7 , sehingga tidak menimbulkan sinyal kedua dan sel limfosit akan mati.

Limfosit Th_2 yang telah aktif di atas, akan memproduksi sitokin, yaitu IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 dan IL-13 (Theze, 1999), yang dapat mengaktifkan limfosit B dalam bentuk rangkaian reaksi biokimia yang cepat, dengan melibatkan enzim *tyrosin kinase*, dimana akan mengakibatkan proliferasi serta diferensiasi sel limfosit B menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi dan sel memori. Berbeda dengan limfosit T yang tidak dapat mengsekresi reseptor antigennya, limfosit B atau sel plasma dapat mengsekresi antibodi. Sekali antibodi telah disekresi oleh sel plasma, antibodi tersebut tidak lagi tergantung dari limfosit B atau sel plasma, sehingga tidak mudah dikendalikan. Antibodi pertama yang dibentuk oleh sel plasma adalah IgM, yang selanjutnya diikuti oleh Ig G dan Ig A. Ig M merupakan molekul antibodi yang terbesar. Setiap molekulnya dapat mengikat 10 determinan antigenik, yang dibutuhkan pada tahap awal suatu penyakit infeksi (Handoyo, 2003).

2.3.2.2. Mekanisme daya tahan tubuh terhadap masuknya kuman/bakteri intra seluler

Dari segi respons imun, kuman atau bakteri intra seluler dapat dibagi dalam dua kelompok, yaitu a). kelompok kuman atau bakteri yang tumbuh dalam *vesikel (phagosome)* di dalam sel, seperti *Mycobacterium tuberculosis* dan b) kelompok

kuman atau bakteri yang tumbuh dalam bagian *strasolik* dari sel, seperti virus. Kedua jenis kuman atau bakteri ini akan memberi repons imun yang berbeda.

a. Respons imun terhadap invasi kuman/bakteri yang tumbuh dalam vesikel di dalam sel

Sel yang terinfeksi oleh kuman atau bakteri tersebut umumnya adalah sel makrofag yang menelan kuman tersebut dan merupakan *hang* untuk infeksi semacam ini. Di dalam vesikel atau fagolisosom, kuman atau bakteri akan dipecah atau diproses menjadi peptida, yang selanjutnya diikat oleh molekul *MHC* kelas II, yang diproduksi oleh retikulum endoplasma dari *APC*. Seperti halnya pada respons imun terhadap kuman atau bakteri ekstra seluler, molekul *MHC* kelas II tetap harus terjaga agar tidak aktif oleh suatu rantai asam amino sampai molekul tersebut mencapai vesikel yang mengandung peptida dari kuman atau bakteri yang menginfeksi sel makrofag. Di dalam vesikel ini asam amino pengikatnya dilepas, sehingga molekul *MHC* kelas II-nya menjadi aktif di dalam vesikel. Kompleks ikatan ini selanjutnya bergerak ke permukaan sel makrofag dan dipaparkan di sana, sehingga dapat dikenal dan diikat oleh reseptor dari sel limfosit *T CD₄* ($T_H1 = \textit{Inflammatory CD}_4\text{-T cell}$).

Sebelum limfosit T_H1 dapat melaksanakan aktivitasnya, diperlukan sinyal kedua yang dibangkitkan jika molekul CD_{28} pada permukaan sel limfosit T_H1 serta mengikat pasangannya, yaitu molekul B_7 yang terdapat di permukaan sel makrofag (*APC*).

Limfosit T_H1 yang telah aktif tersebut akan memproduksi sitokin, yaitu interleukin (IL-2), interferon- γ , dan *tumor necrosis factor* (TNF), yang dapat

mengaktifkan sel makrofag, sehingga sel makrofag tersebut mampu untuk menghancurkan kuman yang tumbuh dalam vesikelnya dan mengakhiri infeksi

Respons imun terhadap invasi suatu kuman atau bakteri intra seluler dalam vesikel(fagolisosom), sel limfosit CD_4Th_1 memproduksi sitokin yang terutama merangsang imunitas mediasi seluler (*CMH*). Sebaliknya dalam keadaan tertentu (lingkungan mikro yang mengandung $IL-4$, yang banyak pada infeksi campuran dengan caceng, Th_1 tak dapat mengatasi proses infeksi), maka sel limfosit CD_4Th_2 banyak berperan pada infeksi dengan kuman atau bakteri ekstra seluler, serta memproduksi sitokin terutama untuk mengaktifkan sel limfosit B dalam berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang mensekresi antibodi.

b. Respons imun terhadap invasi kuman/bakteri yang berada dalam sitosol dari sel

Beberapa kuman intra seluler, seperti virus, hidup dalam sitosol dari sel yang terinfeksi serta menggunakan *DNA* atau *RNA* sel inang agar dapat mensintesis protein atau asam amino yang sangat diperlukan dalam berkembang biak. Protein yang diproduksi oleh virus tersebut akan dipecah oleh enzim dalam sel menjadi peptida, yang akan terikat oleh molekul *MHC* kelas I yang dibentuk oleh retikulum endoplasma sel inang.

Adanya peptida asing yang diikat dalam kantong atau celah molekul *MHC* kelas I di atas akan merupakan sinyal pada sistem imun, bahwa sel dalam keadaan terinfeksi. Selanjutnya kompleks antigen dan molekul *MHC* kelas I tersebut bergerak ke permukaan sel inang. Kompleks ini akan dikenal, serta selanjutnya diikat oleh reseptor sel limfosit TCR , yang sedang lewat. Sebelum sel

limfosit TCD_8 tersebut dapat melaksanakan aktivitasnya, sel tersebut perlu diaktifkan terlebih dahulu oleh sinyal kedua yang akan muncul, jika molekul CD_{28} pada permukaan sel limfosit T terikat dengan pasangannya yaitu B_7 , yang terdapat pada permukaan sel inang. Sel limfosit $TCDA$ ini akan mengeluarkan sitokin yang dapat menghancurkan seluruh sel inang yang terinfeksi, termasuk virus yang tumbuh di dalamnya. Oleh karena itulah sel limfosit ini disebut juga sebagai sel *T killer* (Handoyo, 2003).

Berbeda dengan sistem imun yang alamiah atau non spesifik, sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda asing yang pertama kali muncul dalam tubuh segera dikenal oleh sistem imun yang spesifik, sehingga terjadi sensitisasi sel sistem imun tersebut. Jika sel sistem imun yang sudah tersensitisasi tersebut terpajan kembali dengan benda asing yang sama, maka benda asing terakhir ini akan dikenal lebih cepat, kemudian segera dihancurkan olehnya.

Oleh karena sistem tersebut hanya dapat menghancurkan benda asing yang sudah dikenal, maka sistem itu disebut spesifik. Sistem imun spesifik dapat bekerja tanpa bantuan sistem imun non spesifik untuk dapat menghancurkan benda asing yang berbahaya bagi tubuh, tetapi pada umumnya sudah terjalin kerja sama yang baik antara antibodi-komplemen dan antara sel T-makrofag.

2.3.2.3. Sistem imun spesifik humoral

Yang sangat berperan dalam sistem imun spesifik humoral adalah limfosit B atau sel B. Sel B tersebut berasal dari sel asal multipoten. Pada unggas, sel yang disebut *Bursal cell* atau sel B akan bermigrasi dan berdiferensiasi menjadi sel B

yang matang dalam alat yang disebut *Bursa Fabricius* yang terletak dekat kloaka. Jika sel B dirangsang oleh benda asing, sel itu akan berproliferasi dan berkembang menjadi sel plasma yang dapat membentuk antibodi. Antibodi yang dilepas dapat ditemukan di dalam serum. Fungsi utama antibodi ini adalah pertahanan tubuh terhadap infeksi ekstra seluler, virus dan bakteri serta menetralkan toksinnya.

Penyuntikan substansi asing dalam dosis tunggal ke dalam hewan yang immuno-kompeten, dan oleh adanya respons imun humoral akan membangkitkan produksi antibodi yang spesifik terhadap substansi asing tersebut dalam serum setelah beberapa saat. Segera setelah penyuntikan antigen tersebut, akan tampak **periode laten atau periode induksi**, karena saat ini belum dapat ditunjukkan adanya antibodi. Dalam periode ini masih berlangsung beberapa perubahan seluler seperti proses pengenalan, transformasi serta diferensiasi sel. Setelah periode laten berakhir, menyusul **periode bio-sintesis antibodi**, yang dapat dibedakan dalam tiga fase, yaitu:

- a. **Fase logaritmik**, terjadi kenaikan kadar antibodi secara logaritmik dalam waktu 4-10 hari.
- b. **Fase datar**, disini sudah tidak terjadi kenaikan kadar antibodi. Hal ini disebabkan bahwa pada fase ini sudah terjadi keseimbangan antara antibodi yang diproduksi dengan yang sudah bereaksi, disamping yang telah mengalami katabolisme.
- c. **Fase penurunan**, terjadi pada saat antibodi yang mengalami katabolisme dan yang telah bereaksi lebih banyak daripada yang diproduksi.

2.3.2.4. Sistem imun spesifik seluler

Yang berperan dalam sistem imun spesifik seluler adalah limfosit T atau sel T. Sel tersebut juga berasal dari sel asal yang sama seperti sel B. Pada orang dewasa sel T dibentuk didalam sumsum tulang tetapi proliferasi dan diferensiasinya terjadi di kelenjar timus atas pengaruh berbagai faktor. 90%-95% dari semua sel timus tersebut mati dan hanya 5%-10% yang menjadi matang dan meninggalkan timus masuk ke dalam sirkulasi. Perbedaan lain dengan sel B adalah bahwa sel T ini dapat mempunyai berbagai sub populasi limfosit, seperti *limfosit T cytotoxic dan limfosit T helper*

Fungsi efektor limfosit T sangat rumit dan sulit, sehingga perlu diadakan klasifikasi tersendiri. Salah satunya mengatakan bahwa bentuk fungsi limfosit T terutama terlibat dalam .

- a. Adanya kontak langsung antar sel yang terlibat
- b. Pelepasan mediator yang larut.

Setiap jenis fungsi tersebut dapat berakibat positif maupun negatif. Untuk fungsi antar seluler limfosit T, dapat berfungsi meliputi gandakan fungsi sel lain, misalnya membantu sel B, atau akibat negatif-nya dengan cara merusak sel lain aktivitas sitotoksitas (*CTL*). Sedangkan fungsi mediator dari limfosit T yang berakibat negatif karena sifat toksiknya (misalnya limfotoksin) atau akibat positif dengan perantaraan limfokin, yang akan meningkatkan respons imun (mis. IL-2).

Kalau respons imun humoral terutama untuk menghadapi antigen yang bersifat larut, maka respons imun seluler khususnya untuk menghadapi antigen yang terdapat pada permukaan sel. Misalnya respons imun seluler berlangsung

terhadap sel tumor, parasit, jamur, sel inang yang terinfeksi virus atau mikroorganisme atau terhadap jaringan cangkok yang berbeda latar belakang genetiknya

2.3.3. Antigen

Antigen adalah bahan yang dapat merangsang respons imun atau bahan yang dapat bereaksi dengan antibodi yang sudah ada. Secara fungsional antigen dibagi menjadi imunogen dan haptan. Imunogen adalah bahan yang dapat menimbulkan respons imun. Sedang haptan adalah molekul yang dapat bereaksi dengan antibodi yang sudah ada (*preformed*) secara langsung, tetapi tidak dapat merangsang pembentukan antibodi secara langsung.

Haptan merupakan determinan antigen dengan berat molekul yang kecil dan baru menjadi imunogen bila diikat oleh protein pembawa (*carrier*) besar. Contoh haptan adalah berbagai golongan antibiotik dan obat lainnya dengan berat molekul yang kecil. Haptan biasanya dikenal oleh sel B, sedangkan *carrier* oleh sel T. *Carrier* sering digabung dengan haptan yang dikenal sistem imun dan merangsang pembentukan antibodi.

Ada pula yang mengartikan imunogen sebagai antigen yang dapat merangsang sistem imun dengan sangat kuat, terutama dalam konteks imunitas protektif terhadap organisme patogen.

Epitop atau determinan antigen adalah bagian antigen yang dapat menginduksi pembentukan antibodi dan dapat diikat dengan spesifik oleh bagian dari antibodi atau reseptor pada limfosit. Sedangkan *paratop* adalah bagian dari antibodi yang mengikat epitop.

Respons imun terjadi terhadap semua golongan bahan kimia, seperti arang, protein dan asam nukleat. Antigen poten alamiah terbanyak adalah protein besar dengan berat molekul lebih dan 40.000 dalton dan kompleks polisakarida mikrobial. Glikolipid dan lipoprotein dapat juga bersifat imunogenik, tetapi tidak demikian halnya dengan lipid yang dimurnikan. Asam nukleat dapat bertindak sebagai imunogen dalam penyakit autoimun tertentu, tetapi tidak dalam keadaan normal.

Superantigen adalah molekul yang sangat poten terhadap mitogen sel T yang mungkin lebih baik bila disebut supermitogen, dapat memacu mitosis sel CD₄⁺ tanpa bantuan APC. Superantigen berikatan dengan berbagai regio dari rantai β reseptor sel T dan ikatan tersebut merupakan sinyal poten untuk mitosis, dapat mengaktifkan sejumlah besar populasi sel T. Sampai 20% dari semua sel T dalam darah dapat diaktifkan oleh satu molekul *superantigen*. Contoh superantigen adalah enterotoksin dan toksin, yang menimbulkan sindrom syok toksin yang diproduksi *S. aureus*. Molekul tersebut dapat memacu pelepasan sejumlah besar sitokin seperti IL-1 dan TNF dari sel T yang berperan dalam patologi jaringan lokal pada penyakit karena *Staphylococcus*.

2.3.4. Antibodi

Jika darah dibiarkan membeku akan meninggalkan serum yang mengandung berbagai bahan larut tanpa sel. Bahan larut tersebut adalah molekul antibodi yang digolongkan dalam protein yang disebut globulin, dan sekarang dikenal sebagai

imunoglobulin. Dua cirinya yang penting adalah spesifitas dan aktivitas biologiknya.

Imunoglobulin (Ig) dibentuk oleh sel plasma yang berasal dari proliferasi sel B akibat kontak dengan antigen. Antibodi yang terbentuk secara spesifik ini akan mengikat antigen baru lainnya yang sejenis. Bila serum protein tersebut dipisahkan dengan cara elektroforesis, maka imunoglobulin ditemukan terbanyak dalam fraksi globulin gama, meskipun ada beberapa imunoglobulin yang juga ditemukan dalam fraksi globulin- α dan β .

Enzim papain memecah molekul antibodi (dengan berat molekul 150.000 dalton) dalam fragmen masing-masing dari 45.000 dalton. Dua fragmen tetap memiliki sifat antibodi yang dapat mengikat antigen secara spesifik, bereaksi dengan determinan antigen serta hapten dan disebut *Fab* (*fragmen antigen binding*) dianggap univalen. Fragmen ke 3 dapat dikristalkan dari larutan dan disebut *Fc* (*fragmen crystallizable*) dan tidak dapat mengikat antigen. *Fc* menunjukkan fungsi biologis sesudah antigen diikat oleh *Fab*.

Semua molekul imunoglobulin mempunyai 4 rantai polipeptida dasar yang terdiri dari 2 rantai berat (*heavy chain*) dan 2 rantai ringan (*light chain*) yang identik serta dihubungkan satu sama lain oleh ikatan disulfida.

Ada 2 jenis rantai ringan, yaitu *kappa* dan *lambda*, yang terdiri dari 230 asam amino serta 5 jenis rantai berat yang tergantung pada kelima jenis imunoglobulin, yaitu IgG, IgA, IgM, IgD dan IgE. Rantai berat terdiri dari 450-600 asam amino, sehingga berat dan panjang rantai berat tersebut dua kali rantai

ringan. Molekul immunoglobulin mempunyai rumus bangun yang heterogen, meskipun hanya terdiri dari 4 unit polipeptida dasar.

2.3.5. Auto-imunitas

Auto-imunitas adalah reaktivitas imun yang didapat terhadap auto-antigen yang menimbulkan kerusakan jaringan (Baratawidjaja, 2002). Penyakit auto-imun dapat organ spesifik misalnya diabetes mellitus (pankreas sebagai organ sasaran) atau sistemik (non-organ spesifik) seperti Lupus Eritematosus Sistemik (LES) yang terjadi pada berbagai organ. Baik antibodi maupun sel T atau keduanya dapat berperan dalam patogenesis penyakit auto-imun. Dalam populasi, sekitar 3.5 % orang menderita penyakit auto-imun, 94% berupa *Cirrhosis disease*, hipertiroidism, diabetes tipe I, anemia-pernisiosa, artritis-reumatoid, tiroiditis, *vittigo*, sklerosis-multipel dan LES. Penyakit auto-imun ditemukan lebih banyak pada wanita (2.7 x pria).

Auto-imunitas adalah respons imun terhadap antigen jaringan sendiri yang disebabkan oleh hilangnya toleransi. Antigen tersebut disebut auto-antigen, sedang antibodi yang dibentuk disebut auto-antibodi. Sel auto-reaktif adalah limfosit yang mempunyai reseptor untuk auto-antigen. Jika sel tersebut memberikan respons auto-imun, disebut sel limfosit-reaktif (SLR). Pada orang normal, meskipun SLR terpajan dengan auto-antigen, tidak selalu terjadi respons auto-imun oleh karena ada sistem yang mengontrol reaksi auto-imun. Auto-antibodi dapat ditemukan tanpa menimbulkan akibat atau penyakit dan pada sebagian orang, penyakit auto-imun dapat merupakan akibat dari terbentuknya auto-antibodi. Jika auto-antibodi menimbulkan kerusakan jaringan disebut

penyakit auto-imun. Cirinya adalah kronis dan biasanya tidak reversibel. Respons terhadap auto-antigen melibatkan komponen-komponen yang juga bekerja dalam respons imun seperti antibodi, komplemen, kompleks imun dan CMI. Antigen yang berperan pada penyakit auto-imun pada umumnya belum diketahui.

Antigen yang imunogenik tidak akan menimbulkan respon imun, bilamana tidak sampai di jaringan limfoid. Tetapi protein lensa mata yang bersifat imunogen (protein kristalin α dan β) dapat ditemukan di tempat khusus yang tidak mempunyai kontak dengan jaringan limfoid (bilik mata depan, *Camera Oculi Anterior*), dan bilamana suatu saat tertentu kapsul lensa mengalami kebocoran karena membrannya rusak, maka protein kristalin alfa akan keluar ke arah bilik mata depan (*Camera Oculi Anterior*), dan dapat terjadi respon imun yang merusak daerah tersebut (reaksi terhadap adanya auto-antigen), dan akhirnya dapat terjadi "reaksi auto-imunitas". Daerah terjadinya reaksi tersebut oleh Rizzo pada tahun 2000, disebut sebagai *Anterior Chamber Auto-Immune Deviation (ACAD)*.

Kondisi tersebut di atas tampaknya dapat diasumsikan sesuai pernyataan Martin Wax, yang menyatakan bahwa pada glaukoma sudut terbuka primer, ditemukan sekitar 30% penderita yang juga mengalami penyakit auto-imunitas. Duntz (1998) dan Abelson (2001) menyatakan bahwa dalam cairan akuos pada orang normal terdapat TGF- β . Disamping itu ada beberapa faktor yang berperan dalam reaksi auto-imunitas, diantaranya adalah infeksi dan reaksi silang dengan antigen bakteri serta defek regulasi sel Th, dimana diketahui bahwa respons awal terhadap infeksi mikroba biasanya disertai produksi sitokin tipe Th₁ yaitu INF- γ .

IL-2 dan TNF- α yang diikuti pelepasan sitokin anti inflamasi dari Th₂ yaitu IL-4, IL-10 dan TGF- β (Suroto, 2001, Baratawidjaja, 2002).

Tripathi pada tahun 1994, menyatakan bahwa pada glaukoma ditemukan kadar TGF- β_2 yang lebih tinggi daripada orang normal. Sedang *Wedge-Luesven* (2000) menginformasikan bahwa TGF- β_1 dan TGF- β_2 dapat merangsang peningkatan akumulasi matriks ekstra seluler dan peningkatan enzim *Extracellular Matrix Transglutaminase* yang sangat berperan dalam proses kematian sel (apoptosis).

2.4. Kematian Sel

Kematian sel dapat terjadi melalui 2 mekanisme, yaitu melalui mekanisme nekrosis dan mekanisme apoptosis.

2.4.1. Nekrosis atau *accidental cell death*

Nekrosis dapat didefinisikan sebagai perubahan morfologis sebagai akibat tindakan degradasi yang progresif oleh berbagai enzim akibat adanya rangsangan atau jejas atau injury yang dapat berupa iskemia, anoksia, starvasi, fisik, biologik maupun kimia yang bersifat letal. Nekrosis merupakan proses yang bersifat patologis. Ada 2 proses yang mendasari terjadinya nekrosis, yaitu proses pencernaan sel oleh enzim, dan proses denaturasi protein. Kedua proses tersebut berjalan selama beberapa jam. Proses pencernaan sel oleh enzim katalitik dapat dilaksanakan oleh enzim dari dalam sel sendiri dan prosesnya dinamakan *autolisis*, sedangkan jika enzimnya berasal dari sel lain, maka prosesnya dinamakan *heterolisis*.

Nekrosis terjadi jika sel terpapar atau terkena jejas yang berat, sehingga akan menimbulkan kerusakan sel membran berupa gangguan permeabilitas dan akan terjadi in-fluks air dan ion menuju ke arah intra-seluler. Kondisi ini merupakan faktor penting untuk timbulnya pembengkakan atau *onkosis* (*swelling*) termasuk di dalamnya organel terutama mitokondria dan pecahnya sel beserta isinya (sitoplasma) termasuk lisosom ke arah ekstra seluler. Kondisi tersebut akan dipercepat oleh adanya aktivasi berbagai enzim seperti hidrolase, fosfolipase, RNA ase dan DNA ase.

2.4.2. Apoptosis atau *Programmed Cell Death*

Apoptosis merupakan suatu proses bioenergi yang aktif dalam rangka menghilangkan sel yang tidak diinginkan atau tidak berguna/diperlukan oleh tubuh dalam usaha mempertahankan keadaan homeostatis/keselimbangan agar fungsi organ dapat berlangsung dengan baik.

Proses terjadinya apoptosis berlangsung selama beberapa jam dan mengenai satu demi satu sel dan tanpa disertai adanya reaksi peradangan/inflamasi. Proses apoptosis secara biokimia melalui beberapa fase atau tahap yaitu :

1. Fase inisiasi (*initiating phase*)
2. Fase keputusan (*decision phase*)
3. Fase eksekusi (*execution phase*)
4. Fase pembersihan (*clearance phase*)

Secara garis besar terjadinya apoptosis dapat diuraikan sebagai berikut. Adanya sinyal yang melewati sel membran dan masuk ke dalam sel. Sinyal

tersebut dapat diakibatkan oleh pengaruh sitokin, hormonal, toksin, maupun faktor pertumbuhan: *Fas Apo-1*. Selanjutnya karena ada faktor pencetus akan menentukan arah, yaitu apakah sel diarahkan ke kematian/tidak. Menurut Betz (1998) proses apoptosis atau *Cell self destruct* berjalan melalui proses yang khas secara biokimia dan morfologis, yaitu terjadinya kondensasi kromatin, kemudian diikuti oleh perubahan dinding inti kearah tepi, kondensasi sitoplasma serta seluruh sel mengkerut, vakuolisasi sitoplasma dan mengkerutnya inti sel dan membran sitoplasma, akhirnya diikuti pembentukan *Apoptotic Bodies*

Menurut Vermees pada tahun 1997, dinyatakan bahwa selama proses apoptosis terdapat gambaran yang spesifik selama sel akan menghulang, yang dimulai dengan menghulangnya membran antar sel (*cell-junction*) misalnya struktur membran seperti mikrovilli. Sedangkan integritas sel membran dan mitokondria tetap dalam keadaan intact, sitoplasma mengalami kondensasi dan inti sel bersatu menjadi satu bentukan yang lebih besar dan kemudian pecah menjadi beberapa fragmen. Retikulum endoplasma berubah menjadi vesikel serta bergabung dengan membran sitoplasma.

Semua proses diatas akan menimbulkan kontraksi isi sitoplasma dan akhirnya pecah menjadi beberapa vesikel kecil yang disebut dengan *apoptotic bodies*. Selanjutnya *apoptotic bodies* tersebut keluar kearah ruang ekstra seluler, seterusnya akan difagositosis oleh sel di dekatnya dan makrofag

Karena apoptosis terjadi pada sel yang berbeda dan semua proses tersebut hanya berjalan beberapa jam serta sel yang mati tidak menimbulkan reaksi inflamasi, maka seringkali proses ini terlupakan

Walaupun proses terjadinya apoptosis pada dasarnya cukup singkat serta tanpa inflamasi, namun tahap-tahap proses terjadinya apoptosis dapat diutarakan sebagai berikut (Vermes, 1997):

1. Fase Inisiasi (*Initiating Phase*):

Fase ini ditandai dengan adanya aktivasi salah satu sinyal dari luar yang merupakan reseptor pencetus pada membran plasma atau perubahan intra seluler seperti adanya kerusakan DNA, proses degenerasi akibat proses ketuaan atau pengaruh oksigen reaktif. Berikut ini beberapa reseptor yang berperan dalam fase inisiasi:

a. Reseptor FAS/APO-1:

Merupakan suatu struktur yang terlibat sebagai pencetus timbulnya menjadi *Murine Monoclonal Antibody*. Kloning molekuler dari FAS/APO-1, cDNA menunjukkan bahwa kedua gen tersebut adalah identik. Yaitu homolog dengan reseptor dari TNF (*Tumor Necrosis Factor*), NGF (*Nerve Growth Factor*), dan beberapa variasi dari reseptor sel imun CD_{27} , CD_{30} dan CD_{40} . Semua reseptor tersebut diindikasikan mempunyai struktur yang sama dengan *Type-1 protein membran*. Terdapat sekitar 65 asam amino yang dapat dikategorikan sebagai *Death Domain*, karena perannya dalam menimbulkan sinyal kematian.

Pada tahun 1994 telah ditemukan adanya sitokin yang berikatan dengan reseptor FAS. *Ligand* tersebut dinamakan dengan FAS-l, yang dipercaya

sebagai pencetus secara fisiologis dari apoptosis. *FAS-L*, termasuk dalam family dari *Factor Necrosis Factor*

b. Reseptor Purinergik:

Struktur permukaan lain yang berperan dalam permulaan terjadinya apoptosis adalah adanya aktivasi sub-kelas reseptor purinergik yang disebut dengan *Purino-receptor-P₂U* yang sensitif terhadap *ATP*

c. Reseptor Pasmatik:

Sitoplasma berisi beberapa reseptor untuk faktor pertumbuhan-*growth factor* dan sitokin yang berperan sebagai sinyal kimia terhadap proses apoptosis. Kondisi ini akan tampak pada jaringan endokrin seperti kelenjar mammae dan endometrium serta kelenjar prostat, dimana akan terjadi apoptosis bilamana kadar hormon yang mengatur (yang sesuai dengannya) mengalami penurunan. Keadaan ini sangat berbeda dengan mekanisme yang terjadi pada jaringan hematopoetik dan jaringan syaraf, dimana dengan adanya *Colony Stimulating Factor* dan *Nerve Growth Factor* yang sangat diperlukan untuk menghambat kematian sel secara apoptosis

2. Fase Keputusan (Decision Phase):

Faktor pencetus yang berasal dari luar sel akan menimbulkan perubahan pada sitosol dan akan terjadi peristiwa biokimia yang akhirnya akan berperan dalam kematian sel secara apoptosis. Semua proses dalam fase ini dikontrol oleh regulator positif-*executioner* dan regulator negatif-*rescuer*

a. Perubahan membran:

Pengaruh sinyal yang memberikan tanda bahaya terhadap kehidupan sel, perubahan ini terjadi pada membran plasma, termasuk perubahan arsitektur fosfolipid. Salah satu perubahan yang terjadi adalah adanya *fosfatidylserine (PS)* pada bagian luar membran plasma. Perlu diketahui bahwa pada sel hidup fosfolipid ini sebagian besar berada didalam membran plasma serta berhubungan dengan sitosol

b. Fosfolipid second messengers:

Pencetus apoptosis yang ekstra seluler seperti *TAN-Ligand*; *TNF*; *NGF*; *IL-2*; glukokortikoid, jejas sub-lethal ataupun jejas fisik seperti obat sitotoksik, radiasi ion akan merangsang perpeindahan ion Ca^{2+} serta merangsang aktivasi fase intra seluler dan modifikasi enzim lipid yang akan membentuik beberapa *fosfolipid second messenger* yaitu: *Ceramide (Cm)* dan *Diacylglycerol (DAG)*

Ceramide dibentuk dari sphingomyelin oleh *sphingomyelase*, sedangkan DAG oleh proses enzimatik hidrolisis dari *fosfatidylcholine*, serta DAG akan mengaktivasi isoenzim *protein kinase C (PKC)*

Peningkatan kadar *Ceramide* intra seluler akan menimbulkan apoptosis, sedang peningkatan kadar *DAG* akan menghambat terjadinya apoptosis. Efek yang berlawanan antara *Ceramide* dan *DAG* dalam menentukan terjadinya apoptosis atau tidak diduga sebagai keputusan dari sel untuk tetap hidup atau akan mati.

c. *Famili Gen Bcl₂*

Bahwa keputusan untuk mati atau hidupnya sel sangat tergantung pada ekspresi beberapa *proto-onkogen* seperti halnya famili gen *Bcl₂*. Gen ini memegang peranan penting dalam regulasi proses apoptosis. *Bcl₂* merupakan kelas yang unik dari *proto-onkogen* karena kemampuannya menghambat apoptosis tanpa mempengaruhi proliferasi sel.

3. Fase Eksekusi/ Execution Phase.

Balamana pencetus terjadinya apoptosis telah mengaktifasi reseptor membran, dan membran telah mengalami perubahan sehingga terjadi influx ion Ca^{2+} dan telah diproduksi pula oleh second messenger, serta kemudian elemen efektor menjadi teraktivasi akan menjadikan proses ini tidak reversibel. maka proses apoptosis telah melewati *Point of no return*, dan akhirnya sel telah siap untuk mati (*Ready to Die*) dan sel telah memasuki fase eksekusi.

Beberapa elemen efektor (*executioner*) adalah berbagai enzim yang memfasilitasi degradasi struktur intra seluler dan molekul makro protein *cross-linking*, dan mempersiapkan sel untuk segera difagositosis.

Akhir keputusan apoptosis terjadi akibat aktivasi beberapa enzim berikut ini :

a. Enzim *protease*:

ICE : *Interleukin-1 β Converting Enzyme* dan *I β* homolog secara bersamaan akan memecah polipeptida menjadi tersisa asam aspartat residu. Didalam sel, protease ini masih dalam keadaan inaktif yang akan

dapat diaktivasi melalui cara dengan memecah dirinya sendiri (*Autolysis*) atau diaktivasi oleh anggota lain

Hanya satu enzim pada mamalia, yang saat ini diketahui mempunyai pilihan membelah dengan hasil akhir asam aspartat, yaitu *Granzyme B* yang merupakan enzim protease yang terdapat dalam granula sitoplasma sel limfosit dan sel NK. *Granzyme B* bersama dengan enzim *perforin* akan terlibat dalam fungsi efektor sitotoksik terhadap *Cell Mediated Cytotoxicity* dan berakibat terjadi apoptosis sel target

b. Enzim Endonuklease:

Selama proses apoptosis berlangsung, endonuklease endogen diaktivasi yang akan menimbulkan pemecahan DNA diantara nukleosom. Pecahnya DNA menjadi pecahan besar dan membelah menjadi *single strand DNA*. Endonuklease bertanggung jawab atas fragmentasi kromatin dan sangat tergantung pada ion Ca^{++} dan Mg^{++} serta dihambat oleh adanya ion Zn^{++} . Keadaan tersebut dapat diduga bahwa endonuklease memang ada secara inaktif pada semua sel dan akan teraktivasi setelah muncul sinyal apoptosis.

Transglutaminase merupakan protein *Cross-Linked* pada sel apoptosis akibat aktivitas intra seluler yang spesifik dari *transglutaminase* yang merupakan enzim sitosolik yang tergantung pada ion Ca^{++} . Enzim ini mempunyai konsentrasi tinggi saat terjadi proses apoptosis. Oleh karena itu, diduga bahwa enzim ini menyediakan protein *Cross-Linked* secara

bertahap pada sel yang mengalami apoptosis. Bersama dengan membran protein dan sitoplasma, enzim transglutaminase akan menjaga integritas seluler selama pembentukan apoptotic bodies, serta membatasi kebocoran komponen intra seluler kearah ruang ekstra seluler (*Death from inside Out*).

4. Fase pembersihan / *Clearance Phase*.

Sisa-sisa sel atau *apoptotic bodies* akan disingkirkan melalui fagositosis oleh sel-sel didekatnya dan makrofag. Yang sangat menarik adalah selama proses apoptosis akan dapat dikenal dengan ditemukannya *apoptotic bodies* yang difagositosis oleh sel fagosit tanpa menimbulkan kerusakan pada sel disekitarnya serta tidak menimbulkan respon inflamasi.

2.5 SITOKIN

Sitokin adalah golongan *proteinoglycoprotein* atau polipeptida yang larut dan diproduksi oleh sel limfosit dan sel-sel lain, seperti makrofag, eosinofil, sel mast dan sel endotel. Sitokin berfungsi sebagai sinyal inter seluler, yang mengatur hampir semua proses biologis penting seperti halnya aktivasi, pertumbuhan, proliferasi, diferensiasi, proses inflamasi sel, imunitas, serta penahanan jaringan ataupun morfogenesis. Kesemuanya terjadi akibat rangsangan dari luar. Sitokin mempunyai berat molekul rendah, sekitar 8-40 kD, di samping kadarnya juga sangat rendah.

Sifat Sitokin

- Biasanya diproduksi oleh sel sebagai respons terhadap rangsangan. Sitokin yang dibentuk segera dilepas dan tidak disimpan di dalam sel
- Sitokin yang sama dapat diproduksi oleh berbagai sel.
- Satu sitokin dapat bekerja terhadap beberapa jenis sel dan dapat menimbulkan efek melalui berbagai mekanisme
- Berbagai sitokin dapat memiliki banyak fungsi yang sama
- Sitokin dapat dan sering mempengaruhi sintesis atau efek sitokin lain.
- Efek sitokin akan tampak saat berikatan dengan reseptor yang spesifik pada permukaan sel sasaran atau sel target.

Pada dasarnya sitokin berfungsi sebagai autokrin, namun pada kenyataannya juga dapat berfungsi sebagai parakrin ataupun endokrin. Dalam melaksanakan tugasnya, sitokin dapat juga bekerja sebagai inhibitor atau antagonis sitokin lain, bahkan dapat pula menghambat kerja sitokin yang bersangkutan. Diketahui pula bahwa sitokin ikut berperan dalam sistem imunitas alamiah maupun imunitas adaptasi atau spesifik.

Banyak sarana yang mengelompokkan klasifikasi sitokin sesuai dengan kebutuhan masing-masing, antara lain berdasar pada sumber sel yang memproduksinya, efeknya pada sel, atau berdasar pada jenis ikatan dengan reseptornya. Abbas dkk (1994) mengelompokkan sitokin berdasar pada fungsinya, sebagai berikut

1. Sitokin yang berperan dalam imunitas bawaan (*Cytokines that mediated nature immunity*). Yang termasuk dalam kelompok ini adalah :
 - Interferon tipe I

- *TNF- α* (*Tumor Necrosis Factor- α*)
 - *IL-1* (*Interleukin 1*)
 - *IL-6* (*Interleukin 6*)
 - *Chemokin*
2. **Sitokin pengatur aktivasi, pertumbuhan dan diferensiasi limfosit, antara lain :**
- *IL-2* (*Interleukin-2*)
 - *IL-4* (*Interleukin 4*)
 - *TGF- β* (*Transforming Growth Factor- β*)
3. **Sitokin pengatur mediator imun dalam proses inflamasi, antara lain :**
- *Interferon- γ*
 - *Lipoteksin*
 - *IL-10* (*Interleukin-10*)
 - *IL-2* (*Interleukin-2*)
 - *Migration Inhibition Factors*
 - *TNF- α* (*Tumor Necrosis Factor- α*)
4. **Sitokin merangsang Haematopoetik, contoh :**
- *C Kit Ligand*
 - *IL-3* (*Interleukin 3*)
 - *Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor*
 - *Monocyte Macrophage Colony Stimulating Factor*
 - *Interleukin 7 (IL-7)*
 - *Other Colony-Stimulating factors Cytokines*

Fungsi Sitokin

Sebagaimana telah disampaikan, bahwa sitokin adalah polipeptida atau gliko protein dengan berat molekul rendah, yaitu antara 8-40 kDa, yang diproduksi dan disekresi oleh berbagai sel yang berperan dalam respons imun bawaan atau

natural, dan respons imun yang didapat atau adaptif sebagai respons terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh. Selain itu sitokin bersifat dan berfungsi sebagai

- a. Sitokin tidak tersedia sebagai molekul yang siap digunakan, melainkan sintesa sitokin diawali oleh transkripsi gen baru yang sesaat, sebagai hasil aktivasi seluler
- b. Sitokin seringkali bekerja secara *pleiotropic* yang artinya bahwa satu sitokin mempunyai pengaruh dan bekerja pada berbagai sel target serta *redundant* yang berarti beberapa atau berbagai sitokin melaksanakan fungsi yang sama terhadap satu jenis sel (Abbas, 1994)
- c. Suatu jenis sitokin sering mempengaruhi kerja dan sintesa sitokin lain. Kemampuan ini menuju pada kaskade dimana sitokin kedua dan ketiga dapat memfasilitasi pengaruh biologik dari sitokin pertama.
- d. Sitokin dapat bekerja secara lokal (*autocrine action*) atau pada sel lain di dekatnya (*paracrine action*), dan bahkan dapat bekerja secara sistemik (*endocrine action*). Sitokin mengawali kerjanya dengan mengikatkan diri secara kuat pada reseptor, pada membran yang spesifik dari sel target
- e. Ekspresi reseptor sitokin diatur oleh sinyal eksternal spesifik, misalnya stimulasi limfosit T ataupun B oleh antigen, menyebabkan peningkatan ekspresi reseptor sitokin.
- f. Respons seluler terhadap sitokin terdiri atas perubahan dalam ekspresi gen dalam sel target, bermuara pada ekspresi fungsi baru dan proliferasi sel target
- g. Sitokin seringkali mempunyai berbagai efek pada sel target yang sama.

h. Untuk berbagai sel target, sitokin berfungsi sebagai regulator dalam pembelahan sel.

Namun Abbas pada tahun 1994 menyatakan bahwa fungsi sitokin dapat disebutkan dalam beberapa kategori, yaitu :

1. sebagai mediator imunitas bawaan
2. mengatur aktivasi, pertumbuhan dan diferensiasi limfosit,
3. mengatur "immune mediated inflammation"
4. merangsang leukosit yang belum matang atau *immature* dalam pertumbuhan dan diferensiasi

Heze pada tahun 1999, menyatakan bahwa fungsi dasar Sitokin yang diproduksi akibat adanya respons terhadap rangsangan yang bersifat imunologi, berperan utama dalam mengatur hal-hal sebagai berikut

- a. kelanjutan hidup sel
- b. proliferasi sel
- c. diferensiasi sel
- d. kematian sel

a. Sitokin dan Kelanjutan hidup sel

Sebagaimana diketahui bahwa kelangsungan hidup sel darah atau sel hematopoetik sangat tergantung pada lingkungan atau sitokin seperti halnya *hematopoietic growth factors* (misalnya *IL-3, GM-CSF atau G-CSF*). Bilamana ada beberapa faktor sitokin pertumbuhan tersebut yang tidak ada, maka sel punca hematopoetik akan segera mati, melalui mekanisme apoptosis. Keadaan

ini menunjukkan bahwa sitokin dapat meningkatkan kelangsungan hidup sel dengan cara menekan atau menghambat proses apoptosis. Kondisi protektif seperti ini dapat ditemukan pada keadaan sebagai berikut, yaitu misalnya IL-3 menghambat apoptosis yang disebabkan pengaruh radiasi ion atau bahan perusak DNA. Contoh lain, IL-2 memproteksi limfosit T agar tidak menimbulkan apoptosis karena pengaruh glukokortikoid, dan IL-6 mencegah timbulnya apoptosis karena pengaruh p53 pada sel *myeloid leukemia*.

Kondisi protektif tersebut tergambar juga pada peran sitokin IL-1 β , TNF- α , IL-N- γ , GM-CSF dan G-CSF yang dapat memperpanjang umur PMN (Polimorfonuklear) yang sudah matang dalam sirkulasi. Oleh karena itu penghambatan proses apoptosis merupakan fungsi utama yang sangat penting bagi sebagian sitokin, walaupun sampai saat ini mekanisme peran sitokin dalam proses apoptosis belum semuanya jelas. Namun beberapa data menyatakan bahwa adanya sitokin dalam proses apoptosis yaitu sebagai *anti apoptotic onco protein* ditemukan dalam *Bcl₂*.

b. Sitokin dan sel proliferasi

Pengaruh beberapa sitokin atau reseptor sitokin dalam regulasi proliferasi sel banyak diketahui, namun sampai saat ini mekanisme yang meningkatkan peran sitokin dalam siklus sel belum diketahui secara jelas. Beberapa penelitian sedang difokuskan pada transisi siklus sel dari G₁→S.

Suatu studi menunjukkan, bahwa rangsangan sitokin agar terus terjadi proliferasi sel yang dilakukan dengan cara sintesa DNA saja, tidak cukup untuk

menjadikan sel selalu berproliferasi. Oleh karena itu diperlukan adanya tambahan aktivasi jalur anti apoptosis. Kondisi ini dapat dilakukan dengan cara meningkatkan ekspresi Bcl_2 atau beberapa golongan protein lain.

Hockenbery (1990) telah menemukan, bahwa *proto-onkogen Bcl₂* dapat menghambat kematian sel yang terprogram atau apoptosis. Bcl_2 akan berikatan dengan protein yang disebut *Bax*. *Rasio Bcl₂/Bax* merupakan faktor yang sangat menentukan terjadi atau tidaknya kematian sel secara terprogram. Bilamana Bcl_2 berlebihan, maka semua protein *Bax* yang tersedia akan dikat oleh Bcl_2 , sehingga proses apoptosis tidak akan terjadi. Tetapi bilamana kadar protein *Bax* berlebihan, maka semua Bcl_2 akan terikat dengan *Bax* dan sel akan mengalami kematian secara terprogram atau apoptosis.

Wyllie pada tahun 1995 menyatakan bahwa *rasio ikat Bcl₂* yang meningkat akibat ekspresi *p53*, akan menimbulkan apoptosis sebagai akibat dari rangsangan terhadap ekspresi *Bax* dan hambatan ekspresi Bcl_2 . Pernyataan ini didukung oleh *Bosnyk-Wetzel (1999)* yang menyatakan bahwa golongan anti apoptosis berfungsi menghambat keluarnya *Cytochrome-C* dari mitokondria atau menghambat keluarnya *Apaf-1 (apoptotic protease activating factor-1)*, serta sebaliknya *Bax* akan merangsang keluarnya *Cytochrome-C*.

c. Sitokin dan sel diferensiasi

➤ Diferensiasi Th_1 dan Th_2

Sel naif T atau sel T perintis (sel Th_0) hanya memproduksi IL-2 setelah dirangsang, kemudian akan terdiferensiasi menjadi Th_1 dan Th_2 . Sel Th_1

memproduksi IL-2 dan IFN- γ , maka sel tersebut lebih berperan dalam imunitas seluler. Sebaliknya, sel Th₂ yang memproduksi IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 dan IL-13, lebih berperan dalam merespons rangsangan yang membantu sel B dalam pembentukan antibodi. Aktivasi yang spesifik dari faktor transkripsi oleh IL-12 dan IL-4 akan sangat menentukan efek pada Th₁ dan Th₂.

➤ Diferensiasi sel B

Aktivasi, proliferasi dan diferensiasi sel B dalam rangka pembentukan immunoglobulin, sangat tergantung pada beberapa sitokin. Sitokin IL-2 dapat meningkatkan immunoglobulin atau respons imun pada sel T yang bergantung, maupun sel T yang mandiri. Dalam studi in-vitro dengan menggunakan sel B poliklonal yang diaktivasi sel T, diduga bahwa IL-2 sangat penting untuk merangsang pembentukan immunoglobulin. Meskipun demikian aktivasi sel B dengan menggunakan *CD40*, serta adanya IL-4 dan IL-10 dapat memproduksi immunoglobulin tanpa disertai adanya IL-2. Dengan demikian keadaan ini diduga akibat adanya jalur *redundant* terhadap pematangan sel B. Selain itu penelitian lain menduga, bahwa sitokin IL-2 lebih berperan dalam meningkatkan proliferasi sel B, tetapi IL-10 lebih berperan sebagai faktor diferensiasi.

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap diferensiasi sel Th adalah sebagai berikut (Rohit, 2001)

- ◆ Tempat pemaparan antigen
- ◆ Molekul yang bertindak sebagai ko-stimulator

◆ **Sifat dan imunogen**

- ◆ Berat molekul dan kemampuan berikatan dan peptida, bila tinggi menuju ke arah Th_1 , dan jika berat molekul dan kemampuan berikatan rendah, maka ke arah Th_2
- ◆ Dosis antigen
- ◆ APC dan sokin yang diproduksinya
- ◆ Aktivitas molekul ko-stimulator dan hormon yang ada pada daerah atau lingkungan setempat
- ◆ Latar belakang tubuh yang terkena infeksi
- ◆ Profil dan keseimbangan sitokin yang mungkin terjadi akibat masuknya antigen. Misalnya, $IL-12$ sangat potensial sebagai stimulus permulaan bagi produksi $IFN-\gamma$ oleh sel T dan sel NK. Oleh karena itu akan berperan sebagai regulator diferensiasi sel Th_1 . Sedangkan $IFN-\alpha$ yang merupakan sitokin yang diproduksi disaat infeksi virus mulai terjadi, tidak saja potensial dalam merangsang $IL-12$, tetapi juga merubah sel dari Th_2 menjadi Th_1 , sebaliknya produksi $IL-4$ yang permulaan akan berperan dalam sel Th_2 .

d. Sitokina dan kematian sel

Beberapa sitokin khusus seperti halnya *Fas-L*, *TNF- α* , *TRAIL*, atau *Ligand* yang tidak teridentifikasi dari TRAMP (atau DR₃), merangsang terjadinya apoptosis dalam beberapa sel. Reseptornya termasuk *FAS* atau *APC-1* (*CD95*), reseptor TNF tipe-1 (*TNFR*) atau *p 55*, *DR₂*, *DR₄*, dan *DR₅*. Semua reseptor

tersebut membantu *intra cytoplasmic death domain* yang memungkinkan terjadinya interaksi dengan *death domain* yang lain, seperti *TRADD* dan *FADD/MORT-1* yang akan bersamaan dengan *TNFR-1* dan *FAS* secara berurutan.

TRADD adalah suatu molekul adaptor sebagai penghubung terjadinya interaksi antara *TNFR-1* dan *FADD* (*Fas associating death domain*), kemudian *FADD* berinteraksi melalui *DED* (*Death effector domain*) yang homolog dengan efektor protease *FLICE* atau *caspase-8* yang merupakan elemen utama dan kaskade protease untuk terjadinya apoptosis

Inti kelengkapan apoptosis terletak dalam ruang sitoplasma dari sel. Semua aktivasi tergantung pada mekanisme yang rumit terutama rangsangan translokasi protein. Dasar terjadinya apoptosis adalah keluarga *cystein protease* yang dinamakan *caspases*, dimana kesemuanya bertanggung jawab pada pemecahan protein. Disini mitokondria sangat berperan dalam aktivasi *caspase* dengan mengeluarkan *cytochrome-c*, akibat adanya rangsang ke arah sitosol yang merupakan ko-faktor dari adaptor molekul *APAF-1* (*Apoptotic protease activating factor-1*). Selanjutnya keadaan ini dapat menimbulkan aktivasi dari kaskade *caspase*, dengan akibat terjadinya kematian sel (Bossy-Wetzel, 1999).

Pada golongan mamalia telah ditemukan sebanyak 14 *caspase* yang dapat dibagi dalam 2 kelompok fungsi, yaitu :

1. Kelompok *caspase* sebagai inisiatif, mis *APAF-1*, *caspase-8*, *caspase-9*, *caspase-10*, dan *caspase-12*.
2. Kelompok *caspase* sebagai eksekutor / efektor, mis *caspase-3*, *caspase-6* dan *caspase-7*.

Beberapa caspase tersebut adalah antara lain sebagai berikut (Caspas, 2002).

• *Caspase-1 (IL-1)*

Caspase-1 yang disebut juga sebagai *Interleukin-1 β converting Enzyme* (ICE, Thompson, 1999) merupakan keluarga dan *Caspase* pertama - *cystein aspartat protease* yang merespons terjadinya perubahan dan *Interleukin-1 β* semula ke arah pematangan dalam monosit, dimana dapat membelah pada Asp-116-ala-117 dan merupakan kinase sebagai mediator inflamasi. *ICE* ditemukan mamalia yang homolog dengan *death protein* dari sel *Caenorhabditis elegans* Ced-3. Pada studi dinyatakan bahwa Ced-3 mungkin berperan pada terjadinya apoptosis atau *programmed cell death*. Dua caspase lain yang hampir sama dengan *Caspase-1* adalah *Caspase-4* dan *Caspase-5*.

• *Caspase-2*

Adanya ekspresi yang berlebihan dari *Caspase-2 mRNA* pada beberapa sel dapat menimbulkan apoptosis, namun ekspresi berlebihan dari *Caspase-2* varian lain dapat menghambat terjadinya apoptosis yang disebabkan karena pengambilan kembali serum. Oleh karena itu, peran regulasi yang positif dan negatif terhadap terjadinya apoptosis dapat diduga akibat peran Caspase ini. *In vitro*, *Caspase-2* dapat diaktivasi melalui *Caspase-1*, *Caspase-3* dan *serine protease granzyme B* yang ditambun dalam granula limfosit yang sitotoksik. *Caspase-2* diekspresikan dengan kadar yang tinggi pada susunan saraf pusat, hati dan paru.

➤ *Caspase-3*

Protease ini merupakan enzyme yang memegang peran penting pada eksekusi saat apoptosis terjadi (*Apoptosis-inducible cysteine protease*). *Caspase-3* ini secara in vitro diaktivasi oleh *granzyme B*.

➤ *Caspase-4 dan Caspase-5*

Caspase-4 dan *Caspase-5* merupakan sub-famili dari *Caspase-1*. *Caspase-4* mRNA dapat ditemukan pada sebagian besar jaringan, kecuali jaringan otak. Selain itu, *Caspase-4* dapat juga dideteksi pada paru, hati, indung telur dan plasenta. Sedangkan *Caspase-5* pada mRNA hampir tidak dapat terdeteksi. *Caspase-4* dan *Caspase-5* sangat berbeda dengan *Caspase-1* dalam substrat spesifiknya. *Caspase-4* mungkin berperan dalam aktivasi *Caspase-1*. Ekspresi berlebihan dari *Caspase-4* dan *Caspase-5* akan menimbulkan apoptosis.

➤ *Caspase-6*

Caspase-6 juga merupakan sub-famili dari Ced-3. Ekspresi *Caspase-6* menimbulkan apoptosis, namun tidak semua *Caspase-6* bekerja seperti itu. *Caspase-6* dapat mengaktivasi pro *Caspase-3*, dan sebaliknya. Kedua protease tersebut dapat meningkatkan siklus sel.

➤ *Caspase-7*

Caspase-7 juga termasuk anggota Ced-3, yang mempunyai dua sambungan isoform. Salah satunya dapat melakukan regulasi dari apoptosis. *Caspase-7* banyak diekspresi dalam tubuh, kadarnya yang terendah terdapat dalam jaringan otak. *Granzyme B* mengaktivasi pro *Caspase-7* yang tidak aktif.

➤ *Caspase-8*

Caspase-8 diduga berada pada puncak kaskade apoptosis. *Caspase-8* diaktivasi oleh semua anggota *Caspase* yang lain. Aktivasi tersebut dipicu bersama DED dari FADD, suatu protein adaptor yang berperan dalam sinyal kompleks yang merangsang timbulnya kematian sel. Kompleks tersebut terbentuk bilamana CD95, suatu reseptor sitokin pada permukaan sel, diaktivasi dan mengikat FADD dan *Caspase-8*. Ekspresi berlebih dari *Caspase-8* akan merangsang terjadinya apoptosis. Akan tetapi ko ekspresi dari beberapa isoform akan dapat menghambat kematian sel.

➤ *Caspase-9*

Caspase-9 juga merupakan anggota dari Ced-3, yang berbentuk *mRNA multiple*. In vitro bentuk pro *Caspase-9* diaktivasi oleh *Caspase-3* dan *Granzyme B*.

➤ *Caspase-10*

Enzym ini sama dengan *Caspase-8* dan terdiri dari dua FADD. Semua mRNA-nya ditemukan pada sebagian besar jaringan. Rekombinan dari *Caspase-10* memproses semua *Caspase*. *Caspase-10* terletak di dekat puncak kaskade apoptosis.

p53 adalah suatu protein yang berfungsi dapat menghambat pertumbuhan sel tumor. Hilangnya pelindung terhadap suatu gen, merupakan hal yang dianggap sangat penting dalam timbulnya proses karsinogenesis. Protein *p53* merupakan salah satu protein yang dapat menghentikan untuk sementara proses pembelahan sel. Oleh karena itu diharapkan sel masih dapat memperbaikinya dengan cara

merubah DNA yaitu ke-arrah kelangsungan hidup terus atau diarahkan ke-kematian sel secara apoptosis.

Pemilihan peran *p53* dalam menentukan kearah perbaikan atau kematian sel, mungkin dapat dilaksanakan dengan menentukan nilai ambang kerusakan sel, yang merupakan nilai ambang untuk menentukan arah yang lebih efisien, antara kematian atau perbaikan. Nilai ambang kerusakan, memang berbeda pada setiap sel atau tergantung dimana stadium siklus sel tersebut terjadi kerusakan. *p53* sangat penting pada kerusakan DNA yang terjadi pada saat siklus G1 berhenti yang dimediasi oleh *p21*. *p53* juga cukup berperan dalam penghentian siklus G2, namun tidak merupakan komponen penting.

Jika terjadi kekurangan *p53*, sel tumor tidak mengalami apoptosis, sehingga sel tumor tidak terkendali dan berkembang terus. Mutasi yang terbesar pada *p53* yang terjadi pada tumor manusia terjadi pada DNA Binding Domain. Sehingga diduga bahwa *p53* dapat sebagai mediator yang kuat dalam menekan efek pertumbuhan melalui mekanisme transkrips

Beberapa macam sitokin :

a *Tumor Necrosis Factor (TNF)*

TNF merupakan mediator utama pada respons terhadap bakteri gram negatif dan berperan dalam respons imun bawaan terhadap berbagai mikro-organisme penyebab infeksi yang lain, serta bertanggung jawab atas banyaknya komplikasi sistemik yang disebabkan oleh infeksi berat. Semula TNF

diidentifikasi sebagai mediator untuk nekrosis tumor yang terdapat dalam serum hewan percobaan yang diberi lipo polisakanda.

Ada dua bentuk *TNF*, yaitu *TNF- α* dan *TNF- β* . *TNF- α* diproduksi oleh berbagai jenis sel termasuk makrofag, sel T, sel B dan sel NK. Pembentukannya terjadi akibat respons terhadap rangsangan bakteri, virus dan α sitokin lain, misalnya *GM-CSF*, *IL-1*, *IL-2*, dan *IFN- γ* , kompleks imun, dan komponen komplemen. Sebaliknya, *TNF- β* disekresi oleh sel T, sel B yang teraktivasi. *TNF- β* berada pada permukaan sel bila terikat pada protein transmembran *LT- β* .

TNF- α dahulu dikenal dengan berbagai nama, yaitu *Cachectin*, *Necrosin*, *macrophag sitotoksin* atau faktor sitotoksik. Bersama dengan *IFN- γ* , *TNF- α* bersifat sitotoksik bagi berbagai sel tumor. *TNF- α* juga terbukti merupakan modulator respons imun yang kuat dalam menginduksi molekul adhesi, sitokin lain dan aktivasi neutrofil. *TNF- α* yang diproduksi dalam jangka panjang atau kronik, dengan konsentrasi rendah, dapat menimbulkan *tissue remodeling*.

Selain itu *TNF- α* dapat berfungsi sebagai faktor angiogenesis dengan membenruk pembuluh darah baru, serta dapat berfungsi sebagai faktor pertumbuhan fibroblast (*fibroblast growth factor*, *FGF*), yang mengakibatkan pembentukan jaringan ikat. Jika produksi *TNF* tetap berlanjut, jaringan-jaringan tersebut dapat merupakan jaringan limfoid baru tempat

berkumpulnya sel limfosit B dan limfosit T. Beberapa efek yang dapat terjadi pada TNF ligand dan reseptornya adalah (Wallach, 1999) :

- Efek aktivasi serta membantu proses mitogenik sel terutama dalam sistem hematopoetik
- Menginduksi terjadinya kematian sel.
- Menginduksi respons imun bawaan, terutama dalam proses inflamasi
- Berperan dalam respons imun dan proses organogenesis

TNF- α selain dapat menginduksi terjadinya kematian sel (Wallach, 1999 dan Epstein, 2003) atau *pro-apoptotic agent* (termasuk *FAS, APC-1, Rh-1, ICE* dan *p53*, Epstein, 2003) juga mempunyai beberapa fungsi dalam proses inflamasi sebagai berikut (Rossi, 2001, Oppenheim, 2001) :

- ❖ Meningkatkan peran pro trombotik dan merangsang molekul adhesi dari leukosit serta menginduksi endotel
- ❖ Berperan dalam mengatur aktivasi makrofag dan respons imun dalam jaringan, yaitu merangsang factor pertumbuhan dan sitokin lain.
- ❖ Berfungsi sebagai regulator dari hematopoetik serta ko-mitogen untuk sel T dan sel B serta aktivasi sel neutrofil dan makrofag

Oppenheim (2001) menyatakan bahwa sintesa TNF- α berasal dari propeptida dan kemudian diproses intraseluler, dan karena pengaruh TNF- α *converting enzyme (TACE)* menjadi matang dan kemudian disekresikan. Seperti halnya sitokin lain, dalam waktu yang sama terbentuk 2-3 ikatan TNF- α yang aktif

dengan reseptornya, sebagai akibat adanya *cross link* dari reseptornya, yang kemudian mengirim isyarat atau sinyal ke dalam sel.

Terdapat dua reseptor TNF- α yang telah teridentifikasi, yaitu *TNFR_I* dan *TNFR_{II}*. Pada *TNFR_I*, setiap reseptornya mempunyai *cytoplasmic domain* yang besar dan luas, serta dapat mengirim isyarat melalui jalur *NF- κ B* yang sangat berperan dalam bidang imunologi. Karena itulah *TNFR_I* merupakan mediator utama dari aktivitas TNF- α , sedangkan *TNFR_{II}* hanya sebagai pelengkap.

Selain itu pada *TNFR_I* bagian sitoplasminya mempunyai rangkaian yang terdiri dari 80 asam amino yang disebut dengan *death domain*, yang juga terdapat dalam *FAS* protein (merupakan reseptor dan *FAS-L*). *Death domain* dan *TNFR_I* serta *FAS* akan berikatan dengan ligand masing-masing. Kejadian apoptosis yang akan terjadi akibat ikatan antara TNF dan *TNFR_{II}* serta *FAS* dengan *FAS-L* juga dapat terjadi akibat aktivasi Caspase-8 dengan semua kaskade Caspase-nya.

TNF- α akan mengalami endositosis setelah berikatan dengan ligand. *TNFR_{II}* akan berikatan dengan TNF- α dengan kemampuan 10 kali lipat dibanding dengan reseptor *TNFR_I*.

Reseptor *TNFR_I* dan *TNFR_{II}* ekspresinya dapat ditingkatkan melalui rangsangan terhadap IL-2, sedangkan *IFN- γ* akan merangsang *TNFR_{II}* secara selektif. Adanya aktivasi terhadap sel akan menyebabkan sel segera

melepaskan reseptor $TNF-\alpha$ nya untuk berikatan dengan $TNF-\alpha$ selama merespons inflamasi.

b. *Interleukin – 10*

Interleukin – 10 atau *cytokines synthesis inhibitory factor*, merupakan protein yang larut dan terdiri dari 160 asam amino dengan berat molekul sekitar 18 kD. IL-10 terdiri dari dua ikatan disulfide intra molekul dan bersifat labil. Struktur IL-10 lebih didominasi oleh α helix, serta diduga berasal dari bagian IL-2, IL-4, IFN- β dan IFN- γ . Sekresi sitokin ini berasal dari sel T, sel B, monosit, makrofag, sel mast, sel eosinofil, keratinosit, hepatosit, sel epitel, sel astrosit dll. (Cruse, 1999, Abbas, 1994 dan Petrolani, 1999) IL-10 tidaklah merupakan sitokin yang khusus atau senyawa berasal dari Th_1 dan gambaran ekspresinya lebih menyerupai IL-6 daripada IL-4 atau IL-5. Hampir pada sebagian besar proses inflamasi, golongan sel monosit merupakan sumber terbesar dari IL-10.

IL-10 dapat diinduksi seperti oleh kuman-kuman patogen yang akan mengaktifasi monosit ataupun makrofag, seperti halnya komponen dinding bakteri, parasit intra seluler, jamur, imunodefisiensi pada manusia dan EBV, kondisi stress seluler (hipoksia). Dikatakan pula oleh Petrolani (1999), bahwa sebenarnya TNF α , IL-6, IL-12, IFN, glukokortikoid, adrenalin, prostaglandin E dapat meningkatkan regulasi sintesa IL-10 dari sel makrofag dan sel T.

Contohnya pada Hipoksia, yang merupakan suatu stress seluler bersama dengan sintesa IL-10, karena pada saat ini akan terjadi penambahan produksi

adenosine-purine nukleotida dan oksigen reaktif, yaitu H_2O_2 , dimana akan terjadi peningkatan ekspresi IL-10. Selain itu beberapa hal yang dapat merangsang ekspresi IL-10 adalah cahaya ultra violet, dimana akan terjadi akumulasi IL-10 di dalam keratinosit dan sel makrofag. Di samping itu ada beberapa obat yang meningkatkan produksi IL-10, seperti glukokortikoid, siklosporin, anti psikosis serta anti depresan.

Di lain pihak, obat anti tumor, misalnya telunum akan menghambat regulasi IL-10. IL-10 juga berpengaruh secara langsung terhadap de-aktivasi sel T, dengan cara mencegah keluarnya IL-2, IL-5 dan IL-6 dari sel limfosit T. Selain itu adanya aktivasi yang kronis dari klon sel T, maka IL-10 akan meningkatkan klon dari antigen yang spesifik dengan kapasitas proliferasi yang rendah serta akan memproduksi IL-10 dan TGF- β yang tinggi.

IL-10 juga menunjukkan aktivitas immuno stimulator, dimulai sejak IL-10 meningkatkan proliferasi dan aktivitas sitosolik limfosit T, serta merangsang kemoatraktan. Secara bersamaan dikatakan, bahwa IL-10 dapat merangsang aktivasi sel NK, dan meningkatkan rangsangan IL-2 terhadap proliferasi sel NK, serta sitotoksitas dan pengeluaran sitokin lain. Akhirnya IL-10 merupakan sitokin yang potensial terhadap proliferasi dan faktor diferensiasi terhadap sel limfosit B dalam mempromosikan sintesa dari IgM, IgG dan IgA. Semua peran tersebut merupakan tugas IL-10 dalam meningkatkan regulasi reseptor ekspresi dalam monosit, di samping mempertinggi *antibody-mediated cellular cytotoxicity* (Petroloni, 1999)

IL-10 juga diduga berfungsi sebagai pengontrol proses inflamasi proses alergi. Dugaan ini berdasarkan observasi yang menunjukkan bahwa IL-10 dapat menurunkan regulasi produksi IL-5 oleh sel T. Sementara itu, IL-5 merupakan sitokin yang berperan dalam diferensiasi dan aktivasi fungsi eosinofil, yaitu dengan mengontrol akumulasi eosinofil dalam jaringan yang meradang. Saat ini dinyatakan bahwa eosinofil mengekspresi fungsional *CD40* pada permukaannya dan mengikatnya dengan antibodi yang spesifik (*natural ligand*), untuk memperpanjang kehidupannya.

Dalam konsentrasi yang rendah aktivitas IL-10 hampir sama dengan glukokortikoid, dengan menurunkan ekspresi *CD40* dan mempercepat kematian sel eosinofil, keadaan ini menambalikan peran IL-10 pada resolusi dari inflamasi eosinofilik.

Seperti halnya eosinofil, maka sel mast juga sangat berperan sebagai sel efektor pada respons alergi. Keadaan ini terjadi akibat kemampuannya meningkatkan beberapa sitokin dalam pengerahan sel eosinofil dan aktivasi jaringan target, terutama *IL-3*, *IL-4*, *IL-5*, *GM-CSF* dan *TNF α* , secara langsung maupun tidak langsung.

Walaupun sampai sekarang efek IL-10 terhadap terjadinya *apoptosis* masih *kontroversial*, namun menurut Petralani (1999), IL-10 dapat memperbesar harapan hidup sel dengan cara meningkatkan protein anti apoptosis Bcl₂.

Epstein (2003) menyatakan pula sesuai dengan yang dinyatakan Petralani bahwa IL-10 merupakan *anti-apoptotic agent* dari sel, disamping itu ada

bahan lain sebagai anti-apoptosis yaitu : *Bcl₂*, *Bcl_{x_l}*, *Bcl-10*, *DAF_q*, *Kit*, *NGF*, *PI3K* dan *Mcl-1* (Epstein, 2003).

c. *Transforming Growth Factor β (TGF-β)*

Pada awalnya, *TGF-β* ditemukan sama halnya dengan faktor pertumbuhan lain, seperti fibroblast yang berperan dalam aktivitas penyembuhan luka. Akan tetapi *TGF-β* selain berperan pada penyembuhan luka, dapat juga berperan sebagai anti proliferasi. Keadaan ini dapat dilihat saat *TGF-β* berperan dalam penurunan regulasi imunias, yang dikatakan sebagai *negative feed-back regulator* (Oppenheim, 2001).

TGF-β diproduksi dan berperan pada sel makrofag, limfosit T dan B serta endotel. Pada manusia, *TGF-β* disekresi dalam tiga bentuk *isoform*, yaitu *TGF-β₁*, *TGF-β₂*, dan *TGF-β₃*, dimana kesemuanya diproduksi karena peran gen yang berbeda. Akan tetapi ketiga isomer tersebut akan berikatan dengan salah satu dari lima tipe sel reseptor yang mempunyai aktivitas tinggi. Reseptor tipe I dan tipe II akan mentransduksikan sinyal atau isyarat, namun sampai saat ini fungsi reseptor tipe III, tipe IV dan tipe V belum jelas (Oppenheim, 2001).

TGF-β merupakan salah satu faktor pertumbuhan yang terdiri dari ± 30 macam protein yang sangat labil dalam melaksanakan fungsinya. Suatu saat *TGF-β* dapat berfungsi sebagai faktor pertumbuhan, namun di lain waktu dapat berfungsi sebagai penghambat ataupun perangsang, serta di saat yang berbeda lagi dapat sebagai protein morfogenetik pada tulang.

TGF- β diekspresikan sebagai protein perintis atau pemula oleh \pm 390 asam amino, yang kemudian diproses oleh enzim protease, sehingga akhirnya menjadi protein yang matang(mature). Di samping *TGF- β* berfungsi sebagai anti proliferasi pada beberapa sel, *TGF- β* juga dapat berfungsi menghambat produksi limfokin dan monokin, serta menghambat pula ekspresi seluler dari *MHC* kelas II dan reseptor IL-1, sementara pada kadar yang rendah, *TGF- β* akan menghambat efek proliferasi dari IL-2 pada sel limfosit T dan sel limfosit B.

Seperti halnya IL-1 terhadap timosit, *TGF- β* juga akan menghambat antibodi yang tergantung dari sel T (*T-cell dependent antibody*) yang disekresi sel limfosit B, menghambat reaksi komplemen dan leukosit, membangkitkan CTL serta menghambat aktivitas sel NK oleh pengaruh IL-2.

Dewasa ini dikenal sub-set baru dari sel *T-helper* yang diberi nama sebagai sel *Th₃*, yang merupakan sel yang sangat penting dan merupakan tempat utama dalam memproduksi *TGF- β* (Oppenheim, 2001). Di samping itu, limfosit *Th₃* ini sangat penting dalam menjaga toleransi antigen yang masuk lewat oral atau mulut. Limfosit *Th₃* memegang peran dan mempunyai fungsi yang sangat unik, karena peran regulator yang dapat menyerupai *Th₁* maupun *Th₂* (Weiner,2001,Conrez,2004). Lebih lanjut dinyatakan bahwa *TGF- β* merupakan sitokin yang imuno-supresif kuat. Namun *TGF- β* cukup berperan dalam aktivitas pro-inflamasi sebagai *kemo-atraktan* untuk sel neutrofil dan monosit, serta dapat meningkatkan ekspresi protein adhesi pada monosit.

Kedua efek tersebut akan tampak jika dilakukan penyuntikan secara langsung TGF- β ke dalam sendi yang sedang meradang akibat adanya *exacerbasi*. Sebaliknya, bilamana dilakukan penyuntikan secara sistemik, TGF- β akan menimbulkan efek anti inflamasi (Oppenheim, 2001)

TGF- β dalam proses peradangan dapat berfungsi ganda yaitu sebagai sitokin *pro-inflammatory* maupun *anti-inflammatory*. Efek pro-inflamasi dapat ditemukan pada peningkatan proses kemotaksis dan monosit dan memperbanyak reseptor T-c, sedangkan efek anti-inflamasinya mencakup deaktivasi dalam produksi makrofag dari oksigen reaktif dan *nitrogen intermediates* serta menghambat proliferasi sel-T, menghambat fungsi sel NK dan limfosit T sitotoksik disamping menghambat regulasi IFN- γ , TNF- α , dan pengeluaran IL-1. (Condeelis, 2004)

Dikatakan pula bahwa sel penghasil TGF- β yang terutama adalah sel limfosit T, sel limfosit B, platelet, plasenta, tulang dan ginjal. Sedang efek TGF- β terhadap sel target dapat berupa (Oppenheim, 2001, Cruse, 1999 dan Pimentel, 1994)

- menghambat proliferasi sel dan produksi limfokin serta sel NK
- menghambat proliferasi sel B dan produksi antibodi
- menghambat replikasi sel hematopoetik
- menghambat aktivasi sel NK
- menghambat proliferasi epitel, sel fetal hepatosit dan endotel
- merangsang proliferasi osteoblast dan kondrosit

- merangsang dan memobilisasi fibroblast dalam penyembuhan luka, fibronektin, matrik ekstra-seluler dan jaringan kolagen serta kolagenase
- merangsang pembentukan dan sekresi *protease inhibitor*
- produksi TGF- β kemungkinan mempunyai korelasi dengan aktivitas mitosis dari sel normal ataupun sel tumor. Sedang produksi utamanya di sel megakarosit
- berperan pada proses *embryogenesis* dan *tissue repair*
- berperan dalam induksi terjadinya apoptosis
- berperan menarik makrofag

Kadar TGF- β dalam plasma berkisar \pm 5 ng/ml. Sedangkan kadar TGF- β_1 paling banyak ditemukan pada platelet, tulang dan limpa. Kadar TGF- β_2 paling banyak ditemukan dalam cairan tubuh seperti halnya cairan akuos, cairan vitreus dan cairan amnion. Jumlah yang signifikan dapat ditemukan dalam matrik ekstra-seluler

Regulasi TGF- β_2 dan TGF- β_3 dipengaruhi oleh " *Hormone Responsive Element* ". Sebaliknya, TGF- β_1 diinduksi secara kuat oleh beberapa sinyal yang berhubungan dengan proses karsinogenesis (Lechleider, 1999), seperti halnya fibro-proliferatif, penyakit karena parasit dan penyakit auto-imunitas serta inflamasi yang menahun. Selain itu TGF- β_1 merupakan satu-satunya isoform dari TGF- β yang kemungkinan dapat disekresi oleh sel hematopoietik maupun sel imun.

Kemampuan TGF- β dalam rangka meregulasi pertumbuhan, tergantung pada sel, serta ada atau tidaknya faktor pertumbuhan yang lain. Selain itu juga dapat meregulasi deposisi dari matrik ekstra-seluler dan perlekatan sel. TGF- β juga merangsang fibronektin, kondroitin dan dermatin sulfat dan proteoglikan, kolagen dan glukoaminoglikan.

TGF- β juga menghambat proliferasi sel sumsum tulang serta menghambat interferon α yang dirangsang atau diaktivasi oleh sel NK, serta bekerja pula sebagai bahan yang menurunkan aktivasi IL-2.

TGF- β menurunkan peran sitokin yang merangsang proliferasi dan aktivasi limfosit T. TGF- β juga menghambat diferensiasi sel T perintis ke arah limfosit T sitotoksik, sedang kebalikannya, kemungkinan TGF- β mengaktivasi makrofag dengan mencegah perkembangan aktivitas sitotoksik dan pembentukan anion superoksida yang diperlukan dalam efek anti mikrobia.

TGF- β akan mengurangi ekspresi molekul MHC kelas II, di samping juga menurunkan ekspresi reseptor dalam reaksi alergi (Cruse, 1999). Selain itu TGF- β juga memegang peran yang cukup potensial sebagai imunosupresan dalam transplantasi jaringan dan transplantasi organ tubuh. TGF- β juga dapat berperan sebagai anti-inflamasi, karena mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan baik sel T maupun sel B. TGF- β yang juga disebut dengan aktivin, merupakan sitokin yang unik, karena terdiri dari adanya sepasang *cysteine* yang tidak terdapat dalam anggota sitokin yang lain.

Peran TGF- β dalam proses apoptosis (seperti halnya *pro-apoptotic* yang lain yaitu : ICE, Ceramide, Granzyme B, Perforin, Lectin dan Thrombospondin. Vermes, 1997) sangat berhubungan erat dengan adanya enzim endonuklease, dan sangat tergantung pada ion Ca⁺⁺ dan Mg⁺⁺ dalam inti sel. yang kemudian diikuti oleh fragmentasi DNA (Pimentel, 1994), disamping itu Giottanka pada tahun (2004) menyatakan, bahwa pemberian TGF β -₂ akan menimbulkan perubahan morfologi jaringan trabecular meshwork dan menurunkan outflow facility sebesar 27%, sehingga menimbulkan kenaikan tekanan bola mata.



BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka konseptual

Glaukoma sudut terbuka primer merupakan penyakit mata yang ditandai dengan adanya kenaikan tekanan bola mata yang sudah menyebabkan kerusakan dan kelainan diskus optikus serta defek atau penyempitan lapang pandangan, dengan disertai sudut bilik depan bola mata yang terbuka. Namun penyebabnya belum diketahui secara jelas hingga saat ini. Hasil beberapa penelitian melaporkan, bahwa pada glaukoma sudut terbuka primer terdapat pengurangan atau hilangnya sel endotel *trabecular meshwork*. Keadaan ini oleh *Vaughan* dinyatakan sebagai akibat proses degenerasi (tetapi jenis degenerasi tersebut tidak sama dengan proses degenerasi pada proses penuaan). *Hogan dan Zimmerman* (1962), mengatakan bahwa kondisi tersebut merupakan akibat pembengkakan dan sklerosis sel endotel *trabecular meshwork*, sedangkan *Cotran* (1999), menerangkan bahwa penyebab pastinya belum diketahui secara jelas

Selaras dengan pendapat tersebut maka dapat diduga kuat bahwa berkurangnya atau hilangnya sel endotel *trabecular meshwork*, terjadi akibat kematian sel endotel itu sendiri, baik karena jejas letal dari luar (faktor eksternal) atau peran dari dalam sel karena faktor genetik dan beberapa enzim di dalam sel (faktor internal).

Adanya jejas atau injury letal yang berasal dari luar (eksternal) dapat bersifat fisik, kimia, iskemik maupun biologis, sedangkan jejas letal yang

bersifat biologis dapat terjadi pada semua sel dalam tubuh akibat adanya infeksi dan atau inflamasi yang berasal dari invasi mikro-organisme, jamur parasit maupun virus yang terjadi di masa lalu, yang bersifat antigenik dimana akan dapat mengaktifasi APC dan limfosit T. Limfosit T akan mengekspresikan molekul untuk mengikat antigen pada membrannya yang disebut dengan sel reseptor T. Reseptor Limfosit T ini hanya dapat mengenal antigen yang terikat pada protein sel membran yang disebut molekul MHC kelas II. Fungsi utama limfosit T adalah sebagai limfosit T *helper* (Th) dan limfosit T *cytotoxic* (Tc). Limfosit T *helper* ini akan berdiferensiasi menjadi limfosit Th₁, limfosit Th₂, maupun Th₃. Selanjutnya limfosit Th₁ akan dapat memproduksi beberapa sitokin, antara lain IFN- γ , IL-2, dan TNF- α (Theze, 1999) untuk selanjutnya akan menimbulkan lisis sel target atau sel endotel *subcutane intima* dan akhirnya terjadi nekrosis.

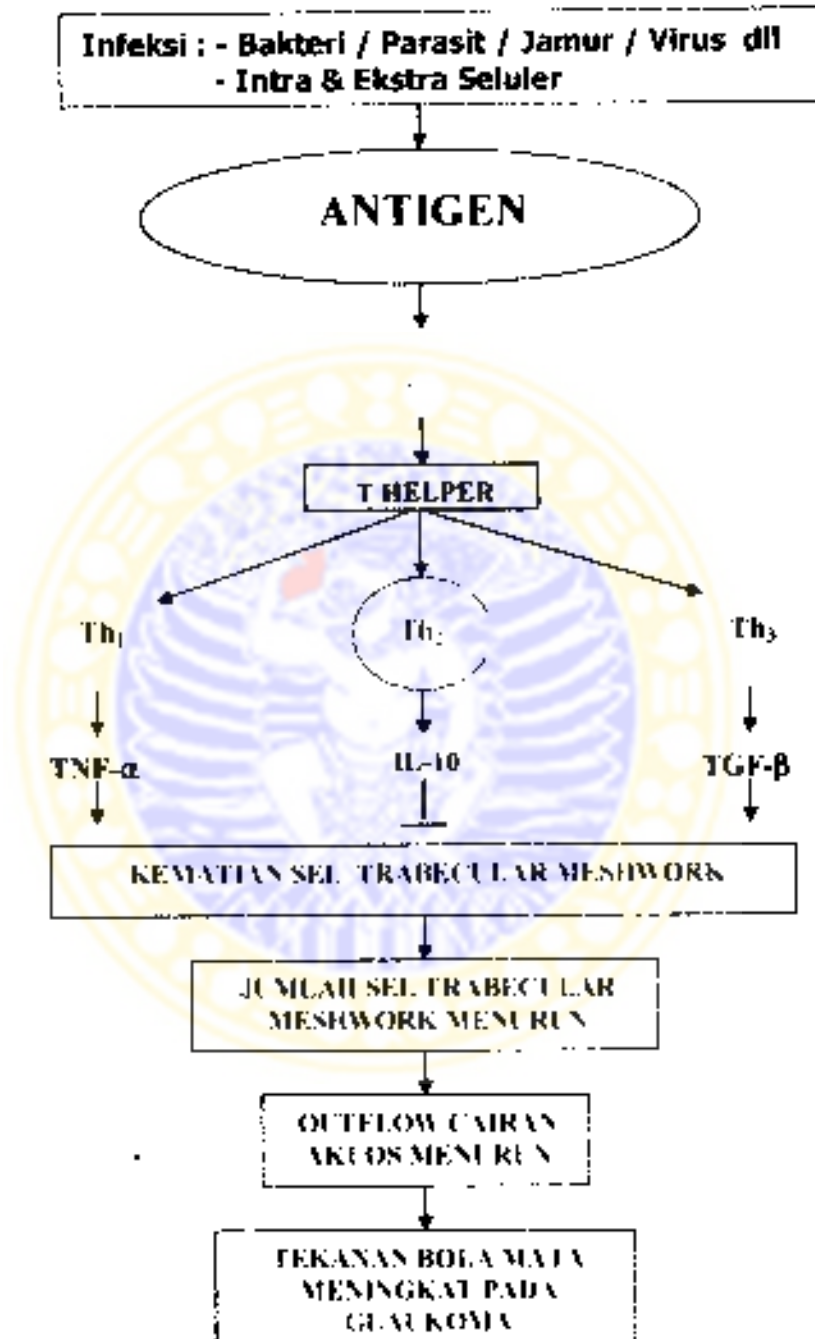
Sementara itu, limfosit Th₂ akan memproduksi IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 dan IL-13 (Theze, 1999). Hampir pada semua proses inflamasi terdapat IL-10 yang berfungsi sebagai anti-inflamasi, dan sebagian besar diproduksi oleh monosit. Menurut *Petrolani* pada tahun 1999, IL-10 dapat meningkatkan harapan hidup sel dengan cara meningkatkan protein anti apoptosis Bcl-2.

Limfosit Th₃ merupakan sumber utama dalam memproduksi sitokin TGF- β (Oppenheim, 2001). Menurut *Combes* (2004) dan *Judajana* (2004), TGF- β merupakan sitokin yang dapat berfungsi ganda, yaitu sebagai sitokin *pro-inflammatory* dan sitokin *anti-inflammatory*. Sementara itu, TGF- β juga mempunyai hubungan yang sangat erat dengan proses apoptosis sel akibat

pengaruh enzim *endonuklease* (Pimentel, 1994). Tripathi pada tahun 1994 menyatakan bahwa pada glaukoma ditemukan kadar *TGF-β* yang lebih tinggi dari orang normal. Kedua pendapat tersebut juga didukung oleh Helge-Luessen (2000), yang menginformasikan bahwa *TGF-β* dan *TGF-β*₁ dapat merangsang peningkatan akumulasi matriks ekstra seluler, *fibroblasta* dan peningkatan enzim *fosfatase transglutaminase*, yang sangat berperan dalam proses kematian sel *apoptosis*.

Ketiga sitokin yang diproduksi oleh limfosit *Th₁*, *Th₂* serta *Th₁₇* adalah TNF- α , IL-10 dan *TGF-β*, yang kesemuanya berperan terhadap kematian sel. Ketiga sitokin tersebut ditemukan dalam cairan akuis dengan kadar yang berbeda dibandingkan dengan orang normal, yaitu kadar yang meningkat pada sitokin sitokin TNF- α dan *TGF-β* serta kadar yang menurun pada sitokin IL-10. Keadaan ini akan berpeluang menimbulkan kematian sel termasuk didalamnya sel endotel *trabecular meshwork*. Kematian sel endotel *trabecular meshwork* mengakibatkan jumlah sel endotel *trabecular meshwork* akan sangat berkurang, serta akan mengakibatkan penurunan *jumlah* cairan akuis yang melewati *trabecular meshwork*, sehingga menyebabkan peningkatan tekanan bola mata.

Kerangka konsep tersebut di atas dapat digambarkan dalam skema sebagai berikut



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan latar belakang masalah, tinjauan pustaka dan kerangka konseptual, diajukan beberapa hipotesis sebagai berikut :

1. Kadar sitokin **TNF- α** dalam cairan akueus penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan peningkatan tekanan bola mata, **lebih tinggi** dibanding kontrol non glaukoma atau katarak dengan normotensi
2. Kadar sitokin **IL-10** dalam cairan akueus penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan peningkatan tekanan bola mata, **lebih rendah** dibanding kontrol non glaukoma atau katarak dengan normotensi
3. Kadar sitokin **TGF- β** dalam cairan akueus penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan peningkatan tekanan bola mata, **lebih tinggi** dibanding kontrol non glaukoma atau katarak dengan normotensi

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis / Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian analitik observasional dengan studi *cross sectional* menggunakan rancangan studi komparatif antara 2 kelompok. Kedua kelompok tersebut terdiri dari kelompok penderita yang memenuhi persyaratan penelitian. Kelompok I adalah kelompok penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata yang meningkat, yang menjalani operasi anti-glaukoma atau trabekulektomi. Kelompok II adalah kelompok penderita non glaukoma, dalam hal ini adalah katarak senilis yang memenuhi syarat penelitian, yaitu yang mempunyai tekanan bola mata normal atau tidak meningkat, yang menjalani operasi katarak. Terhadap kedua kelompok tersebut dilakukan pengambilan cairan bola mata atau cairan akueus sebelum dibuat flap pada trabekulektomi dan sebelum membuka hilik mata depan, tetapi setelah membuat irisan pada *limbus* saat operasi katarak. Selanjutnya, dilakukan pemeriksaan kadar sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β dalam cairan akueus kedua kelompok tersebut.

4.2. Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

4.2.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah semua penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata yang meningkat (tinggi) yang menjalani operasi anti-

b. Kriteria eksklusi

1. Ada tanda klinis glaukoma sudut terbuka primer, tetapi sudut bilik mata depannya lebih kecil dari *Grade 1*.
2. Kelompok I yang tekanan bola matanya < 22 mmHg
3. Penderita glaukoma sudut terbuka primer disertai katarak yang ketebalannya mengganggu pemeriksaan fundus maupun lapang pandangan, penderita glaukoma atau katarak dengan anamnesa pernah mengalami trauma mata
4. Penderita glaukoma sudut terbuka primer atau katarak senilis yang juga menderita konjungtivitis, keratitis, uveitis, atau glaukoma absolut.
5. Penderita glaukoma sudut terbuka primer dan katarak senilis yang juga menderita tekanan darah yaitu diatas 139/89 dan gula darah puasa > 126 mg% dan 2 jam pp > 140 mg%, serta gangguan hati, ginjal, respon imun, penyakit keganasan.

4.2.2. Sampel penelitian

Sampel penelitian adalah setiap penderita yang akan menjalani operasi anti-glaukoma dan operasi katarak di RS Mata Undaan Surabaya, yang memenuhi syarat penelitian (memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi) sampai sejumlah n tertentu (besar sampel)

Besar sampel ditentukan berdasarkan kecukupan terhadap asumsi analisis data, yaitu besar sampel independen dengan perbedaan *mean* sebagai pengujian kemaknaan. Penghitungan besar sampel dengan menggunakan rumus estimasi *mean* (Walpole, 1985 dan Suroto, 2001), yaitu .

$$n = \frac{(z_{\alpha} + z_{\beta})^2 (\sigma_1^2 + \sigma_2^2)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Keterangan :

n : besar sampel

z_{α} : 1.645 (untuk $\alpha = 0.05$, *the level of significance*)

z_{β} : 0.846 (untuk $\beta = 0.20$, $(1 - \beta) = 0.80$, *the power of test*)

σ_1 : *standard deviation* kelompok I

σ_2 : *standard deviation* kelompok II

μ_1 : *mean* kelompok I

μ_2 : *mean* kelompok II

Patokan tersebut di atas digunakan untuk menentukan besar sampel penelitian minimal yaitu dengan cara melalui penelitian pendahuluan terlebih dahulu, dan menentukan *mean* serta *standard deviation* variabel bebasnya, dan akhirnya dapat ditentukan besar sampel yang diperlukan dalam penelitian ini.

4.2.3. Teknik Pengambilan Sampel :

Pengambilan sampel dilakukan terhadap penderita yang menjalani operasi anti-glaukoma dan operasi katarak di Rumah Sakit Mata Londaan Surabaya yang memenuhi syarat penelitian, selama kurun waktu Januari 2005 sampai besar sampel (" n ") terpenuhi (lebih besar dari besar sampel minimal yang diperoleh melalui penghitungan besar sampel saat penelitian pendahuluan).

4.3. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : adalah kadar TNF- α , IL-10 dan TGF- β dalam cairan akum dari kelompok I dan II.

2. Variabel terganggunya : adalah penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat diatas 22 mmHg dan penderita katarak dengan tekanan bola mata < 22 mmHg, yang keduanya dioperasi.
3. Variabel kendali : adalah tekanan darah, kadar gula darah, sudut beluk mata depan yang terbuka yaitu *Grade I-III* dan *II-III* tekanan bola mata, penggabungan syaraf optik dengan $4-10$ mm² - 10×10^3 dan penggabungan lapang pandangan sampai keas glaukoma.

4.4. Bahan Penelitian

Bahan yang diteliti adalah cairan akueus yang diambil dari penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata yang meningkat, serta dari penderita katarak dengan tekanan bola mata yang normal, yang memenuhi persyaratan penelitian ini.

Untuk menentukan kadar sitokin dalam cairan akueus tersebut, digunakan reagen *Innovation On The Move* (human TNF- α kit) dengan *BMS 22337*, *11-19* (*BMS 21212*) dan *TGF- β 1* (*BMS 2231*), buatan *Bender MedSystems*. Reagen ini adalah reagen untuk keperluan riset.

4.5. Instrumen Penelitian

Selengkapnya penelitian dilakukan di laboratorium Patologi Klinik FK UNMIR/RSM Dr Soetomo Surabaya, dengan cara *ELISA sandwich* menggunakan alat merk *Organo*.

4.6. Lokasi dan Waktu Penelitian

4.6.1. Lokasi penelitian

- Rumah Sakit Mata "Undaan" dan RSU Dr. Soetomo Surabaya.
- Laboratorium Patologi Klinik FK UNAIR / RSU Dr. Soetomo Surabaya

4.6.2. Waktu Penelitian

Seluruh tahapan penelitian dilakukan mulai bulan Januari 2005 sampai dengan Januari 2006.

4.7. Prosedur pengambilan atau pengumpulan data

4.7.1 Prosedur pengambilan data

Pengumpulan data (pengambilan cairan akuos) dilakukan atas kerjasama dengan dokter spesialis mata di Rumah Sakit Mata UNDAAN Surabaya.

➤ Pengambilan cairan akuos :

Cairan akuos yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dengan cara :

a. Kelompok I:

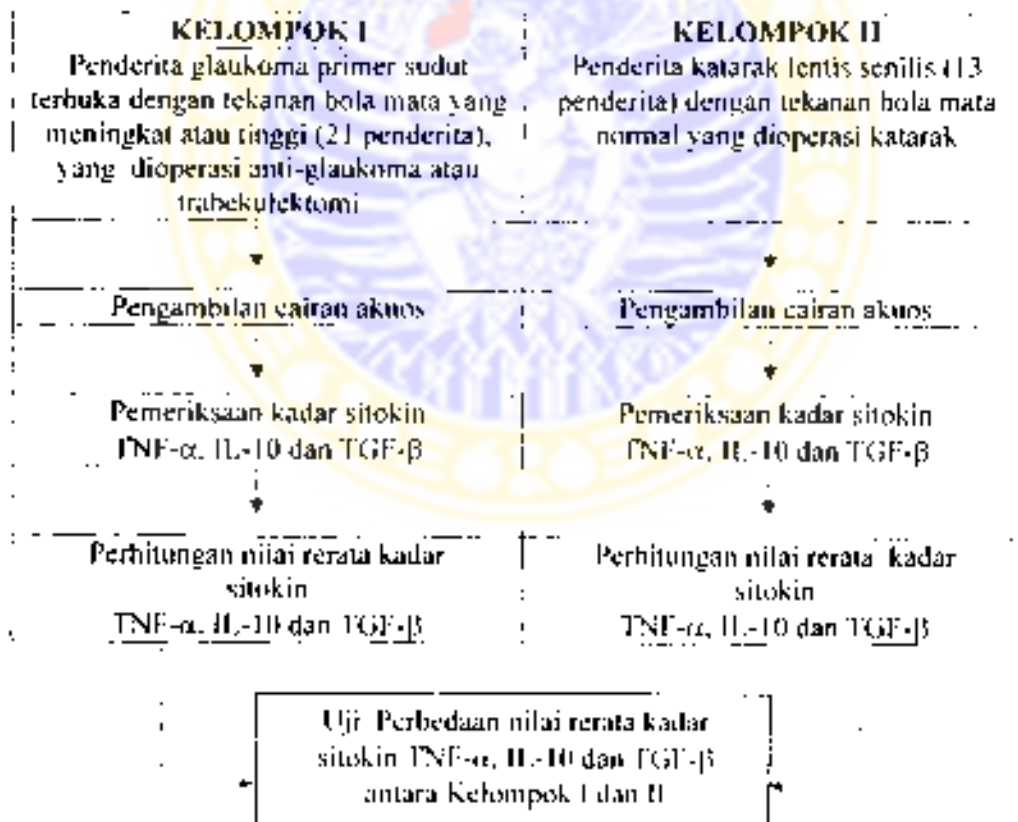
Cairan akuos kelompok I (penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat) diperoleh pada saat operasi anti glaukoma melalui aspirasi dengan menggunakan jarum suntik tuherkulin 1cc ke bilik mata depan yang sebanyak 0.50cc dan dilakukan setelah persiapan pembuatan *flap* sklera diselesaikan, namun sebelum jaringan trabekulum dipotong dan diambil untuk dibuang.

b. Kelompok II :

Cairan akuis kelompok II (penderita Katarak Senilis dengan tekanan bola mata normal) diperoleh pada saat operasi katarak dengan melalui aspirasi dengan menggunakan jarum suntik tuberkulin 1cc ke bilik mata depan sebanyak 0.50cc dan dilakukan sesaat setelah membuat irisan pada *limbus*, sebelum membuka bilik mata depan

- Pemeriksaan kadar sitokin dilakukan di laboratorium Patologi Klinik FK UNAIR / RSU Dr. Soetomo Surabaya.

4.7.2. Kerangka Operasional Penelitian :



Gambar 4.1 Kerangka Operasional Penelitian

4.7.3. Pengambilan, Penyimpanan & Pemeriksaan Sampel Cairan Akuos

◆ Pengambilan

- Sampel Cairan Akuos diambil dari penderita (berumur di atas 40 tahun) :
 - ✓ Glaukoma sudut terbuka primer, yang dioperasi anti glaukoma
 - ✓ Katarak lentis, yang dioperasi ekstraksi lensa
- Pengambilan cairan akuos dengan menggunakan jarum suntik tuberkulin (1 cc) steril dari bilik mata depan sebanyak 0.5 cc
 - Untuk Glaukoma, diberi tanda dengan spidol merah
 - Untuk Katarak tanpa tanda

◆ Penyimpanan

Segera setelah itu, sampel cairan akuos (Glaukoma dan Katarak) dibawa dan diserahkan (dengan menggunakan termos es) kepada petugas di **LUTBANG Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo di lantai II**, agar dapat segera dilakukan pemusingan atau sentrifusi dengan 3.500 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C, kemudian diambil supernatannya serta dimasukkan ke dalam tabung yang telah ditentukan untuk disimpan pada suhu - 20°C sambil menunggu kit reagen datang.

◆ Pemeriksaan

TNF- α

Untuk pemeriksaan sitokin TNF- α digunakan cara *Elisa-Sandwich*. Reagen yang dipakai adalah : *Human TNF- α Elisa* buatan *BenderMedSystems dengan katalog BMS 2233*. Asai ini menggunakan teknik *immunoassay enzim sandwich*. Antihadi monoklonal yang spesifik

terhadap $\text{TNF-}\alpha$ ditempatkan ke dalam "microplate" Standar, sampel dan *conjugate* dimasukkan dengan menggunakan pipet ke dalam well. $\text{TNF-}\alpha$ yang ada di-*sandwich* oleh antibodi yang diimmobilisasi serta *enzyme-linked polyclonal antibody* yang spesifik untuk $\text{TNF-}\alpha$.

Setelah pencucian untuk membuang substansi yang *unbound* atau tak terikat dan atau reagen enzim antibodi, larutan substrat ditambahkan ke dalam well, dan akan timbul warna yang proposional dengan jumlah $\text{TNF-}\alpha$ yang terikat. Pembentukan warna kemudian dihentikan dan intensitas warna diukur.

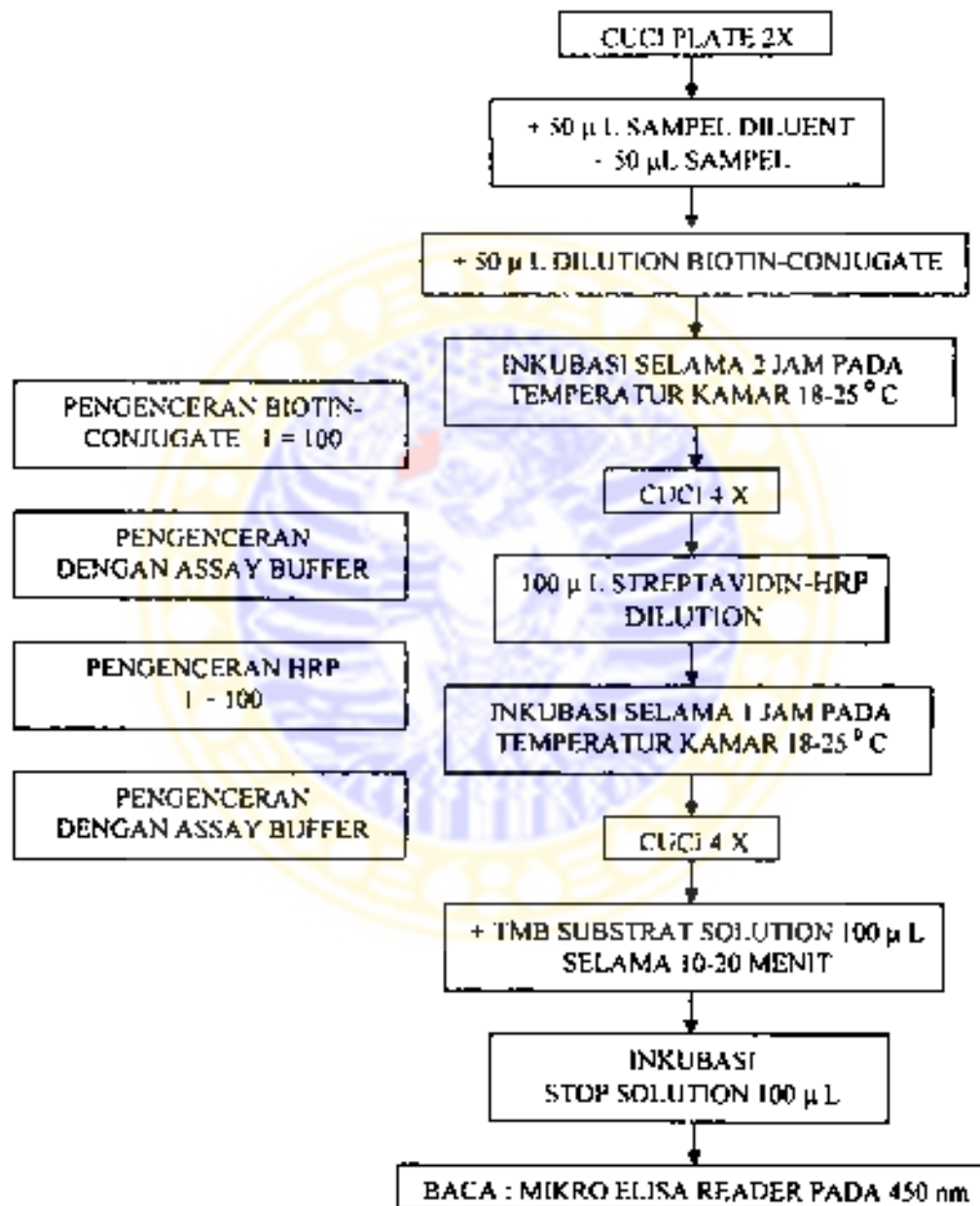
Reagen yang disiapkan :

1. 1 (satu) sumuran Polisterene dengan *microwell plate* dilapisi dengan *polyclonal antibody* terhadap human $\text{TNF-}\alpha$
2. 1 (satu) vial (100 μL) *Biotin-Conjugate anti TNF-}\alpha* antibodi monoklonal (*murine*)
3. 2 (dua) vial $\text{TNF-}\alpha$ standar, (*lyophilized*, 1 ng/ml yang telah tersusun
4. 1 (satu) vial (150 μL) *streptavidin-HRP*
5. 1 (satu) vial dengan kontrol rendah
6. 1 (satu) vial dengan kontrol tinggi
7. 1 (satu) botol (12 ml) *Sample Diluent (Protein Matrix)*
8. 1 (satu) botol (50 ml) *Wash Buffer Concentrate 20 x* (PBS dengan 1% *Tween 20*)
9. 1 (satu) vial (5 ml) *Assay Buffer Concentrate 20 x* (PBS dengan 1% *Tween 20* dan 10% *BSA*)
10. 1 (satu) vial (7 ml) *Substrate Solution I (tetramethyl-benzidine)*
11. 1 (satu) vial (7 ml) *Substrate Solution II (0.02% buffered hydrogen peroxide)*
12. 1 (satu) vial (12 ml) *Stop Solution (1 M Phosphoric Acid)*
13. 1 (satu) vial (masing-masing 0.4 ml) untuk *Blue-Dye Green-Dye, Red-Dye*

14. 4 (empat) *adhesive Plate Cover* (penutup yang berpegas)

15. Label untuk Reagen

Terlebih dahulu kurva standar $\text{TNF-}\alpha$ ditentukan.



Gambar 4.2 Prosedur Asai untuk menentukan kadar sitokin $\text{TNF-}\alpha$

IL-10

Untuk pemeriksaan sitokin **IL-10** digunakan cara *Elisa-Sandwich*. Reagen yang dipakai adalah *Human IL-10 Elisa* buatan *BenderMedSystems* dengan katalog *BMS 215/2*. Asai ini menggunakan teknik *immunoassay enzyme sandwich*. Antibodi monoklonal yang spesifik terhadap **IL-10** ditempatkan ke dalam "microplate" Standar. sampel dan *conjugate* dimasukkan dengan menggunakan pipet ke dalam well. **IL-10** yang ada di-*sandwich* oleh antibodi yang diimobilisasi serta *enzyme-linked polyclonal antibody* yang spesifik untuk **IL-10**.

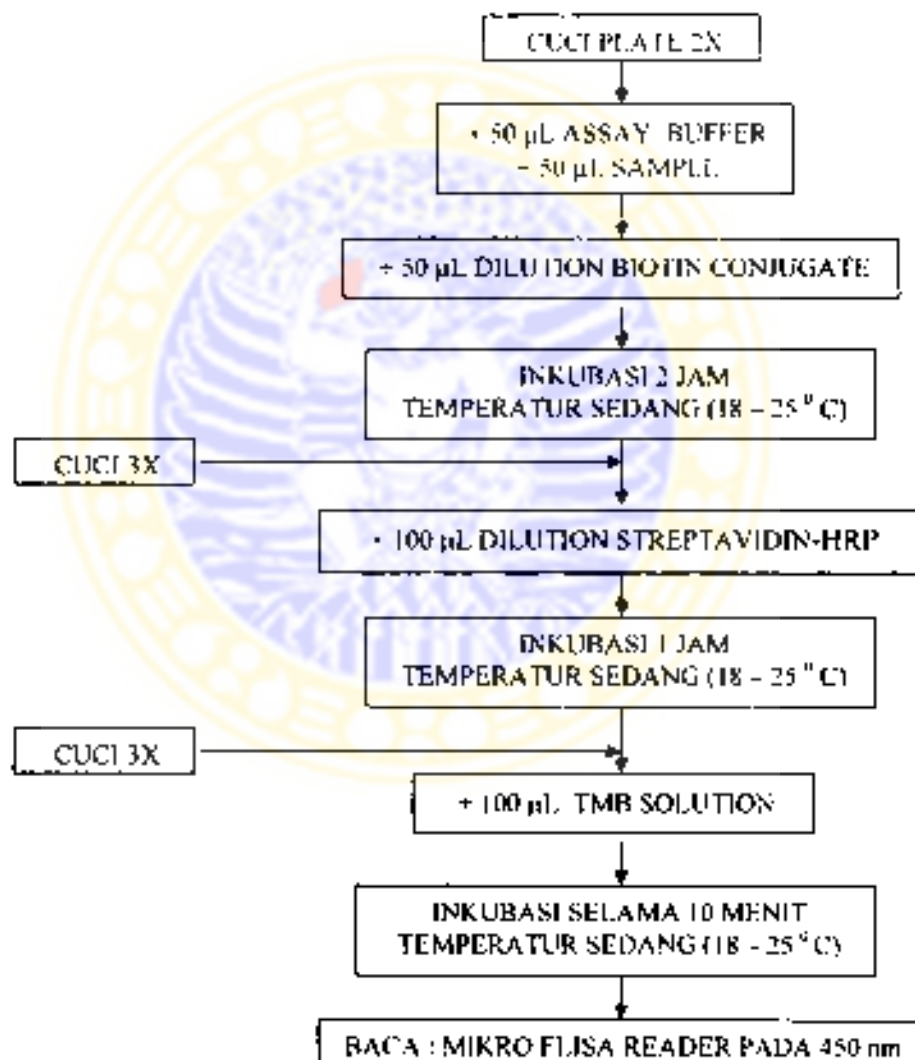
Setelah pencucian untuk membuang substansi yang *unbound* atau tak terikat dan atau reagen enzim antibodi, larutan substrat ditambahkan ke dalam well, dan akan timbul warna yang proposional dengan jumlah **IL-10** yang terikat. Pembentukan warna kemudian dihentikan dan intensitas warna diukur.

Reagen yang disiapkan :

1. 1 (satu) sumuran Polisterene dengan *microwell plate* dilapisi dengan antibodi monoklonal terhadap **IL-10**
2. 1 (satu) vial (100 μ L) *Biotin-Conjugate anti IL-10* antibodi monoklonal
3. 1 (satu) vial (150 μ L) *streptavidin-HRP*
4. 2 (dua) vial **IL-10** Standar (100 pg), *lyophilized*; sudah diatur oleh *International Reference Standard* (NBSB 92/516)
5. 1 (satu) vial *lyophilized positive control*
6. 1 (satu) botol *Wash Buffer Concentrate* 20 x (PBS dengan 1 % *Tween* 20)
7. 1 (satu) vial (5 ml) *Assay Buffer Concentrate* 20 x (PBS dengan 1 % *Tween* 20 dan 10 % BSA)
8. 1 (satu) vial (7 ml) *Substrate Solution I* (tetramethyl-benzidine)

9. 1 (satu) vial (7 ml) *Substrate Solution H* (0.02 % buffered hydrogen peroxide)
10. 1 (satu) vial *Stop Solution* (1 M Phosphoric acid)
11. 1 (satu) vial (masing-masing 0.4 ml) untuk *Blue*, *Green* dan *Red-Dye*
12. 4 (empat) *adhesive Plate Cover* (penutup yang berperekat)
13. Label untuk Reagen

Terlebih dahulu kurva standar IL-10 ditentukan.



Gambar 4.3 Prosedur Assai untuk menentukan kadar sitokin IL-10

TGF- β

Pemeriksaan sitokin TGF- β digunakan cara *Elisa-Sandwich*, dengan reagen *Human TGF- β Elisa* buatan *BenderMedSystems* dengan catalog *BMS 254*. Asai ini menggunakan teknik *immunosasat enzim sandwich*. Antibodi monoklonal yang spesifik terhadap TGF- β ditempatkan ke dalam *microplate*. Standar, sampel dan *conjugate* dimasukkan dengan menggunakan pipet ke dalam well. TGF- β yang ada di-*sandwich* oleh antibodi yang diimobilisasi serta *enzym-linked polyclonal antibody* yang spesifik untuk TGF- β .

Setelah pencucian untuk membuang substansi yang tidak terikat dan atau reagen enzim antibodi, larutan substrat ditambahkan ke dalam well, dan akan timbul warna yang proposional dengan jumlah TGF- β yang terikat. Pembentukan warna kemudian dihentikan dan intensitas warna diukur.

Reagen yang disiapkan :

1. 1 (satu) sumuran Polisterene dengan *microwell strips* (8 x 12 wells) dilapisi dengan antibodi terhadap *human TGF- β* .
2. 1 (satu) vial *Biotin-Conjugate* antibodi monoklonal (*mouse*) terhadap TGF- β , 11 ml
3. 1 (satu) vial *streptavidin-HRP conjugate*, 11 ml
4. 1 (satu) vial TGF- β Standar, 1000 pg/ml, 2 ml
5. 1 (satu) vial **N HCl** (*pretreatment of samples*)
6. 1 (satu) vial (2 ml) **NaOH** (*pretreatment of samples*)
7. 1 (satu) botol (30 ml) *Wash Buffer Concentrate* 40 x
8. 1 (satu) botol (10 ml) *Assay Buffer* (10 x *Concentrated*)

yang diukur menggunakan teknik *ELISA-sandwich*, dan dinyatakan dengan satuan pg/ml.

6. Peran sitokin merupakan kontribusi sitokin dalam membedakan keadaan tekanan bola mata meningkat pada glaukoma sudut terbuka primer dengan non glaukoma atau katarak dengan tekanan bola mata normal. Peran sitokin ini diamati dengan analisis statistik regresi dan beda kedua mean dengan t test, menggunakan program SPSS-12.
7. Sudut bilik mata depan diperiksa dengan gonioskopi menurut *Shaffer (Lasegang, 2003)* :
 - a. *Grade IV* : jika sudut antara iris dan *trabecular meshwork* sebesar 45°
 - b. *Grade III* : jika sudut antara iris dan *trabecular meshwork* antara 20° - 45°
 - c. *Grade II* : jika sudut antara iris dan *trabecular meshwork* adalah 20° : *possible* menutup
 - d. *Grade I* : jika sudut antara iris dan *trabecular meshwork* adalah 10° : *probable* menutup
 - e. *Sh1* : jika sudut antara iris dan *trabecular meshwork* kurang dari 10° : seringkali menutup
 - f. *Grade 0* : jika sudut antara iris dan *trabecular meshwork* menempel, sudutnya tertutup

4.8. Cara pengolahan dan analisis data

Berdasarkan data yang diperoleh kemudian dilakukan analisis statistik dengan Uji beda kedua *mean* dengan "*t*" *test* untuk membuktikan perbedaan rerata kadar sitokin antar kelompok, dengan menggunakan program SPSS –12.

4.9. Etika Penelitian

Aspek etik penelitian diselesaikan sesuai dengan kaidah yang berlaku melalui "*ethical clearance*" dari komite Medik Rumah Sakit Mata Unjaan Surabaya.



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS

5.1. Penentuan Besar Sampel Penelitian

Setelah melalui penelitian pendahuluan dengan menggunakan sampel berjumlah 3 (tiga) untuk setiap variabel bebas TNF- α , IL-10 dan TGF- β , kemudian dihitung besar sampel minimal yang harus digunakan dalam penelitian ini dengan menggunakan rumus estimasi *mean* (Walpole, 1985 dan Suroto, 2001), yaitu .

$$n = \frac{(z_{\alpha} + z_{\beta})^2 (\sigma_1^2 + \sigma_2^2)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Keterangan :

- n : besar sampel
- z_{α} : 1.645 (untuk $\alpha = 0.05$, *the level of significance*)
- z_{β} : 0.846 (untuk $\beta = 0.20$, $(1 - \beta) = 0.80$, *the power of test*)
- σ_1 : *standard deviation* kelompok I
- σ_2 : *standard deviation* kelompok II
- μ_1 : *mean* kelompok I
- μ_2 : *mean* kelompok II

Besar sampel minimal yang diperoleh untuk setiap variabel bebas TNF- α , IL-10 dan TGF- β , adalah .

$$\begin{aligned} \text{TNF-}\alpha &= 3.6077 && \approx 4 \\ \text{IL-10} &= 0.04638 && \approx 1 \\ \text{TGF-}\beta &= 0.29 && \approx 1 \end{aligned}$$

Di samping itu, dengan mempertimbangkan beberapa hal dalam penentuan besar sampel penelitian ini, yaitu sesuai dengan penelitian *Tripathi, Li dan Chan* (1994), maka besar sampel dalam penelitian ini ditentukan sebesar 7 (tujuh) untuk setiap variabel bebas pada kasus glaukoma (sehingga jumlah sampel 21 penderita) dan kontrol katarak lentis (sejumlah 13 penderita).

5.2. Data dan Rerata Umur & Tekanan Bola Mata

Dengan menggunakan program SPSS versi 12, diperoleh nilai rerata umur untuk pasien yang menjadi sampel penderita glaukoma sebesar 62.05 (standar deviasi 13.385) tahun, dengan umur terendah 41 tahun dan tertinggi 100 tahun (*range* 59 tahun), serta rerata umur sampel penderita katarak sebesar 66.00 (standar deviasi 11.415) tahun dimana umur terendah 42 tahun dan tertinggi 86 tahun (*range* 44 tahun). Dengan menggunakan uji t dapat disimpulkan, bahwa rerata umur sampel penderita glaukoma dibandingkan dengan rerata umur penderita katarak tidak berbeda secara bermakna ($t = -0.906$, $p = 0.372$ (terlampir)

Nilai rerata tekanan bola mata untuk sampel penderita glaukoma adalah 36.1781 (standar deviasi 6.67779) mmHg dengan tekanan terendah 23.09 mmHg dan tekanan tertinggi 50.82 mmHg (*range* 27.73 mmHg), sedangkan nilai rerata tekanan bola mata penderita katarak adalah 15.9550 (standar deviasi 2.01806) mmHg dengan tekanan terendah 12.23 mmHg dan tertinggi 18.86 mmHg (*range* 6.63 mmHg). Dengan menggunakan "uji t" dapat disimpulkan, bahwa nilai rerata tekanan bola mata penderita glaukoma dibandingkan dengan rerata tekanan bola

mata penderita katarak berbeda secara bermakna ($t = 13.015$, $p = 0.000$) (terlampir).

5.3. Data & Rerata kadar variabel bebas TNF- α , IL-10 dan TGF- β

a. TNF- α

Tabel 5.1 memperlihatkan 7 (tujuh) data TNF- α dari kelompok penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat, dan 6 (enam) data TNF- α dari kelompok non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat.

Tabel 5.1. Data, nilai rerata dan Standar Deviasi kadar TNF- α (ng/ml) pada kedua kelompok sampel

No.	Glaukoma / Kasus ($i=1$)	Katarak / Kontrol ($i=2$)
1	2.44	0.49
2	2.44	0.49
3	0	0
4	10.24	0
5	20.49	0
6	15.12	0
7	26.31	
Rerata (\bar{x}_i)	11.0057	0.1633
Standard Deviasi (s_i)	10.07931	0.25303

Dari tabel tersebut diatas ditemukan nilai rerata TNF- α pada glaukoma dengan tekanan bola mata meningkat adalah 11.0057 ng/ml dengan standar deviasi 10.07931 ng/ml, sedangkan nilai reratanya pada kelompok katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat adalah 0.1633 ng/ml dengan standar deviasi 0.25303 ng/ml.

b. IL-10

Dari data variabel bebas IL-10 pada tiap kelompok seperti yang terlihat pada Tabel 5.2, ditemukan nilai rerata kadarnya pada kelompok glaukoma dengan tekanan bola mata meningkat (7 sampel), sebesar 6.8343 ng/ml dengan standar deviasi 2.11976 ng/ml, sedangkan untuk kelompok non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat (7 sampel), nilai rerata kadar IL-10 sebesar 2.6943 ng/ml dengan standar deviasi 0.61196 ng/ml.

Tabel 5.2. Data, nilai rerata dan Standar Deviasi kadar IL-10 (ng/ml) pada kedua kelompok sampel

No.	Glaukoma / Kasus ($i=1$)	Katarak / Kontrol ($i=2$)
1	5.28	2.50
2	5.61	2.01
3	5.42	1.87
4	6.09	3.36
5	7.82	3.41
6	11.23	3.02
7	6.39	2.69
Rerata (\bar{x}_i)	6.8343	2.6943
Standard deviasi (s_i)	2.11976	0.61196

c. TGF- β

Tabel 5.3. Data, nilai rerata dan Standar Deviasi kadar TGF- β (pg/ml) pada kedua kelompok sampel

No.	Glaukoma / Kasus ($i=1$)	Katarak / Kontrol ($i=2$)
1	467.74	320.68
2	509.49	362.43
3	582.62	300.76
4	761.86	288.43
5	876.22	424.10
6	396.58	268.50
7	574.95	569.26
Rerata (\bar{x}_i)	592.7800	362.0229
Standard deviasi (s_i)	168.92823	105.21864

Table 5.3 memperlihatkan nilai rerata kadar TGF- β pada penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat (7 sampel), sebesar 592.7800 pg/ml, dengan standar deviasi 168.9282 pg/ml, sedangkan nilai rerata kadar TGF- β untuk kelompok penderita non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata tidak meningkat atau normal (7 sampel) sebesar 362.0229 pg/ml (standar deviasi 105.21864 pg/ml).

5.4. Analisis dan Hasil Penelitian

Untuk melakukan uji perbedaan antar kedua rerata atau *mean* dari kedua kelompok penelitian, perlu dilakukan terlebih dahulu uji Normalitas data dengan menggunakan Uji *Kolmogorov-Smirnov* dengan $p > 0.05$, untuk menentukan bahwa data variabel bebas setiap kelompok penelitian yang diperoleh berdistribusi normal atau tidak.

5.4.1. Uji Normalitas Data

Tabel 5.4. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Indigulokoma	glaukoma	glaukoma	terbuka	Normal	glaukoma
N		7	7	7	6	7	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	41.0057	6,8343	592.7800	.1633	2,6043	362.0229
	Std. Deviation	10,07931	2,11875	168.92822	.25303	0,1196	105.21864
Most Extreme	Absolute	.231	.297	.256	.407	.164	.224
Differences	Positive	.231	.297	.256	.407	.154	.224
	Negative	-.137	-.234	-.127	-.250	-.147	-.187
Kolmogorov-Smirnov Z		.611	.787	.878	.998	.407	.563
Asymp. Sig. (2-tailed)		.800	.566	.747	.272	.996	.673

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Dari tabel 5.4 dapat ditemukan bahwa dengan pengujian *Kolmogorov-Smirnov* ternyata ketiga variabel bebas pada setiap kelompok uji berdistribusi normal semua, namun karena *mean* TNF- α pada kelompok katarak lentis (0.1633 ng/ml), ternyata lebih kecil daripada standar deviasinya, yaitu 0.25303

ng/ml, maka keadaan tersebut menimbulkan keraguan, walau $p = 0.272$ lebih besar dari 0.05. Oleh karena itu, maka diperlukan uji kesimetrisan dan uji *Kurtosis* untuk menentukan uji statistik berikutnya

5.4.2 Uji Kesimetrisan dan Uji *Kurtosis*

Kedua uji ini diperlakukan terhadap semua variabel bebas penelitian dari kedua kelompok data, yang diperlukan untuk pengujian statistik selanjutnya, yaitu menentukan uji beda rerata variabel bebas antara kelompok glaukoma dengan tekanan bola mata meningkat dibandingkan kelompok non glaukoma atau katarak lensis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat.

Hasil uji kesimetrisan dan uji *Kurtosis* setiap variabel pada kedua kelompok tersebut adalah sebagai berikut (Tabel 5.5)

Tabel 5.5 Descriptive Statistic

	N		Minimum		Maksimum		Mean		Std		Skewness		Kurtosis	
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Std. Error	Statistic	Std. Error
1)glaukoma	7	.00	26.31	11.0057	10.07631	.457	.704	-1.361	1.587					
2)glaukoma	7	5.28	11.23	8.8343	2.11978	1.888	.704	3.539	1.587					
3)glaukoma	7	398.58	878.27	582.7800	88.92823	.648	.704	-2.18	1.587					
4)katarak	6	.00	.49	.1835	.25303	.868	.845	-1.875	1.741					
5)katarak	7	1.87	3.41	2.8943	.61188	-1.195	.704	-1.585	1.587					
6)katarak	7	288.50	569.28	382.0229	205.21884	1.327	.704	2.147	1.587					
Valid N (listwise)	6													

Dari Tabel 5.5 dapat dikatakan, bahwa data variabel dinyatakan Normal jika nilai T untuk uji Simetris dan *Kurtosis* berada dalam rentang nilai -1.96 dan +1.96. Nilai T diperoleh dari pembagian angka kesimetrisan (*Skewness*) dan *Kurtosis* tiap variabel dengan standar *Error*-nya.

Tabel 5.6 Penentuan Kenormalan Data Variabel

	Skewness			Kurtosis			Normal / Tidak Normal
	Statistic	Std. Error	T	Statistic	Std. Error	T	
TnfGlaukoma	0.437	0.794	0.5504	-1.391	1.587	-0.8765	Normal
Il.Glaukoma	1.886	0.794	2.3753	3.539	1.587	2.2299	Tidak Normal
TgfGlaukoma	0.846	0.794	1.0655	-0.216	1.587	-0.1361	Normal
TnfKatarak	0.968	0.845	1.1456	-1.875	1.741	-1.0769	Normal
Il.Katarak	-0.195	0.794	-0.2456	-1.565	1.587	-0.9861	Normal
TgfKatarak	1.527	0.794	1.9232	2.147	1.587	1.3529	Normal

5.4.3 UJI BEDA ANTAR KEDUA RERATA

Uji perbedaan rerata tiap variabel bebas antara dua kelompok, yaitu glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat dibanding non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat, dapat dilakukan setelah hasil uji Simetris dan Kurtosis setiap variabel dari tiap kelompok ditemukan, dengan ketentuan sebagai berikut :

- TNF- α : NORMAL VS NORMAL. Uji : T untuk 2 sampel bebas
- IL- 10 : TIDAK NORMAL VS NORMAL. Uji : *MANN-WHITNEY U*
- TGF- β : NORMAL VS NORMAL. Uji : T untuk 2 sampel bebas

Dan hasilnya dapat ditemukan pada tabel berikut ini (Tabel 5.7 dan Tabel 5.8)

Tabel 5.7 Uji Mann-Whitney UTest Statistics^a

	IL 10
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	28.000
Z	-3.130
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.001 ^a

^a Not corrected for ties

^b Grouping Variable: Kelompok

Tabel 5.8 Independent Sample Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TNF- α	Equal variances assumed	17,374	,002	2,617	11	,024	10,8424	4,14056	1,72462	19,96014
	Equal variances not assumed			2,845	6,005	,029	10,8424	3,81102	1,52046	120,15420
TGF- β	Equal variances assumed	1,446	,252	3,068	12	,010	230,7571	75,22130	-66,26401	184,65028
	Equal variances not assumed			3,068	10,046	,012	230,7571	75,22130	-63,25688	108,25571

Secara keseluruhan hasil Uji Beda Antar Kedua Rerata adalah sebagai berikut :

Tabel 5.9 Uji Beda Antar Dua Rerata

VARABEL	MEAN		STANDAR DEVIASI	
	GLAUKOMA	KATARAK	GLAUKOMA	KATARAK
TNF- α	11,0057	0,1633	10,07931	0,25303
T test	T = 2,845		p = 0,029	
IL-10	6,8343	2,6943	2,11976	0,61196
Mann Whitney	MW = 0		p = 0,001	
TGF- β	392,78	362,02	168,93	105,22
T test	T = 3,068		p = 0,010	

5.4.4 Pengaruh Kadar Variabel Bebas TNF- α , IL-10 dan TGF- β terhadap Tekanan Bola Mata

Dengan menggunakan program SPSS versi 12 dilakukan uji regresi untuk mengetahui pengaruh kadar sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β terhadap tekanan bola mata, pada kedua kelompok.

Uji regresi kadar sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β terhadap tekanan bola mata pada sampel penderita glaukoma menunjukkan pengaruh secara bermakna ($p_{TNF-\alpha} = 0,029$; $p_{IL-10} = 0,006$; $p_{TGF-\beta} = 0,001$) (terlampir). Dari uji yang sama, ditunjukkan bahwa kadar sitokin yang paling berpengaruh terhadap

tekanan bola mata pada penderita glaukoma adalah TGF- β (*standardized coefficients* (β) = 0.949), IL-10 (*standardized coefficients* (β) = 0.901), dan terakhir TNF- α (*standardized coefficients* (β) = 0.804).

Sedangkan uji regresi kadar sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β terhadap tekanan bola mata pada sampel penderita katarak menunjukkan tidak berpengaruh secara bermakna ($p_{TNF-\alpha} = 0.786$; $p_{IL-10} = 0.573$; $p_{TGF-\beta} = 0.080$) (terlampir).

INTERPRETASI :

1. TNF- α

Terdapat perbedaan rerata kadar TNF- α yang secara statistik bermakna antara kelompok penderita glaukoma dengan tekanan bola mata meningkat dibanding kelompok non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat. Rerata kadar TNF- α pada kelompok glaukoma (11.0057 ng/ml dan standar deviasi 10.07931 ng/ml) lebih tinggi dibanding kelompok non glaukoma atau katarak lentis (0.1633 ng/ml dan standar deviasi 0.25303 ng/ml) dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat ($t = 2.845$; $p = 0.029$)

2. IL-10

Terdapat perbedaan rerata kadar IL-10 yang secara statistik bermakna antara kelompok penderita glaukoma dengan tekanan bola mata meningkat dibanding kelompok non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat. Pada kelompok glaukoma rerata kadar IL-10 (6.8343

ng/ml dan standar deviasi 2.11976 ng/ml) lebih tinggi daripada kelompok non glaukoma atau katarak lentis (2.6943 ng/ml dan standar deviasi 0.61196 ng/ml) dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat (M_W = 4; p = 0.001)

3. TGF- β

Terdapat perbedaan rerata kadar TGF- β yang secara statistik bermakna antara kelompok penderita glaukoma dengan tekanan bola mata meningkat dibanding kelompok non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat. Pada kelompok glaukoma rerata kadar TGF- β (592.78 pg/ml dan standar deviasi 168.92822 pg/ml) lebih tinggi daripada kelompok non glaukoma atau katarak lentis (362.0229 pg/ml dan standar deviasi 105.21864 pg/ml) dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat (t = 3.068; p = 0.010)

4. Pengaruh Kadar Sitokin

Pada penderita glaukoma sudut terbuka primer, kadar sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β secara statistik berpengaruh secara bermakna ($p_{TNF-\alpha} = 0.029$; $p_{IL-10} = 0.006$; $p_{TGF-\beta} = 0.001$) terhadap tekanan bola mata. Pengaruh terbesar adalah TGF- β (*standardized coefficients* (β) = 0.949), diikuti oleh IL-10 (*standardized coefficients* (β) = 0.901) dan TNF- α (*standardized coefficients* (β) = 0.804). Sementara pada penderita katarak, kadar sitokin TNF- α (p = 0.786 dan t = 0.290), IL-10 (p = 0.573 dan t = 0.602) dan TGF- β (p = 0.080 dan t = -2.191), secara statistik tidak berpengaruh secara bermakna terhadap tekanan bola mata.

BAB 6

PEMBAHASAN

Sampai saat ini, perhatian terhadap penanganan dan pengobatan pada penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat, selalu ditujukan terhadap usaha dalam menurunkan tekanan bola mata yang terjadi pada glaukoma sudut terbuka primer. Sementara itu, menurut *Liesegang (2003)* dan *Goldberg (2003)*, glaukoma adalah suatu neuropati optik glaukomatosa dan gangguan lapang pandangan, sedangkan kenaikan tekanan bola mata merupakan faktor resiko utamanya. Jenis penanganan dan pengobatan terhadap penderita glaukoma sudut terbuka dengan tekanan bola mata meningkat tersebut dipilih, karena hanya tekanan bola mata yang dapat dimanipulasi dengan pemberian obat ataupun tindakan operasi, sementara untuk gangguan neuropati optik glaukomatosa dan gangguan lapang pandangan lebih sukar atau bahkan tidak memungkinkan untuk dimanipulasi.

Memang sudah banyak diketahui bahwa peningkatan tekanan bola mata merupakan faktor resiko utama pada penderita glaukoma sudut terbuka primer, namun penanganan dan pengobatan serta tindakan operasi yang bertujuan untuk menurunkan tekanan bola mata sampai optimal, sampai saat ini hasilnya belum atau kurang memuaskan, bahkan kerusakan pada papil syaraf optik dan gangguan lapang pandangan semakin bertambah dan akhirnya mengalami kebutaan.

Sebenarnya, beberapa peneliti telah menyatakan bahwa pada glaukoma sudut terbuka primer, terjadi pengurangan sel endotel *trabecular meshwork*

(Lujan-Drecoll dan Rohen, 1994), namun penyebab pengurangan sel endotel *trabecular meshwork* belum diketahui dengan jelas (Cotran, 1999).

Seperti telah disampaikan, bahwa menurut Liesegang (2003) dan Goldberg (2003), glaukoma adalah suatu neuropati optik glaukomatosa dan gangguan lapang pandangan, sedangkan kenaikan tekanan bola mata merupakan faktor resiko utama. Sementara itu Quikley (1998), mengatakan bahwa mekanisme terjadinya neuropati optik glaukomatosa masih belum diketahui secara jelas, namun diduga beberapa keadaan yang dapat mendasari kelainan tersebut adalah akibat tekanan mekanik secara langsung, gangguan vaskuler, gangguan molekuler dan kemungkinan akibat mekanisme oksitoksisitas (kematian sel ganglion retina akibat peningkatan kadar asam glutamat). Kerusakan papil syaraf optik tersebut akan menimbulkan gangguan pada lapang pandangan. Oleh karena itu para peneliti cenderung mengarahkan penelitiannya pada usaha penurunan kenaikan tekanan bola mata yang merupakan faktor utama pada glaukoma sudut terbuka primer. Bilamana tekanan bola mata sudah menurun, dapat diharapkan memperlambat atau bahkan tidak menambah kerusakan papil syaraf optik akibat mekanisme tekanan langsung pada papil.

Sementara itu dalam penelitiannya, Tripathi (1994) menyatakan bahwa pada mata yang mengalami glaukoma terdapat peningkatan kadar TGF- β_2 dalam cairan akuosnya. Uccan (2004), menyatakan bahwa peningkatan kadar TGF- β_2 dalam cairan akuos penderita glaukoma sudut terbuka primer memegang peranan dalam patogenesis dari glaukoma. Disamping itu Inatani, dkk (2001), mengatakan bahwa peningkatan kadar TGF- β_2 mengindikasikan peran penting TGF- β_2

dalam mekanisme terjadinya glaukoma sudut terbuka primer. *Welge-Luessen* (2000), juga menyampaikan bahwa kenaikan kadar TGF- β_1 dan TGF- β_2 dalam cairan akuos akan meningkatkan ekspresi dan aktifitas enzim *tissue-Transglutaminase* serta *Fibronectin* dalam sel endotel trabekuler meshwork, yang mengakibatkan kematian sel tersebut. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa mekanisme tersebut sangat berperan dalam peningkatan hambatan outflow cairan akuos yang melewati *trabecular meshwork* ke kanal *Schlemm*. Keadaan tersebut sesuai dengan hasil penelitian *Lutjen-Drecoll* (1994) yaitu bahwa pada pemeriksaan bahan trabekulektomi penderita glaukoma sudut terbuka primer, ditemukan peningkatan bahan ekstra seluler dan penurunan jumlah sel endotel *trabecular meshwork* yang mengganggu dan menghambat outflow cairan akuos ke kanal *Schlemm*, dan berakibat pada kenaikan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer. *Gottanka* (2004) mendukung semua pernyataan para peneliti diatas, yaitu bahwa pemberian TGF- β_2 akan merangsang perubahan *outflow facility* dan morfologi jaringan trabekulum yang berakibat menurunnya *outflow* lewat *trabecular meshwork*, sehingga terjadi hipertensi okuler pada glaukoma sudut terbuka primer.

Sementara itu diketahui bahwa semua penelitian yang telah dilakukan tersebut hanya meneliti sitokin TGF- β_2 , serta juga tidak menerangkan bagaimana proses produksi sitokin TGF- β_2 sehingga kadarnya meningkat dalam cairan akuos penderita glaukoma sudut terbuka primer. Oleh karena itu penelitian ini mengutarakan konsep baru yang ingin menunjukkan proses produksi sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β , sampai peningkatan kadarnya dalam cairan akuos

dan perannya terhadap peningkatan tekanan bola mata pada penderita glaukoma sudut terbuka primer.

Berdasarkan penemuan-penemuan tersebut, untuk memperjelas penyebab atau mekanisme berkurangnya sel endotel *trabecular meshwork*, penelitian ini dilakukan melalui pendekatan imunologis, yang melibatkan dua kelompok sampel, yaitu kelompok glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata yang meningkat dan kelompok non glaukoma, dalam hal ini adalah katarak lentis dengan tekanan bola mata yang normal atau tidak meningkat

Sebenarnya yang ideal, penelitian yang dipilih adalah jenis penelitian longitudinal pada seseorang yang memiliki faktor resiko terjadinya glaukoma sudut terbuka primer sampai orang tersebut menjadi penderita glaukoma sudut terbuka primer. Selanjutnya setiap fase atau setiap rentang waktu tertentu kadar sitokinya diukur sampai dilakukan tindakan operasi. Mengingat keterbatasan yang ada, di antaranya waktu penelitian menjadi tidak terbatas, serta teknis pengambilan cairan akuos pada mata orang sehat secara etik tidak dimungkinkan untuk dikerjakan, maka jenis penelitian ini tidak dipilih.

Oleh karena itu, untuk mendapatkan sampel yang sesuai dengan perjalanan penyakit dan dapat diperiksa cairan akuosnya, maka diambil sampel secara *cross-sectional* atau sesaat, dengan subyek penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat yang menjalani operasi anti glaukoma sebagai kelompok kasus, serta kelompok kedua adalah penderita non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat yang menjalani operasi katarak sebagai kelompok kontrol.

Mengingat keterbatasan volume cairan akueus pada setiap individu, maka pengambilan sampel pada setiap penderita hanya dilaksanakan sebanyak 0.5 cc saja, sehingga pengambilan sampel pada setiap penderita tidak dapat dilakukan untuk tiga jenis sitokin sekaligus, tetapi hanya dilakukan untuk mengambil satu jenis sitokin saja, kecuali untuk pemeriksaan TNF- α dan IL-10 pada penderita katarak, satu penderita untuk dua macam sitokin tersebut. Dari data penelitian diperoleh nilai rerata kadar ketiga jenis sitokin pada kelompok kasus mempunyai kadar yang berbeda daripada nilai reratanya pada kelompok kontrol untuk jenis sitokin yang sama.

Dari penelitian dan uji beda antara dua nilai rerata untuk masing-masing variabel bebas (sitokin), terlihat bahwa terdapat perbedaan rerata pada kadar TNF- α , IL-10 maupun TGF- β yang secara statistik bermakna antara kelompok penderita glaukoma dengan tekanan bola mata meningkat dibanding kelompok non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat. Keadaan ini menunjukkan, bahwa kadar TNF- α , IL-10 dan TGF- β pada penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat, berbeda daripada kadar sitokin tersebut pada penderita kelompok kontrol (non glaukoma/katarak lentis dengan tekanan bola mata normal/tidak meningkat).

Dalam penelitian ini ditunjukkan pula bahwa kadar sitokin pada penderita glaukoma sudut terbuka primer, baik TNF- α ($p = 0.029$ dan $t = 3.028$), IL-10 ($p = 0.006$ dan $t = 4.631$) maupun TGF- β ($p = 0.001$ dan $t = 6.745$), secara statistik berpengaruh secara bermakna terhadap tekanan bola mata. Pengaruh terbesar

ditemukan pada TGF- β (koef. $\beta = 0.949$), diikuti oleh IL-10 (koef. $\beta = 0.901$) dan terakhir TNF- α (koef. $\beta = 0.804$). Dari hasil penelitian tersebut dapat dikatakan bahwa ketiga sitokin tersebut, yaitu TNF- α , IL-10 dan TGF- β , berperan secara signifikan terhadap kenaikan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer. Kenyataan tersebut menimbulkan harapan, bahwa suatu saat dimasa mendatang dapat ditemukan atau diproduksi suatu bahan bersifat anti ketiga sitokin tersebut (TNF- α , IL-10 dan TGF- β), yang diharapkan dapat menghambat laju peningkatan tekanan bola mata pada penderita glaukoma sudut terbuka primer, sehingga manfaat praktis dari penelitian ini, yaitu optimalisasi pengobatan terhadap peningkatan tekanan bola mata, akibat peningkatan kadar sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β dapat tercapai.

Sementara itu pada penderita katarak, kadar ketiga sitokin tersebut (yaitu TNF- α ($p = 0.786$ dan $t = 0.290$), IL-10 ($p = 0.573$ dan $t = 0.602$) dan TGF- β ($p = 0.080$ dan $t = -2.191$)) secara statistik tidak berpengaruh terhadap tekanan bola mata. Berdasarkan hasil uji statistik tersebut di atas, maka pemberian anti sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β pada penderita katarak/orang nonnal dengan tekanan bola mata tidak meningkat atau normal, kemungkinan besar tidak akan berpengaruh terhadap tekanan bola matanya. Pemberian bahan anti TNF- α , anti IL-10 dan anti TGF- β dapat dipertimbangkan, sebagai usaha pencegahan terjadinya kenaikan tekanan bola mata penderita dengan tekanan bola mata normal yang mempunyai faktor risiko terkena glaukoma sudut terbuka primer. Faktor risiko tersebut dapat ditemukan pada seseorang dengan umur di atas 40 th, penderita hipertensi okuler, penderita dengan variasi diurnal tekanan bola mata

yang lebih besar dari normal. kecurigaan terjadinya glaukoma sudut terbuka primer, penderita Diabetes Mellitus, penderita hipertensi arterial, seseorang dengan anamnesa orang tuanya pernah menderita glaukoma sudut terbuka primer, penderita dengan perubahan C/D ratio yang mencolok serta penderita dengan permulaan terjadinya gangguan lapang pandangan yang khas. Melalui pertimbangan tersebut di atas, maka diharapkan usaha pencegahan terhadap terjadinya peningkatan tekanan bola mata, yang merupakan faktor resiko utama terjadinya glaukoma sudut terbuka primer, dapat tercapai.

Kadar TGF- β yang lebih tinggi, pada penderita glaukoma dalam penelitian ini, mendukung pernyataan *Gottanka* (2004), sekaligus memperkuat pendapat beberapa peneliti sebelumnya (*Gottanka* menyatakan bahwa pemberian TGF- β akan merangsang perubahan *outflow facility* dan morfologi jaringan *trabecular meshwork* yang berakibat menurunnya outflow lewat *trabecular meshwork*, sehingga terjadi hipertensi okuler pada glaukoma sudut terbuka primer)

Kadar TNF- α yang lebih tinggi pada penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan peningkatan tekanan bola mata dibanding kadar TNF- α penderita katarak dengan tekanan bola mata normal, menunjukkan adanya kemiripan dengan pernyataan *Wallach* (1990) dan pernyataan *Abbas* (1994). Pernyataan tersebut menyatakan bahwa efek TNF- α antara lain menginduksi terjadinya kematian sel serta menginduksi respon imun bawaan terutama dalam proses inflamasi, sekaligus mempunyai peran terbesar sebagai pengatur mediator imun

dalam proses inflamasi yang dapat mengakibatkan lisis sel target dan akhirnya mengalami nekrosis

Pada penelitian ini, peran TNF- α dalam peningkatan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer secara statistik menduduki peringkat ketiga setelah TGF- β dan IL-10. Peringkat peran TNF- α yang berada di bawah peringkat peran TGF- β merupakan suatu hal yang wajar, karena fungsi TNF- α dalam proses kematian sel biasanya terjadi pada fase akut atau permulaan proses perjalanan penyakit, sedangkan peran TGF- β dalam proses kematian sel terjadi selama proses perjalanan penyakit berlangsung (pengambilan cairan akuis dilaksanakan saat operasi anti glaukoma setelah penderita mendapatkan pengobatan medikamentosa sebelumnya dalam waktu yang cukup lama).

Sementara itu peringkat peran TNF- α terhadap peningkatan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer yang berada di bawah peran IL-10, menarik untuk dicermati. Keadaan tersebut dapat terjadi akibat perjalanan penyakit glaukoma sudut terbuka primer yang kronis, sehingga dalam kondisi seperti ini, peran TNF- α terhadap kematian sel sudah mulai menurun, sementara kadar dan peran IL-10 yang berfungsi anti-inflamasi dan menghambat kematian sel masih cukup tinggi. Kemungkinan lain, hal tersebut dapat terjadi akibat penghambatan peran TNF- α dalam merangsang kematian sel oleh keberadaan IL-10.

Kadar IL-10 yang lebih tinggi pada penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan peningkatan tekanan bola mata, dibanding kadar IL-10 penderita katarak dengan tekanan bola mata normal dalam penelitian ini, menunjukkan

adanya kemiripan dengan pernyataan *Theze* pada tahun 1999, yang menyatakan bahwa selama proses inflamasi ditemukan sitokin IL-10 yang sebagian besar diproduksi oleh monosit. Sehingga peningkatan kadar IL-10 pada penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan peningkatan tekanan bola mata pada penelitian ini, dapat terjadi akibat adanya proses inflamasi pada sel endotel *vascular meshwork*.

Peran IL-10 sebagai anti kematian sel dapat bekerja secara langsung maupun tidak langsung melalui peningkatan peran protein anti-apoptosis *Bcl₂* (*Petrolani, 1999*). Sehingga peran tersebut sesungguhnya cukup kuat untuk menghambat peningkatan tekanan bola mata akibat kematian sel, mengingat bahwa keberadaan IL-10 tetap terjaga selama proses inflamasi berlangsung. Akan tetapi, dalam penelitian ini tetap terjadi kematian sel yang mengakibatkan peningkatan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer, walaupun kadarnya cukup tinggi serta peran IL-10 dalam peningkatan tekanan bola mata berada pada peringkat kedua di bawah *TGF- β* . Keadaan ini kemungkinan diakibatkan karena peran ratio *Bcl₂/Bax* seperti yang dinyatakan oleh *Hockenbery* pada tahun 1990, yaitu bahwa ratio *Bcl₂/Bax* adalah ratio yang sangat menentukan terjadi atau tidaknya kematian sel secara terprogram/apoptosis. Jika ekspresi *Bcl₂* ditemukan dengan kadar yang berlebihan, maka semua protein *Bax* yang tersedia akan diikat oleh protein *Bcl₂*, sehingga proses kematian sel secara terprogram tidak akan terjadi. Tetapi jika ditemukan ekspresi protein *Bax* yang berlebihan, maka semua protein *Bcl₂* yang tersedia akan terikat oleh protein *Bax* yang

mengakibatkan ratio *Bcl2/Bax* menurun, serta proses kematian sel secara terprogram akan meningkat.

Menurut *Hyllie* pada tahun 1995, bahwa penurunan ratio *Bcl2/Bax* dapat disebabkan karena ekspresi *p53* yang akan merangsang ekspresi *Bax* serta menghambat ekspresi *Bcl2*. Di samping itu *Bovsky-Wetzel* pada tahun 1999 menyatakan bahwa ekspresi *Bax* yang berlebihan akan merangsang keluarnya *Cytochrome-C* dari mitokondria dan *Apaf-1* (*Apoptotic Protease Activating Factor-1*) yang sangat berperan dalam peningkatan terjadinya apoptosis melalui kaskade *caspase*-nya.

Dalam penelitian ini, ternyata secara statistik kehadiran IL-10 sebagai anti-inflamasi maupun anti-apoptosis menduduki peringkat kedua dalam proses kematian sel yang menyebabkan peningkatan tekanan bola mata. Sesungguhnya kehadiran IL-10 dapat memperbesar harapan hidup sel, namun dalam penelitian ini masih tetap terjadi peningkatan tekanan bola mata akibat kematian sel. Hal ini memunculkan suatu pemikiran, bahwa kemungkinan telah terjadi

- a. Gangguan fungsi protein anti apoptosis *Bcl2* berupa rendahnya ekspresi *Bcl2* atau kurangnya kadar *Bcl2* pada penderita glaukoma sudut terbuka primer, sehingga secara tidak langsung terjadi gangguan peran IL-10 sebagai anti apoptosis yang menghambat agresifitas kematian sel yang dikendalikan oleh $\text{TNF-}\alpha$ dan $\text{TGF-}\beta$.
- b. Gangguan berupa ekspresi *Bax* yang berlebihan pada penderita glaukoma sudut terbuka primer dibanding orang normal, sehingga semua protein anti apoptosis *Bcl2* yang ada diikat oleh *Bax*.

- c. Gangguan berupa ekspresi p53 yang berlebihan pada penderita glaukoma sudut terbuka primer dibanding orang normal, sehingga merangsang *Bax* yang sangat berperan dalam peningkatan kematian sel.



BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 SIMPULAN

Dengan menggunakan konsep Amggen Limfosit T (T_H1 , T_H2 dan T_H17) - peran sitokin dalam penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut

- a. Terdapat perbedaan rerata kadar TNF- α yang secara statistik bermakna antara kelompok penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata meningkat (lebih tinggi) dibanding kelompok non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat. Hasil penelitian sesuai dengan hipotesis ($t = 2.845$; $p = 0.029$).
- b. Terdapat perbedaan rerata kadar IL-10 yang secara statistik bermakna antara kelompok penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan peningkatan tekanan bola mata (lebih tinggi) dibanding kelompok non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat. Hasil penelitian ini tidak sesuai dengan hipotesis ($t_{hitung} < 0$, $p < 0.001$).
- c. Terdapat perbedaan rerata kadar TGF- β yang secara statistik bermakna antara kelompok penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan peningkatan tekanan bola mata (lebih tinggi) dibanding kelompok non glaukoma atau katarak lentis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat. Hasil penelitian ini sesuai dengan hipotesis ($t = 3.068$, $p = 0.010$).

- d. Dalam penelitian ini ditemukan juga bahwa kadar sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β pada penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan peningkatan tekanan bola mata secara statistik berpengaruh secara bermakna ($p_{IL-10} = 0.029$; $p_{TNF-\alpha} = 0.006$; $p_{TGF-\beta} = 0.001$) terhadap tekanan bola mata
- e. TGF- β mempunyai peran atau pengaruh terbesar (*standardized coefficients* (β) = 0.949), diikuti oleh IL-10 (*standardized coefficients* (β) = 0.901) dan terakhir TNF- α (*standardized coefficients* (β) = 0.804).
- f. Pada penderita katarak dengan tekanan bola mata normal dalam penelitian ini, ditemukan bahwa kadar sitokin TNF- α ($p = 0.786$ dan $t = 0.390$), IL-10 ($p = 0.573$ dan $t = 0.602$) dan TGF- β ($p = 0.080$ dan $t = -2.191$), secara statistik tidak berpengaruh secara bermakna terhadap tekanan bola mata.

7.2 SARAN

Bertolak dari hasil penelitian ini, maka saran yang dapat diusulkan bagi penanganan penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan tekanan bola mata yang meningkat adalah :

- a. Ditemukannya perbedaan kadar sitokin yang secara statistik bermakna bahwa rerata kadar TNF- α , IL-10 dan TGF- β pada kelompok penderita glaukoma sudut terbuka primer dengan peningkatan tekanan bola mata berbeda dibanding dengan kelompok penderita katarak lensis dengan tekanan bola mata normal atau tidak meningkat, diharapkan dapat

digunakan sebagai usaha peningkatan penanganan atau optimalisasi penanganan terhadap peningkatan tekanan bola mata glaukoma sudut terbuka primer.

- b. Melakukan penanganan secara cepat dan tepat jika ditemukan infeksi mata untuk menghindari terjadinya respons inflamasi yang dapat merangsang APC dan limfosit T helper dan sitokin.

7.3 SARAN UNTUK PENELITIAN LEBIH LANJUT

- a. Perlu dikembangkan penelitian lebih lanjut mengenai peran protektif IL-10 pada glaukoma sudut terbuka primer dengan peningkatan tekanan bola mata.
- b. Perlu dikembangkan penelitian lanjutan mengenai jenis antigen yang berperan dalam peningkatan tekanan bola mata pada glaukoma sudut terbuka primer.
- c. Perlu dikembangkan penelitian lebih lanjut tentang fungsi/ekspresi Bcl₂ atau ratio Bcl₂ /Bax serta p53 pada glaukoma sudut terbuka primer dengan peningkatan tekanan bola mata.
- d. Perlu dikembangkan penelitian lebih lanjut tentang peran faktor genetik pada glaukoma sudut terbuka primer.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS (1994). Cytokines In **Cellular and Molecular Immunology**. International edition. WB Saunders Co. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo. p. 246-260
- Abelson MB, Gomes PJ, Schultz C (2001). Cytokines in the Ocular Environment in **Allergic Disease of the Eye** W.B. Saunders Company Philadelphia, London, New York, St.Louis, Sydney, Toronto. p. 83- 89
- Baratawadjaja KKi (2002). Auto immunitas In **Immunologi**: FKUI:Jakarta. 258-272
- Bercozzi J, Nabum LP, Campanelli JL, Rosenstem LB (2002). Effect of Hyaluronic Acid in Intra Ocular Pressure in Rat. **Investigative Ophthalmology J and Visual Science**: 43 : 2196 - 2200
- Betz N (1998). Detecting Apoptosis.Technically Speaking In **J Pro mega notes**. no. 69. p. 24
- Bommireddy R, Saxena V, Ormsby J et al. (2003). TGF- β_1 Regulates Lymphocyte Homeostasis by Preventing Activation and Subsequent Apoptosis of Peripheral Lymphocytes in **The Journal of Immunology** 170 : 4612-4622
- Hossy-Weizel E, Green D (1999). **Mutation Research** 434 : 243-251
- Hoyd B, Luntz M (2002). Open Angle Glaucoma Clinical Evaluation and Risk Factors In **Innovation in The Glaucomas Etiology, Diagnosis and Management, High Light of Ophthalmology (International)**, Bogota. 3 – 10
- Clancy J (1998). Antigen Processing and Presentation in **Basic Concept in Immunology, A student's Survival guide**. The Mc GrawHill Companies Health Professions Division. New York, St.Louis, San Francisco. p. 65-81
- Condos R, Rom WN (2004). Cytokine Response in Tuberculosis in **Tuberculosis** second edition by Rom WN, Garay SM. Lippincot William & Wilkin Co. Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hongkong, Sydney, Tokyo. p.285-299.
- Cosulich ME; Fahbi M: Tissue - Transglutaminase
 C. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12711128> [2003, 12].

- Couran R S, Kumar V, Collins T (1999). **Glaucoma In Robbins Pathologic Basis of Disease**. Sixth Edition. Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo. 1374- 1375.
- Cottrez F, Groux H (2004). Specialization in Tolerance : innate CD(4+)CD(25+) versus acquired TR1 and TH3 regulatory T cells **In Transplantation**, January 15; 77 (1 Suppl) : S12-5
- Cruse MJ, Lewis RE (1999). **Cytokines In Atlas of Immunology**. CRC Press. Boca Raton, London, New York, Washington DC. p.185-206
- Dekoris I, Gabrie N, Mazuran R, Karaman Z, Mravicie I (2001). Profile of Cytokines in Aqueous Humor from Corneal Graft Recipients. **Croatian Medical Journal**; 42 : 650-656.
- Denecker G ; Vereemmen D ; Declercq W ; Vandenaebelle P (2001). Review. Apoptotic and Necrotic Cell Death Induced by Death Domain Receptors. **in Cellular and Molecular Life Sciences**, p. 356-370.
- Djunaedi D (2004). **Perubahan kadar sitokin TNF- α , IL-1- β , IL-6 dan molekul agregasi, WF dan PGE₂ pada berbagai tingkat trombositopenia pada penyakit Demam Berdarah Dengue (studi patobiologi terhadap trombositopenia pada penyakit Demam Berdarah Dengue)**. Disertasi. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga. Surabaya. Indonesia
- Drutz DJ, Mills J (1980). **Immunity & Infection In Basic & Clinical Immunology** 3 edition by Fudenberg HH, Stites DP, Caldwell JL, Wells JV. Lange Medical Publications Maruzen Asia (pte) Ltd. California. p.251-274
- Dy M, Vasquez A, Bertoglio J, Theze J (1999). Overview General Aspects of cytokine properties and function **In The Cytokine Network And Immune Function** by Theze J. Oxford university Press. New York. p. 1-12
- Duniz M (1998). Pathogenesis of infection and the ocular Immune Response. **In Ocular Infection, Investigation and Treatment in Practice**, Martin Duniz Ltd. London: 1 – 5
- Epstein RJ (2003). Cell cycle control, apoptosis, and ageing **In Human Molecular Biology An Introduction to the Molecular Basis of Health, and Disease**. Cambridge University Press. p 356-388
- Frenz DA (2001). Growth Factor Control of Otic Capsules Chondrogenesis **Einstein Quarterly Journal of Biology and Medicine** 18 : 7 – 14.

- Gaspar (2002). **Caspase Family members.**
<http://www.gen2m.hu/~gaspar/caspase-family.html> 2 Okt 20002
- Gottanka J, Chan D, Eichhorn M, Lutjen-Drecoll E, Ethier CR (2004). **Effects of TGF β -2 in the perfused human eyes.** *J Investigative Ophthalmology and Visual Science* : 45(1): 153-8
- Goldberg J (2003). **Definition of Terms : Primary open angle glaucoma (POAG) In Asia Pasific Glaucoma Guidelines** South East Asia Glaucoma Interest Group, Sydney : 89-90
- Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA (2000). **Cells And Organs of the Immune System In Kuby Immunology** fourth Edition W.H. Freeman And Company New York : 27-59
- Handoyo I (2003). **Pengantar imunoasai dasar**, cetakan pertama, Airlangga University Press, Surabaya, Indonesia
- Handoyo I (2004). **Imunoasai berlabel**. Lab. Patologi klinik RSUD Dr Soetomo/FK Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia
- Hetts SW (1998). **To Die or not to Die. An overview of apoptosis and its role in Disease.** Special Communication *In Journal of the American Medical Association* vol. 279, no. 4 : 296-303.
- Higginbotham, JE (1994). **Clinical Presentation of Primary Open Angle Glaucoma In textbook of Ophthalmology**, Edited by Podos SM and Yanoff Myron; Glaucoma Mosby, London, St Louis, Baltimore, Boston, Chicago, Philadelphia, Sydney, Toronto, p. 834 – 836
- Hockenberget al. (1990), *Nature* 348 : 334-336
- Hogan MJ, Zimmerman LE (1962). **Glaucoma In Ophthalmic Pathology An Atlas and Textbook**,second Edition,W.B. Saunders Company,Philadelphia, London : 688-705.
- Ilyas S (2001). **Glaukoma Edisi ke-2** FK- UI Jakarta, Indonesia.
- Inatani M, Tanihara H, Katsuta H, Honjo M, Kido N, Honda Y (2001). **Transforming growth factor- beta2 level in aqueous humor of glaucomatous eyes.***Graefes Arch Clin Exp Ophthalmology* ; 239(2) : 109-13
- Janeway, Charles A, Travers, Paul, Walport, Mark, Shlomchik, Mark (2001). **Induced Innate responses to infection, In Immunobiology**, 5th edition : Garland Publishing, New York, London, p. 2-15

- Judajana FM (2004). **Immunology today & the perspective** Kuliah S3 Kedokteran Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya Indonesia
- Keane J, Kornfeld H (2004). **Programmed Cell Death in Tuberculosis in Tuberculosis, Second Edition** by Rom WN, Garay SM. Lippincot William & Wilkin Co. Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hongkong, Sydney, Tokyo, p. 309-320.
- Kimball J (2001). **Biology Pages : Antigen Presentation.**
<http://www.ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/A/AntigenPresentation.html> 4 Agst 2001
- Kimball J (2001). **Biology Pages : Antigen Receptors.**
<http://www.ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/A/AntigenReceptors.html> 4 Agst 2001
- Kimball J (2001). **Biology Pages : B cells and T cells.**
<http://www.ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/B/BandTcells.html> 4 Okt 2001
- Kimball J (2001). **Biology Pages : T helper cells.**
<http://www.ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/T/Th1Th2.html> 4 Agst 2001
- Kimball J (2001). **Biology Pages : The cell cycle.**
<http://www.ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/C/Cellcycle.html> 4 Okt 2001
- Kimball J (2001). **Biology Pages : Apoptosis.**
<http://www.ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/A/Apoptosis.html> 4 Agst 2001
- Kofker AE, Hetherington J (1983). **Classification of The Glaucomas In Becker – Shaffer's Diagnosis and Therapy of The Glaucomas. 5th Edition.** The CV Mosby Company, St Louis, Toronto. p. 3 – 8.
- Krakauer T, Vileck J, Oppenheim JJ (1999). **Proinflammatory Cytokines TNF and IL-1 Families, Chemokines, TGF- β and Others in Fundamental Immunology, Fourth Edition,** edited by Paul WE. Published by Lippincot Raven Publisher, Philadelphia. p. 775 – 812.
- Kresno SB (2001). **Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium.** edisi IV. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

- Lochleider RJ, Robert AB (1999). **Transforming Growth Factor in The Cytokine Network and Immune Functions by Theze J**. Oxford University Press New- York. p.104-110.
- Liesegang TJ, Skuta GL, Cantor LB (2003). Introduction to Glaucoma: Terminology, Epidemiology and Heredity In **Basic And Clinical Science Course section 10 : Glaucoma**. American Academy of Ophthalmology. San Francisco, USA, 5-12.
- Liesegang TJ, Deutsch TA, Grand GM (2001). Anterior Chamber. Trabecular Meshwork In **Basic And Clinical Science Course section 2 : Fundamentals And Principles of Ophthalmology**, American Academy of Ophthalmology. San Francisco, USA, 53-60.
- Liesegang TJ, Skuta GL, Cantor LB (2003). Intraocular Pressure and Aqueous Humor Dynamics in **Basic And Clinical Science Course section 10 : Glaucoma**, American Academy of Ophthalmology. San Francisco, USA, 14-23
- Liesegang TJ, Skuta GL, Cantor LB (2003). Clinical Evaluation: History and General Examination, Gonioscopy. In **Basic And Clinical Science Course section 10 : Glaucoma**, American Academy of Ophthalmology. San Francisco, USA, 25-33.
- Lutjen-Drecoll E, Rohen JW (1994). The Normal Anterior Segment, Anatomy of Aqueous Humor Formation and Drainage In **textbook of Ophthalmology**, edited by Podos SM and Yanoff Myron. Glaucoma vol 7, Mosby, London, St Louis, Baltimore, Boston, Chicago, Philadelphia, Sydney, Toronto, p. 1.1 -1.16
- Lutjen-Drecoll E, Rohen JW (1994). Pathology of The Trabecular Meshwork in Primary Open Angle Glucoma In **textbook of Ophthalmology**, edited by Podos SM and Yanoff Myron. Glaucoma vol. 7, Mosby, London, St Louis, Baltimore, Boston, Chicago, Philadelphia, Sydney, Toronto, p. 837 - 839
- Lutjen-Drecoll E (2000). Importance of trabecular meshwork changes in the pathogenesis of Primary Open Angle Glaucoma. **J of Glaucoma ; 9: 417-8**
- Male D (1991). **Immunology, an Illustrated Outline**. second edition. Gower Medical Publishing
- Mizle, Osborne (1999), **Journal of cellular Physiology** 181: 393-409
- Monell C (2002). Caspase Cascade In **Charting Pathway of Life In Biocarta 2 : 10**

- Ochiai Y, Ochiai H (2002), **Higher concentration of Transforming growth factor-beta in Aqueous humor of glaucomatous eyes and diabetic eyes. Jpn J Ophthalmology: 46(3) : 249-53**
- Oppenheim JJ, Ruscetti FW (2001). **Cytokines In Medical Immunology**, tenth edition by Parslow GT; Stites PD, Terr IA, Imboden BJ. Lange Medical Book / Mc Graw-Hill, Medical Publishing Division. New York, Chicago, San Francisco, Lisbon, London, Madrid, Mexico City, Milan, New Delhi, San Juan, Seoul, Singapore, Sydney, Toronto, p.148-164
- Ozcan AA, Ozdemir N, Canatanoglu A (2004). **The aqueous levels of TGF-beta2 in patients with glaucoma. Int Ophthalmology J : 25(1): 19-22**
- Petrolani M, Stordeur P, Goldman M (1999), **Interleukin-10 In The Cytokine network And Immune Functions** by Theze. J. Oxford University Press. New York, p. 45-50
- Piacentini M (1991), **Molecular Mechanism of Programmed Cell Death (Apoptosis)**, *Eur J Cell Biol* ; 56 : 170-177
- Piacentini M () **Apoptosis Regulation in Infectious Diseases: Role of "Tissue" Transglutaminase**
- Pimentel E (1994). **Transforming Growth Factors In Handbook of Growth Factors**, vol. II : **Peptide Growth Factor**. CRC Press. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, p. 263-274.
- Potau JM, Canal M, Costa J, Merindano, Ruano D (2001). **Ultra Structural Changes of the Extracellular Matrix of the Trabecular Meshwork with Age; European Journal of Anatomy; 5 : 83 - 87**
- Quigley H A (1998). **Search for Glaucoma Genes Implications for pathogenesis and Disease detection New England J of Medicine** vol 338, 1062-1064
- Rizzo V, Belfort R (2000), **Ocular Auto Immunity In textbook of The Auto Immune Diseases**. Edited by RG Lahita, N Chiorazzi and WH Reeves Lipincot Willian and Wilkin. Philadelphia. 515-667
- Roitt I, Brostoff J, Male D (2001). **Cytokines and cytokines receptors In Immunology** sixth edition Billiere Tindall,Churchill, Livingstone,Mosby WB Saunders, Edinburgh, London, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto. p.119-129

- Samadikoen S (1987), **Penelitian retrospektif : Distribusi derajat sudut bilik mata depan pada glaucoma simpleks kronis di RSUD Dr Soetomo Surabaya tahun 1986**, Lab Ilmu Penyakit Mata FK Unair/RSUD Dr Soetomo Surabaya Indonesia
- Santos Lacomba M, Marcos Martin C, Gollardo Galera et all (2001). Aqueous Humor and Serum Interleukin-6 In Patients with Uveitis. **Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia**; 76 : 345-350.
- Santoso S (2005). **Menguasai Statistik di Era Informasi dengan SPSS-12**. PT Elex Komputindo – Kelompok Gramedia, Jakarta
- Sato T, Roys S (2002). Effect of High Glucosa on Fibronectin Expression and Cell Proliferation in Trabecular Meshwork Cells. **Investigative J Ophthalmology and Visual Science** : 43 : 170 – 175
- Schittny JC, Paulsson M, Fallon C, Burri PR (1997). Protein Crosslinking Mediated by Tissue Transglutaminase Correlates with the Maturation of Extra Cellular Matrices During Lung Development. **Am. J. Respir Cell Mol. Biol.** Vol. 17 p. 33
- Schmolz. M (2001). Transforming Growth Factor β (TGF- β) und Elemento di Regolazione delle Terapie Anti Flogistiche. **La Medicina Biologica** April : 23 – 25
- Sloviter RS (2002). Apoptosis : A guide for the perplexed. **Trends in Pharmacological Sciences**. Vol 23, no.1 January. p.19-24.
- Streilein JW (2003). Ocular Immune Privilege : the eye takes a dim but practical view of immunity and inflammation. **J Leukoc Biol** : 74(2) : 179-85
- Streilein WJ (2003). Ocular Immune Privilege : therapeutic opportunities from an experiment of nature. **Nature Reviews Immunology** : 3 : 879-889
- Sudarmo, SM (1999), **Pengaruh Defisiensi vit A terhadap status imun dan proses imun mukosa usus (penelitian eksperimental pada tikus westar melalui pendekatan imuno patobiologi)**. Disertasi. Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga, Surabaya. Indonesia
- Subowo (1993). Respon imun dan interaksi sel-sel imunokompeten in **Imunobiologi**, Penerbit Angkasa Bandung. p. 53-57.
- Suroto (2001). **Peran Sitokin IL-1- β , TNF- α , IL-8 dan TGF β -1 pada stroke iskemik (suatu pendekatan imuno patobiologi)**. Disertasi. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya. Indonesia

- Tezel G, Ya Li L, Patil RV, Wax MB (2001). **TNF- α and TNF- α Receptor-I in the Retina of Normal and Glaucomatous Eyes. *Investigative J Ophthalmology And Visual Science* : 42(8) : 1787-1794**
- Theze J (1999). **The Cytokine Network and Immune Functions**, Oxford University Press, New York
- Thompson CB (1999). **Apoptosis in Fundamental Immunology** Fourth Edition. Edited by Paul WE. Lippincott Raven Publishers, Philadelphia, p. 813 – 826.
- Toris CB, Koepsell SA, Yablonski ME, Comras CB (2002). **Aqueous Humor dynamic in Ocular Hypertensive patient *Journal of Glaucoma* 11 : 253-258**
- Tripathi R C, Li J, Chan B J (1994). **Aqueous humor in glaucomatous eyes. contains an increased level of TGFbeta-2. *Exp Eye Res* 59; 723-7**
- Tripathi B J, Tripathi R C (2000). **Modulation of Pre m RNA splicing and protein production of fibronectin by TGF beta-2 in Porcine trabecular cell, *Investigative J Ophthalmology and Visual Science*; 41; 3437-3443.**
- Vaughan DG, Ashbury T, Riordan-Eva P (1995). **Glaucoma in *General Ophthalmology*, Fourteenth edition a Lange Medical Book Printice- Hall International Inc. p. 208-225**
- Vermest; Haanen C ; Reutelingsperger C.P.M. (1997). **Apoptosis – the genetically controlled physiological cell- death: biochemistry and measurement, in *J Ned Tijdschr Klin Chem*. 22 : 43-50.**
- Vold SD; Riggs WI.; Jackinac J (2002); **Cost Analysis of Glaucoma Medication a Three Years Review: *Journal of Glaucoma*; 11 : 354-358.**
- Wallach D, Bigda J, Engelman H (1999), **Tumor Necrosis Factor (TNF) Family and Related Molecules in *The Cytokine network And Immune Functions* by Theze. J. Oxford University Press, New York, p. 51-84**
- Walpole RE (1985). **Choice of Sample Size for Testing Means in *Probability And Statistics for Engineers And Scientists*, Third Edition. Mac Millan Publishing Company. New York, London, 281-284.**
- Waschke K A (1996). **New Perspective in the Pharmacologic treatment of Primary Open Angle Glaucoma : Pathogenesis and Patient Factors *MJM* : 231-239.**
- Wax M. **Glaucoma : An Auto Immune Disease in Some Patients ? Research to Prevent Blindness (RPB) p. 1 – 5**

- Weiner HL (2001), Induction and mechanism of action of transforming growth factor-beta secreting Th3 regulatory cells. *Immunology Rev* 182 : 207-14.
- Weiss E, Mamelak AJ, Morgia SL, Wang B, Feliciani C, Tulli A, Sauder DN (2004). The role of interleukin 10 in the pathogenesis and potential treatment of skin diseases. *Journal of the American Academy of Dermatology* ; vol 50(5) : 657-675
- Welge-Luessen U; May CA, Lutjen-Drecoll E (2000). Induction of Tissue Transglutaminase in the Trabecular Meshwork by TGF β -₁ and TGF β -₂ *Investigative J Ophthalmology and Visual Science* : 41: 2229-2238
- Widjajanto E (2001). Hubungan Mastosit dengan hipo selularitas sumsum tulang melalui mekanisme leukotrien B-4 (LTB-4) dan Tumor Nekrosis Faktor (TNF- α), Disertasi, Program Pasca Sarjana UNAIR Surabaya Indonesia.
- Wilensky J T (1994). Epidemiology of Open Angle Glaucoma In *Textbook of Ophthalmology* Edited by Podos S M and Yanoff Myron Glaucoma The CV Mosby, London, St Louis, Baltimore, Boston, Chicago, Philadelphia, Sydney, Toronto, p. 829- 833
- Willingham (1999). Cytochemical Methods for the Detection of Apoptosis. *The J of Histochemistry & Cytochemistry* ; vol 47 (9) : 1101 – 1109
- Wyllie A (1995), *Current Opinion in Genetic and Development*, vol 5 no. 1, p.87-105
- Wyllie et al. (1999). Apoptosis and Carcinogenesis, *Br J Cancer*, July, Suppl 1, p. 34-7
- Xu H, Silver PB, Tarrant TK, Chan CC, Caspi RR (2003). TGF-beta inhibit activation and uveitogenicity of primary but not of fully polarized retinal antigen specific memory – effector T cells. *Investigative J Ophthalmology Visual Science*, 44(11), 4805-12
- Yogianto H R M (2005). *Hipertensi the Silent Killer dalam Diagnosis*, edisi ke 8, Agustus, hal. 20-21

LAMPIRAN I



dataglauka1rk2

	nama	umur	tbm	jenis kelamin	jenis psn
1	Tn M	68	37,19	TNF alpha	1
2	Tn KRM	45	37,19	TNF alpha	1
3	Tn AK	70	27,16	TNF alpha	1
4	Ny PSM	60	37,19	TNF alpha	1
5	Tn ZA	41	43,38	TNF alpha	1
6	Tn SMT	66	37,19	TNF alpha	1
7	Tn SMN	46	43,38	TNF alpha	1
8	Tn MDL	69	27,82	IL-10	1
9	Tn NTS	54	31,82	IL-10	1
10	Tn PND	76	27,16	IL-10	1
11	Ny FTK	70	31,82	IL-10	1
12	Ny MFR	60	37,19	IL-10	1
13	Tn KMR	42	43,38	IL-10	1
14	Ny ISW	65	37,19	IL-10	1
15	Ny KS	79	31,82	TGF beta	1
16	Tn MRT	69	37,19	TGF beta	1
17	Tn CLM	63	37,19	TGF beta	1
18	Ny SPM	59	43,38	TGF beta	1
19	Tn HZK	51	50,82	TGF beta	1
20	Ny AMN	59	23,09	TGF beta	1
21	Ny RMN	54	37,19	TGF beta	1
22	Ny SPN	34	14,57	TNF alpha, IL-10	2
23	Tn SMN	66	17,30	TNF alpha, IL-10	2
24	Tn KNN	65	12,23	TNF alpha, IL-10	2
25	Tn STS	49	17,30	TNF alpha, IL-10	2
26	Tn AMT	47	14,57	TNF alpha	2
27	Tn SDN	69	14,57	TNF alpha, IL-10	2
28	Tn RAM	63	17,30	TNF alpha, IL-10	2
29	Ny SLT	42	14,57	IL-10	2
30	Tn TKM	65	18,88	TGF beta	2
31	Tn JWH	60	14,07	TGF beta	2
32	Tn SPN	66	17,30	TGF beta	2
33	Ny SWT	68	16,86	TGF beta	2
34	Tn DRM	72	14,57	TGF beta	2
35	Ny STN	68	17,30	TGF beta	2
36	Tn SDK	65	14,57	TGF beta	2

st

Group Statistics

Group	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
glaukoma	62,0476	10,36460	2,02076
kontrol	54,7333	12,04436	3,10764
glaukoma	38,1761	6,67770	1,45721
kontrol	13,6627	1,97725	51032

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-Test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
peran	Equality of variances assumed	308	544	-.616	34	541	-.26857	4,34396	-11,51375	6,14231
	Equality of variances not assumed			-.630	32,105	537	-.26857	4,26637	-11,37492	4,00149
sifat mata	Equality of variances assumed	0,348	007	11,382	34	006	20,3154	1,76777	16,89128	23,94048
	Equality of variances not assumed			13,157	24,880	000	20,3154	1,54405	17,13379	23,49756



LAMPIRAN 2



TNF2

	nama	umur	trfalpa	lbm
1	Tn. M	60	2,44	37,19
2	Tn. KRM	46	2,44	37,19
3	Tn. AK	100	,00	27,15
4	Ny. RSM	80	10,24	37,19
5	Tn. ZA	41	20,49	43,38
6	Tn. SM7	66	15,12	37,19
7	Tn. SMN	46	26,31	43,38



Regression

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	kadar tnf alpha		Enter

- a. All requested variables entered.
b. Dependent Variable: tek bola mata

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,904 ^a	,847	,577	3,52855

- a. Predictors: (Constant), kadar tnf alpha

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	114,191	1	114,191	9,171	,029 ^a
	Residual	62,253	5	12,451		
	Total	176,444	6			

- a. Predictors: (Constant), kadar tnf alpha
b. Dependent Variable: tek bola mata

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	32,762	2,052		15,887	,000
	kadar tnf alpha	,433	,143	,804	3,028	,029

- a. Dependent Variable: tek bola mata

ILspuluh2

	nama	umur	ilspuluh	ibm
1	Tn MDL	68	5,28	27,82
2	Tn NTS	54	5,61	31,82
3	Tn. PND	76	5,42	27,16
4	Ny. FTH	70	6,09	31,82
5	Ny. MFR	60	7,82	37,19
6	Tn KMR	49	11,23	43,38
7	nY. ISW	65	6,39	37,19



Regression

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	kadar IL-10 ^a		Enter

- a. All requested variables entered.
b. Dependent Variable: tek bola mata

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,901 ^a	,811	,773	2,76656

- a. Predictors: (Constant), kadar IL-10

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	184,175	1	184,175	21,450	,006 ^a
	Residual	38,269	5	7,654		
	Total	202,444	6			

- a. Predictors: (Constant), kadar IL-10
b. Dependent Variable: tek bola mata

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	16,904	3,789		4,462	,007
	kadar IL-10	2,488	,533	,901	4,631	,006

- a. Dependent Variable: tek bola mata

	nama	umur	lgfbeta	tbm
1	Ny. KS	79	467,74	31,82
2	Tn. MRT	89	509,49	37,19
3	Tn. OLM	83	562,62	37,19
4	Ny. SPM	59	761,86	43,38
5	Tn. HZK	51	876,22	50,62
6	Ny. AMN	59	396,58	23,09
7	Ny. RMN	54	574,95	37,19



Regression

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	kadar tgf beta		Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: kadar tbn

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.949 ^a	.901	.881	2,99102

a. Predictors: (Constant), kadar tgf beta

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	406,952	1	406,952	45,484	.001 ^a
	Residual	44,730	5	8,946		
	Total	451,722	6			

a. Predictors: (Constant), kadar tgf beta

b. Dependent Variable: kadar tbn

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	8,339	4,431		1,882	.119
	kadar tgf beta	4,875E-02	.007	.949	6,745	.001

a. Dependent Variable: kadar tbn

LAMPIRAN 3



**Data
&
Hasil Perhitungan
Uji Regresi
Kenaikan Kadar Sitokin TNF- α , IL-10 & TGF- β
Terhadap
Kenaikan Tekanan Bola Mata
Penderita Katarak**

InfKarrk

	nama	umur	tnfalpa	tbm
1	Ny.SPN	84	,49	14,57
2	Tn. SMN	68	,49	17,30
3	Tn. KNN	65	,00	12,23
4	Tn. STS	49	,00	17,30
5	Tn. AMT	47	13,66	14,57
6	Tn. SDN	59	,00	14,57
7	Tn. RAM	63	,00	17,30



14/06/2006 7:21:15

1/1

Regression

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	kadar tnf alpha		Enter

- a. All requested variables entered.
 b. Dependent Variable: tek bola mata

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.182 ^a	.033	-.160	2,0648

- a. Predictors: (Constant), kadar tnf alpha

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.759	1	.759	171	.696 ^a
	Residual	22,185	5	4,437		
	Total	22,945	6			

- a. Predictors: (Constant), kadar tnf alpha
 b. Dependent Variable: tek bola mata

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	15,551	,871		17,663	,000
	kadar tnf alpha	-.6565E-02	,169	-.182	-.414	,696

- a. Dependent Variable: tek bola mata

	nama	umur	kepuluh	tbm
1	Ny. SPN	84	2,50	14,57
2	Tn. SMN	68	2,01	17,30
3	Tn. KNN	65	1,87	12,23
4	Tn. STS	49	3,36	17,30
5	Ny. SLT	42	3,41	14,57
6	Tn. SDN	69	3,02	14,57
7	Tn. RAM	63	2,59	17,30



Regression

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	kadar IL-10 ^a		Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: tek bola mata

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,260 ^a	,088	-,118	2,06858

a. Predictors: (Constant), kadar IL-10

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1,550	1	1,550	,362	,573 ^a
	Residual	21,395	5	4,279		
	Total	22,945	6			

a. Predictors: (Constant), kadar IL-10

b. Dependent Variable: tek bola mata

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	13,168	3,799		3,468	,018
	kadar IL-10	,831	1,980	,260	,602	,573

a. Dependent Variable: tek bola mata

	nama	umur	lg/beta	l/m
1	Tn. TKM	65	320,68	18,86
2	Tn. JWH	60	352,43	14,07
3	Tn. SPN	88	300,78	17,30
4	Ny. SWT	68	288,43	16,66
5	Tn. DRM	72	424,10	14,57
6	Ny. STN	68	268,50	17,30
7	Tn. SDK	65	569,26	14,57



Regression

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	kadar tgf beta		Enter

- a. All requested variables entered
b. Dependent Variable: kadar tbn

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,700 ^a	,490	,368	1,62152

- a. Predictors: (Constant), kadar tgf beta

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	12,627	1	12,627	4,802	,060 ^a
	Residual	13,147	5	2,629		
	Total	25,774	6			

- a. Predictors: (Constant), kadar tgf beta
b. Dependent Variable: kadar tbn

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	21,496	2,359		9,113	,000
	kadar tgf beta	-1,379E-02	,006	-,700	-2,191	,080

- a. Dependent Variable: kadar tbn

LAMPIRAN 4

Lain - Lain



KOMITE MEDIK RUMAH SAKIT MATA SURABAYA
Jl. Undaan Kulon 19, SURABAYA - 60274
Telp (031) 534.506 - 5319619 Fax. (031) 5317503

SURAT KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN

No. 021/RSMU-KE/1/05
Tanggal 19 Februari 2005

Komite Medik Rumah Sakit Mata Undaan Surabaya menerangkan bahwa :

Judul Penelitian : " Peran sitokin TNF- α , IL-10 dan TGF- β terhadap endotel
trabekuler meshwork glaukoma sudut terbuka primer "

Nama Peneliti : dr. Admadi Soeroso, SpM, MARS

dinyatakan laik etik.

Komite Medik Rumah Sakit Mata Undaan Surabaya

Ketisa : Dr. Sudjarno. W, SpM

(.....)

Sekretaris : Dr. Ria Sylvia. H, SpM

(.....)

Anggota : Dr. Slamet Soedibyo, SpM

(.....)

Dr. Hermeni Widjajanto, SpM

(.....)

Dr. Soemartono Samadikoen, SpM

(.....)



DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KEDOKTERAN
JURUSAN ILMU KEDOKTERAN DASAR KLINIK
LABORATORIUM PATOLOGI KLINIK

Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya Telp. (031) 3501510, 5501511, 5561512 Telp. - FDOK UNAIR Kode Pos : 60286

Nomor : 24/J03.1.17/PK/II/2005

Surabaya, 9 Maret 2005

Lamp.

Hal : Permohonan ijin melakukan
Pemeriksaan kadar sitokin.

Kepada Yth.
Prof. H. Wisnujono Soewono, dr. SpM(K)
Bagian/SMF Ilmu Penyakit Mata
FK Unair / RSUD. Dr. Soetomo
Surabaya

Membalas surat saudara tanggal 14 Januari 2005 perihal permohonan ijin melakukan pemeriksaan kadar sitoksin atas nama dr. Admadi Soeroso SpM, MARS, maka dengan ini diberitahukan bahwa pada prinsipnya kami tidak berkeberatan atas permohonan tersebut. Untuk keperluan tersebut kami mohon agar kepada yang bersangkutan menghadap Kolit Bagian Patologi Klinik FK Unair/RSD. Dr. Soetomo.

Demikian atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Bagian Patologi Klinik

Edijanto, Sp.PK(K)
LAB. PATOLOGI KLINIK 730 350 714

PERSETUJUAN PEMBEDAHAN DAN ANESTHESI / TINDAKAN KHUSUS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama :

Umur / Jenis kelamin : Tahun (L / P)

Alamat :

Dengan ini menyatakan sesungguhnya memberikan

PERSETUJUAN

Untuk dilakukan tindakan :

Terhadap : Diri sendiri / suami / istri / anak / Orang tua (*)

Lainnya

Yang bernama :

Umur / Jenis kelamin : Tahun (L / P)

Alamat :

Nomor Rekam Medis :

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Yang sifat, tujuan dan manfaat serta kemungkinan timbulnya akibat-akibat tindakan tersebut telah dijelaskan sepenuhnya oleh dokter dan saya sudah mengerti seluruhnya. Saya juga menyatakan memberikan persetujuan saya untuk dilakukan anestesi dan atau pemberian obat / bahan musik lainnya yang diperlukan untuk dapat dilakukan tindakan tersebut.

Dokter Yang Merawat

Surabaya,
 Yang memberikan persetujuan

(.....)

Tanda tangan & Nama Terang

Saksi Perawat

(.....)

Tanda tangan & Nama Terang

Saksi Keluarga

(.....)

Tanda tangan & Nama Terang

(.....)

Tanda tangan & Nama Terang