

**PENGARUH KOMBINASI TETES MATA BETAMETASON
DAN INJEKSI DEKSAMETASON SUBKONJUNGTIVA
TERHADAP TEKANAN INTRAOKULI DAN MORFOLOGI
TRABEKULAR MESHWORK TIKUS (*Rattus norvegicus*)
STRAIN WISTAR**

**SEBAGAI METODE BARU DALAM MEMBUAT HEWAN
MODEL HIPERTENSI OKULI**

TESIS

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Dokter Spesialis Mata



Oleh :

DESSIRA RIZKA TRI ARIANY

NIM: 148070600111001

**PESERTA PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
ILMU KESEHATAN MATA**

BAGIAN ILMU KESEHATAN MATA

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

RUMAH SAKIT UMUM Dr. SAIFUL ANWAR MALANG

2018

HALAMAN PENGESAHAN

PENELITIAN ANALITIK

Pengaruh Kombinasi Tetes Mata Betametason dan Injeksi Deksametason Subkonjungtiva terhadap Tekanan Intraokuli dan Morfologi Trabekular Meshwork Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar

Sebagai Metode Baru dalam Membuat Hewan Model Hipertensi Okuli

Oleh :

DESSIRA RIZKA TRI ARIANY

NIM: 148070600111001

Dibacakan pada tanggal:

22 November 2018

Mengetahui,

Ketua Program Studi

PPDS I Ilmu Kesehatan Mata

Menyetujui,

Pembimbing

Dr. dr. Seskoati Prayitnaningsih, Sp.M(K) dr. Aulia Abdul Hamid, Sp.M, M.Biomed.Sc

NIP. 19681023 200501 2 001

NIP. 19770601 200312 1 005

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam karya akhir ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh keserjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya yang pernah dibuat atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis dalam naskah ini dan telah disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah karya akhir ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiat, saya bersedia karya akhir ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20 tahun 2003, pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).



Malang, November 2018

Dessira Rizka Tri Ariany





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Veteran Malang – 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (0341) 551611 Pes. 213.214; 569117, 567192 – Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : sekr.fk@ub.ac.id

SURAT KETERANGAN

Nomor : 642 /UN10.F08.08/PN/2018

Berdasarkan pemindaian dengan perangkat lunak Turnitin, Badan Penerbitan Jurnal (BPJ) Fakultas Kedokteran menyatakan bahwa Artikel Ilmiah berikut :

- Judul : Pengaruh Kombinasi Tetes Mata Betametason Dan Injeksi Deksametason Subkonjungtiva Terhadap Tekanan Intraokuli Dan Morfologi Trabekular Meshwork Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Sebagai Metode Baru Dalam Membuat Hewan Model Hipertensi Okuli
- Penulis : dr. Dessira Rizka Tri Ariany
- NIM : 148070600111001
- Jumlah Halaman : 81
- Jenis Artikel : Tesis (Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Mata)
- Kemiripan : 1 %

Demikian surat keterangan ini agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

04 DEC 2018

Ketua Badan Penerbitan Jurnal,



Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes
NIP. 19751125 200501 2 001

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT, pemilik alam semesta, yang karena pertolongan dan kasih sayang-Nya lah, tugas akhir ini dapat terselesaikan, dan shalawat serta salam semoga selalu tercurah kepada nabi Muhammad SAW.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

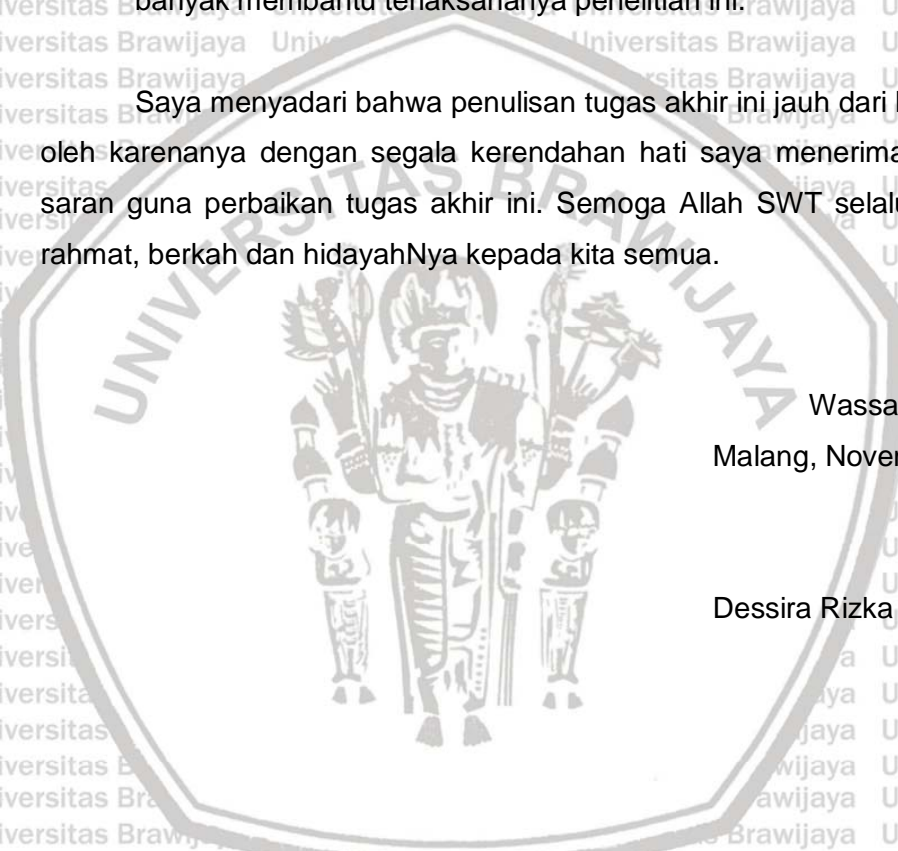
1. Rektor Universitas Brawijaya, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan Direktur Rumah Sakit Dr Saiful Anwar Malang, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan PPDS-I Ilmu Kesehatan Mata.
2. dr. Safaruddin Refa, Sp.M-KVR selaku Kepala SMF Ilmu Kesehatan Mata RSUD Dr. Saiful Anwar Malang atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan PPDS-I Ilmu Kesehatan Mata, dan atas bimbingan serta nasihat yang diberikan selama masa pendidikan.
3. Dr. dr. Seskoati Prayitnaningsih, Sp.M(K), sebagai ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Mata FKUB/ RSUD Dr. Saiful Anwar Malang, atas dorongan dan motivasi yang diberikan kepada saya untuk menyelesaikan semua tugas ilmiah saya, serta atas segala bantuan, sehingga saya dapat melaksanakan penelitian saya.
4. dr. Aulia Abdul Hamid Abdullah, Sp.M, M.Biomed.Sc sebagai pembimbing tugas akhir ini, atas kesabaran beliau dalam membimbing saya, atas bantuan beliau, dan waktu yang telah diberikan untuk membimbing saya.
5. Dr. dr. Debby Shintiya Dewi, Sp.M(K) dan dr. Lely Retno Wulandari, Sp.M(K), kedua orang tua asuh saya, untuk semua motivasi dan bimbingan yang diberikan kepada saya, sehingga saya dapat menyelesaikan semua tugas ilmiah saya.
6. Seluruh guru di bagian Ilmu Kesehatan Mata FKUB/RSUD Dr. Saiful Anwar Malang yang telah memberikan banyak ilmu dan bimbingan selama masa pendidikan.
7. Orang tua saya, bapak dr. Faried Sanusi, Sp.PD, ibu Indan Zoardini, dan ibu Nur Rachmawati, atas segala doa restu dan jerih payah, dukungan, dan pengorbanan yang telah diberikan, sehingga saya dapat mencapai tahap kehidupan ini.

8. Yendra Dian Putra Perdana, SE., suami saya tercinta, terimakasih atas kesabaran, pengertian, dan dukungan yang selalu diberikan kepada saya.
9. Muhammad Azzam Hanif Al Farisi dan Muhammad Hafiz Ihsan, kedua putra tercinta saya, yang selalu menjadi penyejuk dan penyemangat hati saya.
10. Teman-teman PPDS IK Mata, semua staf TU IK Mata, staf OK IK Mata, dan staf IRJ Poli Mata. Terimakasih atas segala bantuan dan kenangan, terimakasih telah hadir dan menjadi bagian dalam kisah hidup saya.
11. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah banyak membantu terlaksananya penelitian ini.

Saya menyadari bahwa penulisan tugas akhir ini jauh dari kesempurnaan, oleh karenanya dengan segala kerendahan hati saya menerima kritik maupun saran guna perbaikan tugas akhir ini. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat, berkah dan hidayahNya kepada kita semua.

Wassalam,
Malang, November 2018

Dessira Rizka Tri Ariany



Pengaruh Kombinasi Tetes Mata Betametason dan Injeksi Deksametason Subkonjungtiva terhadap Tekanan Intraokuli dan Morfologi Trabekular Meshwork Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Sebagai Metode Baru dalam Membuat Hewan Model Hipertensi Okuli

Dessira Rizka Tri Ariany¹, Aulia Abdul Hamid Abdullah²

Bagian Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar, Malang – Indonesia

Abstrak

Tujuan: Untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva terhadap peningkatan tekanan intraokuli dan perubahan morfologi trabekular meshwork dan kanalis Schlemm tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar sebagai metode baru dalam membuat hewan model hipertensi okuli.

Metode: Desain penelitian ini adalah *true experimental* dengan *pre-test post-test study*, dimana 20 mata tikus dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok dengan pemberian tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes (1mg/ml) perhari selama 2 minggu (kelompok 2) dan 4 minggu (kelompok 4), serta kelompok dengan pemberian kombinasi tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva dengan dosis 0,1ml (5m/ml) perminggu selama 2 minggu (kelompok 3) dan 4 minggu (kelompok 5). Pengukuran TIO dilakukan sebelum perlakuan, minggu kedua, dan minggu keempat (untuk kelompok 1, 3 dan 5). Setelah perlakuan bola mata tikus dienukleasi untuk mengevaluasi diameter kanalis Schlemm dan ketebalan trabekular meshwork.

Hasil: Didapatkan peningkatan TIO yang signifikan pada kelompok 3 (23,6±1,8mmHg) dan 5 (24,7±3,1mmHg) setelah 2 minggu perlakuan, dan pada kelompok 5 (28,7±4,0mmHg) setelah 4 minggu perlakuan ($p<0.05$). Didapatkan penurunan diameter kanalis Schlemm pada kelompok 3 (143.8±10.8µm) dan 5 (121,7±25,8µm), dan peningkatan ketebalan trabekular meshwork pada kelompok 5 (55,5±9.107µm) yang signifikan dibandingkan kelompok lain ($p<0.05$).

Kesimpulan: pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva dapat menyebabkan peningkatan TIO, penurunan ukuran diameter kanalis Schlemm, dan peningkatan ketebalan trabekular meshwork secara signifikan. Penelitian ini dapat digunakan dalam membuat hewan model hipertensi okuli untuk mempelajari glaukoma.

Kata kunci: betametason, deksametason, tekanan intraokuli, kanalis Schlemm, trabekular meshwork

Combination of Topical Betamethasone and Subconjunctival Dexamethasone on Increase Intraocular Pressure and Morphological Changes of Trabecular Meshwork in Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) Experimentally Induced Animal Model of Ocular Hypertension

Dessira Rizka Tri Ariany¹, Aulia Abdul Hamid²

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, University of Brawijaya

Dr Saiful Anwar General Hospital, Malang – Indonesia

Abstract

Aim: To evaluate whether combination of topical betamethasone and subconjunctival dexamethasone can increase intraocular pressure and causes morphological changes of trabecular meshwork in wistar rats, to induce ocular hypertension in animal model.

Methods: An experimental pre-test post-test study included 20 eyes of 20 male wistar rats divided into 5 group: negative control group (group 1), betamethasone topical 8 drops a day (1mg/ml) for 2 weeks (group 2) and 4 weeks (group 4), and combination of topical betamethasone 8 drops a day and weekly subconjunctival dexamethasone 0,1ml (5mg/ml) for 2 weeks (group 3) and 4 weeks (group 5). IOP measurement performed before treatment, at second week, and fourth week (for group 1, group 3, and group 5) after drug administration. The rat's eyeball was enucleated to evaluate the Schlemm's canal diameter and trabecular meshwork thickness.

Results: The IOP was 23.6 ± 1.8 mmHg in group 3 and 24.7 ± 3.1 mmHg in group 5 after two weeks, and 28.7 ± 4.0 mmHg in group 5 after four weeks which was significantly higher compared with negative control group, group 2, and group 4 ($p < 0.05$). The Schlemm's canal diameter in group 3 was 143.8 ± 10.8 μ m and group 5 was 121.7 ± 25.8 μ m, and trabecular meshwork thickness in group 3 was $35.5 (\pm 7.62)$ μ m and in group 5 was 55.5 ± 9.107 μ m which significantly difference compared with others group ($p < 0.05$).

Conclusion: It was concluded from this study that combination of topical betamethasone and subconjunctival dexamethasone can increase the intraocular pressure and trabecular meshwork thickness and decrease Schlemm's canal diameter after two weeks of treatment. This animal model can confidently be used for research in glaucoma study.

Keywords: betamethasone, dexamethasone, intraocular pressure, Schlemm's canal, trabecular meshwork

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
SURAT BEBAS PLAGIASI.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GRAFIK.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tekanan Intraokuli (TIO).....	5
2.1.1 Faktor yang Mempengaruhi Tekanan Intraokuli.....	5
2.1.2 Dinamika Humor Akuos.....	7
2.1.2.1 Produksi Humor Akuos.....	7
2.1.2.2 Drainase Humor Akuos pada Mata Normal.....	9
2.1.3 Tekanan Vena Episklera.....	10
2.1.4 Cara Pengukuran TIO.....	10
2.1.4.1 Tonometri Indentasi.....	10
2.1.4.2 Tonometri Aplanasi.....	11
2.2 Trabekular Meshwork.....	12
2.3 Kanalis Schlemm.....	14
2.4 Kortikosteroid.....	15
2.4.1 Betametason.....	15
2.4.2 Deksametason.....	16
2.4.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Penetrasi dan Efek Kortikosteroid.....	18



2.4.4	Cara Pemberian Kortikosteroid.....	19
2.4.5	Patofisiologi Peningkatan TIO Akibat Steroi.....	21
2.4.5.1	Matriks Ekstraseluler Trabekular Meshwork.....	21
2.4.5.2	Ekspresi Gen Myocilin (GLC1A).....	22
2.4.5.3	Sel Trabekular Meshwork.....	22
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....		24
3.1	Kerangka Teori.....	24
3.2	Kerangka Konsep.....	25
3.3	Hipotesis Penelitian.....	26
BAB 4 METODE PENELITIAN.....		27
4.1	Desain Penelitian.....	27
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	27
4.3	Subjek Penelitian.....	27
4.3.1	Kriteria Inklusi.....	27
4.3.2	Kriteria Eksklusi.....	27
4.3.3	Besar Replikasi.....	28
4.4	Variabel Penelitian.....	28
4.4.1	Variabel Bebas (<i>Independent</i>).....	28
4.4.2	Variabel Tergantung (<i>Dependent</i>).....	28
4.5	Definisi Operasional.....	28
4.6	Alat dan Bahan Penelitian.....	29
4.7	Perlakuan Subjek Penelitian.....	30
4.8	Metode Kerja.....	32
4.8.1	Pengukuran Tekanan Intraokuli.....	32
4.8.2	Injeksi Dekسامetason Subkonjungtiva.....	33
4.8.3	Pengambilan Jaringan Trabekular Meshwork.....	33
4.8.4	Pembuatan Parafin Blok.....	34
4.8.5	Proses Deparafinisasi.....	34
4.8.6	Proses Pewarnaan Hematoksilin-Eosin.....	34
4.8.7	Penilaian Morfologi Trabekular Meshwork.....	35
4.9	Teknik Analisis Data.....	35
4.10	Alur Kerja Penelitian.....	36
4.11	Organisasi Penelitian.....	36
4.12	Jadwal Penelitian.....	37



BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	38
5.1 Tekanan Intraokuli.....	39
5.2 Kanalis Schlemm.....	43
5.3 Trabekular Meshwork.....	46
BAB 6 PEMBAHASAN.....	51
BAB 7 PENUTUP.....	59
7.1 Kesimpulan.....	59
7.2 Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....	xv
LAMPIRAN 1.....	xx
LAMPIRAN 2.....	xxi
LAMPIRAN 3.....	xxv



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Pembentukan humor akuos..... 9

Gambar 2. Tono-Pen..... 12

Gambar 3. Tiga lapisan trabekular meshwork..... 13

Gambar 4. Struktur kimia betametason..... 16

Gambar 5. Struktur kimia deksametason..... 17

Gambar 6. Tonometer dan probe (Icare) yang digunakan..... 30

Gambar 7. Obat yang digunakan pada penelitian..... 30

Gambar 8. Sampel tikus yang digunakan pada penelitian..... 32

Gambar 9. Pengukuran tekanan intraokuli tikus..... 33

Gambar 10. Injeksi deksametason subkonjungtiva pada mata tikus..... 33

Gambar 11. Gambar kanalis Schlemm dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x..... 44

Gambar 12. Gambar trabekular meshwork dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x..... 47



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Potensi antiinflamasi dan peningkatan TIO dari macam-macam sediaan steroid topikal.....18

Tabel 2. Hasil uji normalitas tekanan intraokuli.....38

Tabel 3. Hasil uji normalitas diameter kanalis Schlemm dan ketebalan trabekular meshwork.....38

Tabel 4. Hasil uji homogenitas tekanan intraokuli.....39

Tabel 5. Hasil uji homogenitas diameter kanalis Schlemm dan ketebalan trabekular meshwork.....39

Tabel 6. Rata-rata hasil pengamatan TIO kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan.....40

Tabel 7. Hasil uji repeat ANOVA perbedaan rata-rata TIO kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan pada minggu ke-0 dan minggu ke-2.....41

Tabel 8. Hasil uji repeat ANOVA perbedaan rata-rata TIO kelompok kontrol negatif, kontrol positif II, dan perlakuan II pada minggu ke-0, minggu ke-2, dan minggu ke-4.....41

Tabel 9. Hasil uji Tukey perbedaan rata-rata TIO kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan pada minggu ke-2.....42

Tabel 10. Hasil uji Tukey perbedaan rata-rata TIO kelompok kontrol negatif, kontrol positif II, dan perlakuan II pada minggu ke-4.....42

Tabel 11. Rata-rata diameter kanalis Schlemm.....45

Tabel 12. Hasil uji one-way ANOVA perbedaan rata-rata diameter kanalis Schlemm.....45

Tabel 13. Hasil uji Tukey perbedaan rata-rata diameter kanalis Schlemm antarkelompok.....46

Tabel 14. Rata-rata ketebalan trabekular meshwork.....48

Tabel 15. Hasil uji one-way ANOVA perbedaan rata-rata ketebalan trabekular meshwork.....49

Tabel 16. Hasil uji Tukey perbedaan rata-rata ketebalan trabekular meshwork antarkelompok.....50

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Grafik rata-rata TIO kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan.....41

Grafik 2. Rata-rata diameter kanalis Schlemm.....45

Grafik 3. Rata-rata ketebalan trabekular meshwork.....48



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Glaukoma merupakan suatu kerusakan progresif optik neuropati dengan karakteristik degenerasi patologis dari *nonmyelinated* sel ganglion retina (SGR). Tekanan intraokuli (TIO) merupakan faktor risiko utama terjadinya glaukoma meskipun bukan merupakan tanda mutlak penyakit glaukoma. Berdasarkan teori mekanik, peningkatan tekanan intraokuli akan meregangkan lamina kribrosa sehingga merusak struktur akson dan menyebabkan kerusakan sel ganglion retina (SGR). Menurut teori vaskular, rusaknya sel ganglion retina terjadi akibat insufisiensi suplai darah okular baik karena TIO yang meningkat ataupun faktor risiko lain yang dapat mengurangi aliran darah okuli.¹ Mengingat pentingnya tekanan intraokuli dalam patofisiologi penyakit glaukoma, banyak percobaan yang menggunakan hewan model hipertensi okuli untuk mempelajari penyakit glaukoma serta untuk menemukan target obat terapeutik pada penyakit glaukoma.²⁻⁴

Terdapat banyak teknik yang tersedia untuk menginduksi hipertensi okuli pada hewan model, namun demikian, teknik yang ideal untuk membuat hewan model hipertensi okuli masih terus dikembangkan, salah satunya adalah dengan menggunakan steroid. Steroid telah dikenal dalam meningkatkan tekanan intraokuli sejak tahun 1950. Pemberian steroid topikal, oral, atau sistemik dapat menghasilkan kenaikan tekanan intraokuli pada mata yang normal. Mekanisme pasti terjadinya peningkatan tekanan intraokuli akibat pemakaian kortikosteroid sampai saat ini belum diketahui secara pasti. Mekanisme peningkatan tekanan intraokuli yang diinduksi oleh steroid diduga disebabkan oleh meningkatnya resistensi aliran humor akuos akibat perubahan pada fisiologi dan morfologi trabekular meshwork dan kanalis Schlemm. Penyempitan diameter lumen kanalis Schlemm dan peningkatan ketebalan trabekular meshwork dapat menyebabkan peningkatan resistensi aliran humor akuos yang pada akhirnya menyebabkan peningkatan tekanan intraokuli.⁵⁻⁹

Deksametason dan betametason merupakan jenis kortikosteroid yang banyak digunakan dengan harga terjangkau dan ketersediaan obat yang mudah didapatkan. Deksametason dan betametason memiliki potensi sekitar 5 hingga 10 kali lipat lebih kuat dari prednisolon dan 25 kali lebih kuat daripada hidrokortison.¹⁰

Peningkatan TIO akibat penggunaan deksametason dan betametason biasanya

mempunyai kebutuhan waktu hingga beberapa minggu pemaparan konstan dan lebih mungkin dihasilkan dari pemberian steroid topikal dan periokular dibandingkan sistemik.^{3,11,12} Beberapa penelitian telah menggunakan deksametason dan betametason topikal dan periokular untuk menginduksi hewan model hipertensi okuli. Sawaguchi *et al.* menggunakan deksametason tetes mata empat kali sehari pada tikus, dimana peningkatan TIO terjadi setelah dua minggu pemberian obat.¹³ Khan *et al.* (2014) menggunakan injeksi betametason subkonjungtiva untuk menginduksi hipertensi okuli pada kelinci, dimana peningkatan TIO yang signifikan didapatkan setelah injeksi keempat dengan rata-rata TIO $26,52 \pm 0,30 \text{ mmHg}$.¹¹ Kartika (2017), menggunakan betametason tetes mata empat kali sehari dan delapan kali sehari pada tikus pada selama empat minggu, dimana tidak terjadi peningkatan TIO yang signifikan meskipun didapatkan penurunan ukuran diameter kanalis Schlemm dan peningkatan ketebalan trabekular meshwork.¹⁴

Sejauh ini belum ada penelitian yang menggunakan kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason dalam membuat tikus model hipertensi okuli. Pemberian kombinasi kortikosteroid topikal dan periokular pernah dilakukan oleh Zhao *et al.* (2010) dengan menggunakan kombinasi kortikosteroid dari golongan yang berbeda, yaitu dengan kombinasi tetes mata deksametason dan injeksi triamcinolone subkonjungtiva pada kelinci. Penelitian Zhao *et al.* (2010) ini membandingkan TIO serta perubahan morfologi trabekular meshwork antara kelinci yang mendapatkan tetes mata deksametason tiga kali sehari dengan kelinci yang mendapatkan kombinasi tetes mata deksametason tiga kali sehari dan injeksi triamcinolone subkonjungtiva 3mg perminggu selama delapan minggu, dengan hasil pada kelinci yang mendapatkan kombinasi tetes mata deksametason dan injeksi triamcinolone subkonjungtiva didapatkan peningkatan TIO dan perubahan morfologi trabekular meshwork yang lebih besar. Berdasarkan penelitian ini, peningkatan TIO yang signifikan mulai terlihat setelah tiga minggu perlakuan, dari $18,082 (\pm 2,398) \text{ mmHg}$ menjadi $24,056 (\pm 1,245) \text{ mmHg}$, dan mencapai puncak pada enam minggu setelah perlakuan dengan TIO rata-rata $30,214 (\pm 0,766) \text{ mmHg}$.¹⁵ Meskipun penelitian Zhao *et al.* (2010) telah dapat membuktikan keunggulan kombinasi kortikosteroid secara periokular dan topikal, tetapi ketersediaan obat tetes mata deksametason murni sulit didapatkan dan harga obat triamcinolone cukup mahal, sehingga pada penelitian ini digunakan kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason dengan harga yang lebih terjangkau dan mudah didapatkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi apakah pemberian kombinasi betametason topikal dan injeksi deksametason subkonjungtiva dapat menyebabkan peningkatan tekanan intraokuli dan perubahan morfologi trabekular meshwork pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar. Tikus strain wistar dipilih sebagai hewan model hipertensi okuli karena tikus memiliki banyak kelebihan dibandingkan hewan model nonprimata lainnya. Tikus memiliki karakteristik anatomi kamera okuli anterior dan *aqueous outflow pathway* yang sama dengan manusia. Oleh karena itu, hasil yang didapat dari tikus diharapkan dapat menyerupai perubahan yang terjadi pada manusia.^{2,16} Pada penelitian ini diharapkan pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar sebagai tikus model hipertensi okuli dapat digunakan sebagai metode baru untuk mengembangkan hewan model yang sederhana dan ideal untuk mempelajari glaukoma, dimana waktu yang dibutuhkan untuk menginduksi hipertensi okuli diharapkan lebih singkat, dengan harga yang lebih terjangkau, dan mudah didapatkan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva berpengaruh terhadap peningkatan tekanan intraokuli tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar?
2. Apakah pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva berpengaruh terhadap peningkatan ketebalan trabekular meshwork dan penyempitan ukuran diameter kanalis Schlemm tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva terhadap peningkatan tekanan intraokuli tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva terhadap peningkatan ketebalan trabekular meshwork dan penyempitan ukuran diameter kanalis Schlemm tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva terhadap peningkatan tekanan intraokuli tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar.
2. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva terhadap perubahan morfologi trabekular meshwork tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar.
3. Sebagai metode baru dalam membuat hewan model hipertensi okuli.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tekanan Intraokuli (TIO)

Tekanan intraokuli berperan penting dan merupakan faktor risiko utama terjadinya neuropati optik glaukوماتosa. Neuropati optik glaukوماتosa terjadi akibat adanya kematian (apoptosis) sel ganglion retina (SGR) yang bersifat progresif yang ditandai dengan ekskavasi atau *cupping* papil saraf optik, penipisan neuroretinal rim, dan defek serabut saraf pada area tertentu sebagai *sine qua non* dari segala tipe glaukoma.^{4,17,18} Meskipun tekanan intraokuli bukan lagi merupakan tanda mutlak pada glaukoma, akan tetapi tekanan intraokuli merupakan faktor risiko utama terjadinya glaukoma yang dapat dimodifikasi untuk mencegah progresivitas penyakit ini.²⁻⁴

Tekanan intraokuli (TIO) merupakan hasil pengukuran tekanan cairan yang berada di dalam bola mata dan didefinisikan sebagai hasil dari keseimbangan antara produksi dan pembuangan humor aqueous.^{19,20} Besarnya tekanan intraokuli pada tiap individu berbeda-beda. Distribusi tekanan intraokuli dari populasi umum berkisar antara 11-20mmHg dengan rata-rata $16 \pm 2,5 \text{ mmHg}$.²¹

2.1.1 Faktor yang Mempengaruhi Tekanan Intraokuli

Banyak faktor yang memengaruhi besarnya tekanan intraokuli, antara lain genetik, usia, jenis kelamin, kelainan refraksi, ras, variasi diurnal, posisi tubuh, olahraga, pergerakan kelopak mata, kondisi sistemik, makanan, dan obat-obatan.^{4,19,22}

- a. Genetik: tekanan intraokuli pada populasi umum dipengaruhi oleh faktor keturunan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sejumlah keluarga dekat (*first-degree relatives*) pasien dengan glaukoma sudut terbuka memiliki TIO yang cenderung lebih tinggi dibandingkan populasi normal.
- b. Usia: terdapat korelasi positif antara tekanan intraokuli dan faktor usia. Peningkatan TIO pada pasien usia tua diketahui berhubungan dengan peningkatan tekanan darah, denyut nadi, dan obesitas yang seringkali terjadi pada pasien usia tua.
- c. Jenis kelamin: tekanan intraokuli pada wanita lebih tinggi dibandingkan pria, terutama pada wanita yang berusia di atas 40 tahun. Sementara

tekanan intraokuli pada kedua jenis kelamin pada usia 20 sampai 40 tahun tidak berbeda signifikan.

- d. Kelainan refraksi: terdapat korelasi positif antara tekanan intraokuli dengan panjang aksial bola mata dan derajat miopia. Hal ini disebabkan oleh tekanan biomekanik akibat terjadinya peningkatan panjang aksial bola mata dan stres oksidatif yang terlibat dalam perkembangan glaukoma pada mata miopia.
- e. Ras: orang kulit hitam telah dilaporkan memiliki tekanan intraokuli lebih tinggi dibanding kulit putih, meskipun belum diketahui secara pasti apakah hal ini disebabkan oleh faktor genetik atau lingkungan.
- f. Variasi diurnal: tekanan intraokuli pada manusia mengikuti ritme sirkadian. Pada individu tanpa glaukoma, TIO bervariasi 2-6mmHg selama periode 24 jam sejalan dengan perubahan produksi dan aliran keluar humor akuos. Sedangkan pada penderita glaukoma didapatkan fluktuasi diurnal lebih dari 10mmHg. Pola variasi sirkadian dari TIO berhubungan dengan ritme sirkadian dari fungsi yang lain seperti tekanan darah, temperatur tubuh, dan sekresi kortikosteroid adrenal. Secara umum, TIO tertinggi terjadi pada pagi hari dan tekanan terendah terjadi pada malam hari. Hal ini disebabkan oleh aliran akuos humor yang meningkat pada pagi hingga siang hari dan menurun pada malam hari.
- g. Posisi tubuh: perubahan posisi tubuh berpengaruh pada tekanan intraokuli. Ketika terjadi perubahan posisi dari posisi duduk ke posisi telentang, terdapat peningkatan TIO hingga 6mmHg. Peningkatan TIO pada posisi telentang disebabkan oleh peningkatan tekanan vena episklera. Peningkatan TIO secara signifikan pada perubahan posisi dari posisi telentang ke posisi lateral dekubitus disebabkan karena gravitasi dan terjadi pergeseran cairan tubuh. Selain itu pada posisi ini dapat terjadi penekanan vena jugularis pada leher. Kedua keadaan ini dapat meningkatkan tekanan vena episklera.
- h. Aktivitas fisik: olahraga seperti lari, bersepeda, dan latihan aerobik telah dilaporkan dapat menurunkan tekanan intraokuli. Teori mekanisme penurunan TIO akibat olahraga mencakup peningkatan tekanan osmotik koloid, asidosis metabolik, hipokapnia, tingkat kadar laktat darah, dan aktivitas simpatis. Sementara olahraga seperti angkat berat, dan aktivitas yang berkaitan dengan manuver valsava dapat menaikkan TIO karena

terjadi peningkatan tekanan intrakranial dan peningkatan tekanan vena periokular.

i. Pergerakan kelopak mata: berkedip dapat meningkatkan tekanan intraokuli hingga 10mmHg, sedangkan berkedip dengan paksa dapat meningkatkan TIO hingga 90mmHg.

j. Kondisi sistemik: sebagian besar penelitian telah menunjukkan adanya korelasi positif antara hipertensi sistemik khususnya tekanan sistolik dengan tekanan intraokuli. Faktor sistemik lain yang mempunyai korelasi positif dengan TIO adalah obesitas, dan diabetes mellitus.

k. Makanan dan obat-obatan: alkohol dan diet bebas lemak telah dibuktikan dapat menurunkan tekanan intraokuli. Sementara penggunaan obat-obatan golongan siklopegik topikal dan beberapa obat-obatan sistemik memiliki efek kolinergik yang dapat meningkatkan TIO. Obat-obatan yang digunakan pada anestesi umum biasanya dikaitkan dengan penurunan TIO. Mekanisme yang mengakibatkan ini adalah relaksasi otot, penurunan tekanan darah, peningkatan kadar karbondioksida dalam darah, dan efek sentral langsung dari obat anestesi umum.

2.1.2 Dinamika Humor Akuos

Keseimbangan antara produksi, sirkulasi, dan drainase humor akuos (HA) dari bilik mata posterior merupakan faktor penting dalam menjaga TIO pada level stabil, menyediakan nutrisi bagi jaringan okular avaskular, dan memelihara bentuk bola mata yang konstan. Parameter dinamika humor akuos meliputi kecepatan produksi humor akuos, sistem drainase humor akuos, dan tekanan vena episklera. Apabila parameter tersebut terganggu, maka kondisi patologis yang mempengaruhi TIO akan muncul.^{4,20,23}

2.1.2.1 Produksi Humor Akuos

Humor akuos disekresikan oleh epitel prosesus siliaris. Terdapat tiga proses fisiologis yang berkontribusi pada pembentukan dan komposisi kimiawi dari humor akuos, yakni difusi, ultrafiltrasi, dan sekresi aktif. Proses terakhir diperantarai oleh transporter yang merupakan protein dalam membran dan memerlukan energi dari hidrolisis *adenosine triphosphate* (ATP). Difusi dan ultrafiltrasi bertanggung jawab terhadap pembentukan *reservoir* plasma yang terultrafiltrasi di dalam stroma. Transport aktif sodium yang dependen energi ke

dalam bilik mata posterior oleh *nonpigmented epithelial cells* (NPE) proses siliaris menghasilkan pergerakan cairan stroma menuju bilik mata posterior.

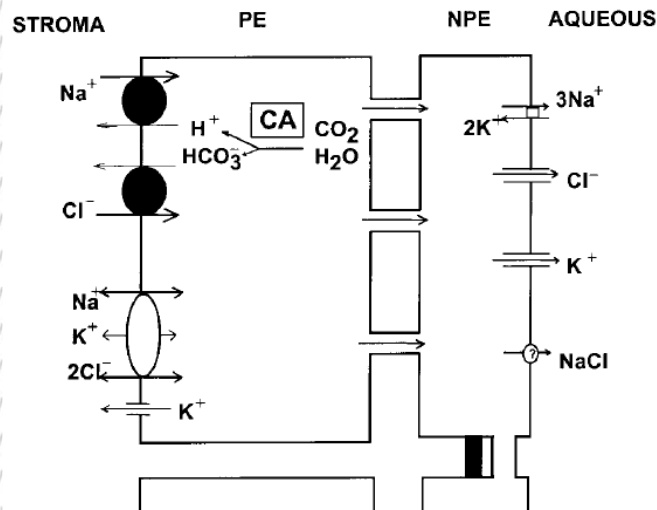
Sekresi aktif bersifat tidak sensitif terhadap TIO pada kondisi fisiologis, namun komponen ultrafiltrasi bersifat sensitif terhadap perubahan TIO. Pada mata manusia, kecepatan produksi dan drainase humor akuos berkisar $2,5\mu$ /menit.

Pada kondisi normal, sekresi aktif ini berperan pada 80-90% produksi humor akuos.^{9,23}

Proses aktif sekresi humor akuos diperantarai oleh transport aktif selektif dari ion dan senyawa yang melewati membran basolateral NPE melawan gradien konsentrasi. Dua enzim yang berperan dalam proses ini adalah *sodium-potassium-activated adenosine triphosphate* ($\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$) dan *carbonic anhydrase*. $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ yang banyak ditemukan terikat pada membran plasma lipatan basolateral NPE proses siliaris.^{9,24}

Dalam menjaga netralitas elektron, anion harus mendampingi Na^+ yang tersekresi secara aktif sehingga klorida dapat menembus kanal klorida pada membran basolateral dan HCO_3^- dapat memasuki akuos melalui pertukaran dengan klorida. Proses tersebut menciptakan osmolaritas tinggi pada sisi basolateral dari sel NPE sehingga cairan berdifusi keluar dari sel. Pergerakan cairan ini difasilitasi oleh *aquaporin* (AQP) pada sel NPE (AQP 1 dan 4). Sodium dan klorida secara kontinyu masuk ke dalam sel epitel berpigmen (PE) siliaris agar sekresi humor akuos tetap terjadi. Hal ini dilakukan oleh *antiport* Na^+/H^+ dan $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ dan kotransport $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$.^{9,24}

Transport ion Cl^- memainkan peran yang sama pentingnya dengan transport ion Na^+ . *Bestrophin-2* yang merupakan protein yang mengatur konduktansi $\text{Cl}^-/\text{Ca}^{2+}$ teraktivasi, berlokasi pada sel NPE dan diduga berperan pada regulasi pembentukan humor akuos. *Carbonic anhydrase* (CA) terdapat pada membran basal dan lateral serta sitoplasma *pigmented epithelial cells* (PE) dan NPE proses siliaris. Isoenzim CA (II, IV, dan XII) terletak pada proses siliaris yang menyebabkan konversi CO_2 dan H_2O menjadi asam karbonik, kemudian terjadi disosiasi H^+ dan HCO_3^- untuk menyediakan HCO_3^- yang merupakan molekul penting untuk sekresi aktif humor akuos. Ion potasium ditransport melalui sekresi dan difusi. Terdapat tiga tipe kanal K^+ pada sel NPE maupun sel siliaris berpigmen, yakni *inward rectifier*, *delayed rectifier*, dan kanal K^+ teraktivasi CA^{2+} .^{9,24}



Gambar 1. Pembentukan humor akuos. Karbonik anhidrase menyebabkan disosiasi H^+ dan HCO_3^- yang membatasi *uptake* $NaCl$ di stroma melalui *antiport*. Secara paralel, Na^+ dan Cl^- dapat masuk atau keluar dari sel PE melalui kotransport $Na^+K^+2Cl^-$. Pada permukaan kontralateral, Na^+ dan Cl^- dapat dilepaskan dari sel NPE ke dalam humor akuos melalui Na^+K^+ -ATPase yang teraktivasi dan kanal Cl^- .²⁴

2.1.2.2 Drainase Humor Akuos pada Mata Normal

Terdapat dua jalur yang berbeda dari aliran keluar humor akuos. Jalur aliran utama humor akuos adalah jalur trabekular atau jalur konvensional. Jalur berikutnya adalah jalur uveosklera atau jalur nonkonvensional. Aliran melalui jalur trabekular tergantung pada tekanan sedangkan aliran melalui jalur uveoskleral tidak tergantung tekanan.^{4,9}

1. Jalur trabekular

Jaringan trabekular tersusun atas lapisan multipel dimana setiap lapisan merupakan jaringan ikat kolagen yang terbungkus oleh lapisan endotelial. Aliran humor akuos pada tempat ini bergantung pada tekanan. Jaringan ini berfungsi sebagai katup satu arah yang bersifat independen terhadap energi. Sel-selnya berfungsi sebagai fagositik, migrator, perluasan metabolisme, lisosomal, dan enzim, yang mendegradasi matriks serta memproduksi elemen matriks ekstraselular. Jalur trabekular terbagi menjadi tiga bagian, yakni uveal, korneoskleral, dan jukstakanalikular (JXT). JXT merupakan lokasi utama terjadinya resistensi aliran humor akuos dan membentuk sistem kanalis Schlemm.^{4,9}

2. Jalur uveoskleral

Pada jalur uveoskleral sejumlah kecil humor akuos mengalir dari kamera okuli anterior melalui jaringan ikat longgar yang berada di

antara serabut-serabut longitudinal otot siliaris. Serabut-serabut ini masuk dari posterior ke jaringan ikat di ruang suprakoroid. Cairan kemudian keluar mata melalui sklera yang intak atau sepanjang saraf dan pembuluh darah yang penetrasi ke dalam sklera. Drainase ini disebut dengan jalur nonkonvensional dan bersifat tidak tergantung pada TIO. Melalui jalur ini, terjadi aliran humor akuos sebesar 5-15% dari total aliran humor akuos.^{4,9}

2.1.3 Tekanan Vena Episklera

Tekanan vena episklera relatif stabil, kecuali pada perubahan posisi tubuh mendadak dan pada beberapa penyakit orbita, kepala, dan leher yang menghalangi aliran darah vena kembali ke jantung atau *shunt* darah arteri ke sistem vena. Rentang nilai normalnya adalah 8-10mmHg. Setiap peningkatan TIO 1mmHg akan meningkatkan 1mmHg tekanan vena episklera. Adanya peningkatan yang abnormal dapat mengakibatkan kolaps kanalis Schlemm dan meningkatkan resistensi aliran humor akuos.⁴

2.1.4 Cara Pengukuran TIO

Tonometri adalah cara pengukuran TIO dengan memakai alat-alat yang telah terkalibrasi yang melekkukan (indentasi) dan meratakan (aplanasi) permukaan kornea. Instrumen yang digunakan sebagai tonometri disebut tonometer.^{4,22}

2.1.4.1 Tonometri Indentasi

Prinsip dasar dari tonometri indentasi adalah beban yang telah diketahui besarnya akan melekkukan permukaan yang berisi cairan. Derajat lekukan akan lebih tinggi jika tekanan di dalamnya rendah, begitu pula sebaliknya. Salah satu contoh dari tonometer indentasi adalah tonometer Schiotz.^{4,22}

Pemeriksaan dengan tonometer Schiotz dilakukan dengan posisi telentang. Prinsip kerja dari tonometer Schiotz adalah dengan memberi beban langsung pada bola mata dimana beban dengan berat tertentu akan melekkukan permukaan kornea. Derajat lekukan ini akan terbaca pada skala. Makin tinggi TIO, makin tinggi tahanan dari terjadinya lekukan, dan makin jauh menggeser jarum skala. Nilai yang ditunjukkan pada alat, selanjutnya akan dikonversikan dengan tabel konversi yang ada.^{4,22}

2.1.4.2 Tonometri Aplanasi

Tonometer aplanasi mengukur beban yang diberikan untuk meratakan permukaan kornea. Pada TIO yang lebih rendah, lebih sedikit beban tonometer yang dibutuhkan untuk mencapai derajat standar perataan kornea, dibanding dengan TIO yang lebih tinggi.^{4,22}

Tonometer aplanasi yang banyak digunakan adalah tonometer Goldmann. Tonometer aplanasi Goldmann mengukur kekuatan yang diberikan untuk mendatarkan permukaan suatu area pada permukaan kornea dengan diameter 3,06mm. Setelah kontak dengan permukaan kornea, ujung tonometer meratakan bagian tengah kornea dan menghasilkan garis fluoresin melingkar tipis. Sebuah prisma di ujung visual memecah lingkaran ini menjadi dua setengah lingkaran yang tampak hijau melalui okuler *slit lamp*. Beban tonometer diatur secara manual sampai kedua setengah lingkaran tersebut tepat bertumpuk. Titik akhir visual ini menunjukkan bahwa kornea telah didatarkan oleh beban yang diatur. Beban ini diterjemahkan oleh skala menjadi tekanan dalam millimeter air raksa (mmHg).^{4,22}

Tonometer Perkins dan Draeger adalah sebuah tonometer aplanasi mekanik portabel dengan mekanisme yang mirip dengan tonometer Goldmann. Tonometer Perkins dan Draeger memiliki prinsip kerja sama dengan tonometer Goldmann. Perbedaannya adalah tonometer Perkins dan Draeger ini portabel sehingga mudah untuk dibawa dan dapat digunakan dalam berbagai macam posisi, terutama pada pasien yang tidak memungkinkan untuk diperiksa di depan *slit lamp*.^{4,22}

Pneumotonometer adalah tonometer aplanasi lain dengan sensor menggunakan tekanan udara yang berguna untuk kornea yang tidak rata. Pneumotonometer mempunyai prinsip kerja gabungan antara tonometer aplanasi dengan indentasi. Cara pemeriksaannya yaitu dengan indentasi kornea menggunakan *silicon tip* pada alat tersebut. Nilai yang tertera pada alat ini sama pembacaannya dengan tonometer aplanasi, tanpa harus dikonversikan nilainya.^{4,22}

Tono-Pen adalah sebuah tonometer aplanasi portabel. Proses kerja Tono-Pen sama dengan pneumotonometer yang menggunakan prinsip kerja aplanasi dan indentasi. Tono-Pen ini memiliki permukaan yang rata dimana bagian tengahnya terdapat *pluger* yang resisten terhadap kornea. Nilai yang keluar akan berupa angka digital. Pemeriksaan dengan Tono-Pen sebaiknya dilakukan lebih dari satu kali kemudian diambil nilai rata-rata dari pemeriksaan tersebut.^{4,22}

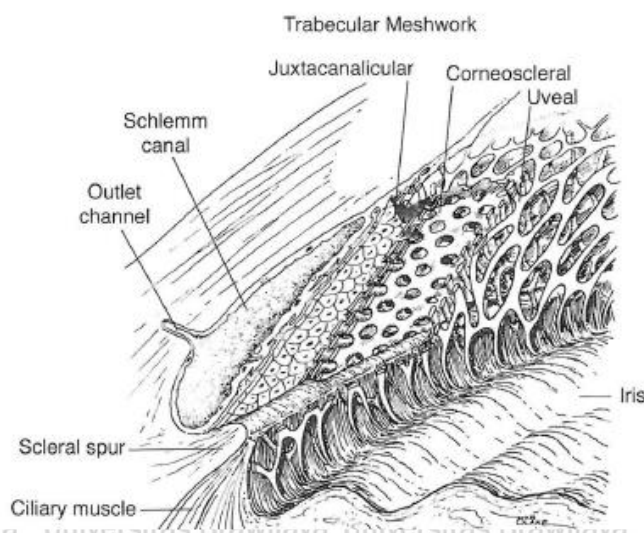


Gambar 2. Tono-Pen.²²

Tonometri aplanasi dan indentasi memerlukan kontak alat dengan kornea sehingga memerlukan anestesi lokal. Pada tonometer non-kontak tidak ada bagian yang menempel pada mata sehingga tidak memerlukan anestesi. Alat ini menghembuskan sedikit udara pada kornea. Udara yang terpantul dari permukaan kornea mengenai membran penerima tekanan pada alat ini.^{4,22}

2.2 Trabekular Meshwork

Jaringan trabekular meshwork terdiri dari tiga lapisan. Dari bagian dalam ke bagian terluar, lapisan jaringan yang paling dekat dengan kamera okuli anterior adalah uveal meshwork, dibentuk oleh perpanjangan jaringan penghubung dari stroma iris dan korpus siliaris yang tertutup oleh sel endotel. Lapisan ini tidak banyak melawan aliran keluar humor akuos karena ruang interselulernya besar.^{4,25}



Gambar 3. Tiga lapisan trabekular meshwork. Humor akuos melewati lapisan dalam dari uveal meshwork. Lapisan ini merupakan lembaran-lembaran pipih perpanjangan dari otot siliaris yang tidak menimbulkan tahanan yang signifikan terhadap drainase humor akuos. Lapisan tengah yaitu korneal meshwork berupa lembaran-lembaran jaringan ikat yang berlubang dan terletak antara *scleral spur* dan *Schwalbe line*. Bagian pembukanya sangat kecil dan menyebabkan resistensi terhadap drainase humor akuos. Lapisan yang lebih luar adalah juktakanalikular meshwork yang terletak di dinding dalam kanalis Schlemm. Bagian pembuka lapisan ini sangat sempit dan bentuknya ireguler sehingga menyebabkan resistensi yang tinggi pada drainase humor akuos.⁴

Lapisan kedua, yang dikenal sebagai korneoskleral meshwork, ditandai dengan adanya lamela yang ditutupi oleh sel-sel mirip sel endotel di atas membran basal. Lamela dibentuk oleh glikoprotein, kolagen, asam hialuronat dan serat elastis. Susunan korneoskleral meshwork dan uveal meshwork serta ruang interseluler yang menyempit bertanggung jawab atas peningkatan resistensi aliran keluar.^{4,25}

Lapisan ketiga, yang bersentuhan langsung dengan dinding bagian dalam sel endotel dari kanalis Schlemm, adalah juktakanalikular atau kibriform meshwork. Lapisan ini dibentuk oleh sel-sel yang tertanam dalam matriks ekstraselular padat, dan sebagian besar resistensi aliran terletak pada lapisan ini karena ruang antarselulernya sempit. Lapisan sel endotel dari kanalis Schlemm adalah penghalang terakhir dari humor akuos sebelum keluar mata. Karena kepadatan yang tinggi dari pori-pori di permukaannya, teori memperkirakan bahwa lapisan ini memberikan 10% dari total resistensi di jalur konvensional aliran keluar humor akuos.^{4,25}

Terjadinya proses aliran humor akuos dipengaruhi oleh kontraksi dari otot siliaris serta perubahan bentuk sel trabekular. Sel-sel trabekular meshwork ini mengandung α -aktin dan miosin yang berfungsi dalam kontraksi otot polos. Kontraksi sel-sel trabekular meshwork merupakan respon terhadap mediator asetilkolin terkait dengan adanya reseptor muskarinik. Sedangkan relaksasi sel trabekular meshwork diinduksi oleh nitrovasodilator. Pada proses kontraksi, lebar ruang intertrabekular akan menurun sehingga aliran humor akuos akan berkurang. Sedangkan pada proses relaksasi, aliran humor akuos akan meningkat akibat melebarnya ruang intertrabekular.^{4,25}

Aktivitas biologis sel-sel trabekular meshwork adalah untuk melisiskan bahan ekstraselular dan fagositosis. Faktor-faktor mekanis dan biologis sel-sel trabekular ini akan mempengaruhi resistensi aliran humor akuos. Kultur sel

trabekular dapat mensintesis komponen bahan-bahan ekstraselular yang meliputi glikosaminoglikan, hyaluronan, sulfat heparin, dan kondroitin sulfat.^{4,25}

2.3 Kanalis Schlemm

Regulasi humor akuos dipengaruhi oleh kanalis Schlemm. Karena letak dan karakteristik yang dimiliki kanalis Schlemm ini, regulasi humor akuos dapat berjalan. Kanalis Schlemm merupakan daerah resistensi terakhir yang dilewati humor akuos sebelum memasuki sirkulasi. Sel-sel yang terdapat pada jaringan ini berfungsi mengatur lumen kanalis Schlemm agar dapat dilewati oleh humor akuos.^{4,25}

Lapisan endotel dalam kanalis Schlemm merupakan batas antara kompartemen cairan intraokuli dan vaskular. Lapisan endotel ini tidak mengandung matriks ekstraselular. Pada dinding dalam endotel terbentuk *giant vacuole* yang berhubungan dengan lapisan jukstakanalikular trabekular meshwork. Kanalis Schlemm dan trabekular meshwork memegang peranan penting dalam resistensi humor akuos. Akumulasi material-material yang terdapat pada trabekular meshwork akan mempengaruhi perubahan diameter kanalis Schlemm. Resistensi humor akuos akan meningkat dengan menyempitnya diameter lumen kanalis Schlemm, dan hal ini berpengaruh pada peningkatan tekanan intraokuli.^{4,25}

2.4 Kortikosteroid

Kortikosteroid adalah golongan obat antiinflamasi yang biasa digunakan untuk mengobati berbagai penyakit okular dan sistemik. Penggunaan steroid bisa menyebabkan peningkatan tekanan intraokuli yang signifikan dan menyebabkan terjadinya glaukoma. Steroid diketahui dapat menginduksi hipertensi okular pada pemberian secara topikal, periokular, sistemik, maupun inhalasi. Hipertensi okular akibat pemberian steroid dapat bersifat reversibel, dan bila dilakukan intervensi pada waktu yang tepat, dapat mencegah penurunan penglihatan.⁵ Sejumlah obat yang dapat menyebabkan glaukoma akibat steroid adalah deksametason, betametason, prednisolon, medrison, fluorometolon, triamsinolon, dan hidrokortison.^{5,6}

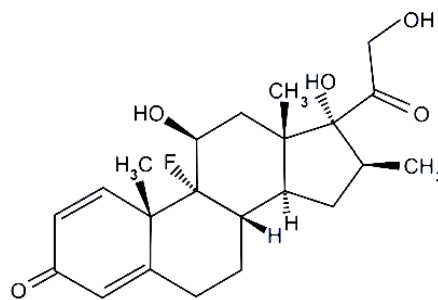
2.4.1 Betametason

Betametason merupakan salah satu obat golongan kortikosteroid sintetik yang berfungsi sebagai immunosupresan dan antiinflamasi.^{26,27} Obat ini dapat menekan sistem kekebalan tubuh, meredakan gejala peradangan dan alergi.

Sama seperti deksametason, betametason mempunyai aktivitas glukokortikoid yang sangat tinggi sedangkan aktivitas mineralokortikoidnya sangat rendah.

Betametason merupakan derivat dari prednisolon yang memiliki gugus 16 β -metil sehingga dapat meningkatkan efek antiinflamasi molekul dan mengurangi retensi air dan sodium dari atom fluorin yang terikat pada karbon. Hal ini membuat betametason cocok digunakan untuk kondisi yang memerlukan kortikosteroid dosis tinggi yang tidak disertai retensi cairan yang membahayakan. Betametason bekerja dengan cara mencegah dan mengendalikan peradangan (inflamasi) dengan mengendalikan laju sintesis protein, menekan migrasi leukosit polimorfonuklear dan fibroblas, menurunkan permeabilitas kapiler dan stabilisasi lisosomal pada level selular. Betametason tersedia dalam beberapa bentuk senyawa, diantaranya betametason dipropionat, sodium fosfat, dan valerat.

Rumus kimia betametason asetat adalah C₂₄H₃₁FO₆, dengan berat molekul 434,5g/mol.²⁷



Gambar 4. Struktur kimia betametason.²⁸

Berdasarkan penelitian Watson *et al.* (1990) diketahui bahwa betametason topikal sodium fosfat 0,1% dapat mencapai konsentrasi tertinggi dalam humor akuos pada interval 91-120 menit setelah pemberian betametason topikal, dengan rata-rata konsentrasi 7,7ng/ml. Namun, pada 12 jam pasca pemberian betametason topikal, konsentrasi rata-rata menjadi 2,5ng/ml dan turun hingga 0,4ng/ml dalam waktu 24 jam hingga tidak dapat terdeteksi di dalam humor akuos.^{12,29} Selain itu, penggunaan betametason topikal 0,1% selama 2-4 minggu telah terbukti dapat menyebabkan peningkatan TIO yang signifikan dan

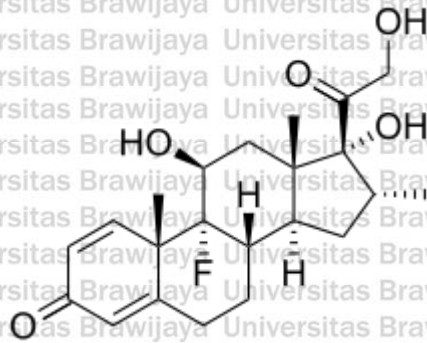
menunjukkan penurunan aliran humor akuos. Tekanan intraokuli akan kembali normal setelah 1 minggu penghentian tetes mata.³⁰

Kadom *et al.* (1997) meneliti efek injeksi betametason subkonjungtiva terhadap tekanan intraokuli 85 kelinci albino Selandia Baru. Injeksi betametason suspensi subkonjungtiva diberikan setiap satu minggu sekali. Dari penelitian ini didapatkan bahwa injeksi betametason suspensi subkonjungtiva selama 4 minggu dapat menghasilkan peningkatan TIO yang berlangsung hingga 11 minggu. Hal ini menunjukkan bahwa injeksi betametason suspensi subkonjungtiva berperan dalam menyebabkan hipertensi okular dengan peningkatan TIO yang dapat diprediksi dan dapat digunakan untuk menguji efek antiglaukoma jangka pendek dan jangka panjang.³¹

2.4.2 Deksametason

Deksametason merupakan salah satu obat golongan kortikosteroid sintetik yang berfungsi sebagai immunosupresan dan antiinflamasi. Kortikosteroid adalah suatu hormon yang dibuat oleh bagian korteks (luar) dari kelenjar adrenal. Kortikosteroid sintetik diambil dari asam folat ternak atau steroid sapogenin yang ditemukan pada tumbuhan. Deksametason digolongkan dalam kelompok glukokortikoid yang berperan mengendalikan metabolisme karbohidrat dan lemak. Hasil dari sintesis deksametason memiliki dua derivat yaitu deksametason aasetat dan deksametason sodium fosfat. Rumus kimia deksametason adalah $C_{22}H_{29}FO_5$, dengan berat molekul 392,461g/mol.³²

Mekanisme kerja deksametason sebagai antiinflamasi adalah dengan menekan migrasi neutrofil, menghambat migrasi serta proliferasi sel fibroblas, mengurangi produksi mediator inflamasi, mengaktifkan sitokin proinflamasi dan menurunkan permeabilitas kapiler yang semula tinggi dan menekan respon imun. Kortikosteroid seperti deksametason bekerja dengan cara mempengaruhi kecepatan sintesis protein. Molekul hormon memasuki sel jaringan melalui membran plasma secara difusi pasif di jaringan target, kemudian bereaksi dengan reseptor protein yang spesifik dalam sitoplasma sel jaringan dan membentuk kompleks reseptor steroid. Kompleks ini mengalami perubahan konformasi, lalu bergerak menuju nukleus dan berikatan dengan kromatin. Ikatan ini menstimulasi transkripsi RNA dan sintesis protein spesifik. Induksi sintesis protein ini merupakan perantara efek fisiologik steroid.³²



Gambar 5. Struktur kimia deksametason.³³

Deksametason topikal telah terbukti dapat menyebabkan peningkatan tekanan intraokuli. Akingbehin (1983) meneliti tentang efek pemberian tetes mata fluorometolon 0,1% dan deksametason 0,1% empat kali sehari selama 6 minggu. Pemberian tetes mata dihentikan jika kenaikan TIO > 15 mmHg. Dari hasil penelitian, peningkatan TIO rata-rata adalah 8,58 mmHg untuk pemberian deksametason dan 2,96 mmHg untuk pemberian fluorometolon, dengan peningkatan TIO > 10 mmHg pada 45,8% pasien dengan pemberian deksametason dan 4,2% pasien dengan pemberian fluorometolon.³⁴

Cantrill *et al.* (1975) meneliti tentang peningkatan TIO pada pemberian berbagai jenis kortikosteroid topikal pada pasien dengan menggunakan deksametason 0,1%, deksametason fosfat 0,005%, medrison 1%, tetrahydrotriamsinolon 0,25%, hidrokortison 0,5%, dan prednisolon asetat 1%. Dari berbagai kortikosteroid yang diteliti, pemberian deksametason tetes mata 0,1% empat kali sehari selama 2-6 minggu dapat menyebabkan peningkatan TIO yang paling besar, yaitu $22,0 \pm 2,9$ mmHg dibandingkan dengan kortikosteroid lain.⁶

Tabel 1. Potensi antiinflamasi dan peningkatan TIO dari macam-macam sediaan steroid topikal. Pada jalur pemberian topikal, golongan deksametason dan prednisolon lebih sering meningkatkan TIO dibandingkan dengan fluorometolon maupun hidrokortison.⁶

Corticosteroid preparation	Rise in IOP (mm Hg)	Anti-inflammatory potency
Dexamethasone 0.1%	22 ± 2.9	24
Prednisolone 1.0%	10 ± 1.7	2.3
Fluorometholone 0.1%	6.1 ± 1.4	21
Hydrocortisone 0.5%	3.2 ± 1.0	1
Tetrahydrotriamcinolone 0.25%	1.8 ± 1.3	1.4
Medrysone 1.0%	1.0 ± 1.3	1.7

Berdasarkan penelitian Weijtens *et al.* (1999) diketahui bahwa deksametason dapat mencapai konsentrasi tertinggi dalam humor akuos pada interval 2,5 jam setelah pemberian injeksi deksametason subkonjungtiva, dengan rata-rata konsentrasi 858ng/ml, dan mencapai konsentrasi tertinggi dalam vitreus pada interval 3 jam dengan rata-rata konsentrasi 72.5ng/ml. Pada serum, konsentrasi tertinggi deksametason didapatkan setelah 3 jam injeksi deksametason subkonjungtiva dengan konsentrasi rata-rata 32.4ng/ml.

Pemberian injeksi subkonjungtiva deksametason disodium fosfat 2,5mg diketahui dapat menghasilkan konsentrasi pada humor akuos dan vitreus sebanyak 3 hingga 12 kali lipat lebih tinggi dibandingkan injeksi peribulbar deksametason disodium fosfat 5mg dan deksametason oral 7,5mg. Dari penelitian ini disimpulkan bahwa injeksi subkonjungtiva deksametason merupakan metode yang paling efektif dalam pemberian deksametason pada segmen anterior dan posterior mata.³⁵

2.4.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Penetrasi dan Efek Kortikosteroid

Faktor-faktor yang mempengaruhi penetrasi dan efek kortikosteroid adalah sebagai berikut:^{32,36,37}

- Garam yang digunakan
Asetat lebih larut dalam lipid dan dapat menembus kornea lebih baik daripada suksinat atau fosfat.
- Durasi dan frekuensi
Aplikasi yang lebih sering dan durasi yang lebih panjang menghasilkan konsentrasi intraokular yang lebih tinggi. Sebagian besar penelitian melaporkan peningkatan TIO terjadi 3-6 minggu setelah penggunaan steroid topikal, dan dapat terjadi peningkatan tekanan intraokuli pada minggu pertama atau kedua. Peningkatan TIO hampir tidak pernah terjadi pada pemakaian steroid kurang dari 5 hari.
- Konsentrasi obat
Konsentrasi rendah steroid yang sangat kuat dapat memiliki efek antiinflamasi lebih sedikit daripada konsentrasi tinggi steroid yang kurang kuat. Misalnya prednisolon topikal 1,0% memiliki efek antiinflamasi yang serupa dengan deksametason 0,1%, meskipun deksametason memiliki potensi antiinflamasi okular yang lebih besar daripada prednisolon.
- Dekat dengan lokasi peradangan

Rute administrasi dipilih sehubungan dengan lokasi tindakan yang diinginkan. Peradangan kornea, konjungtiva, atau uvea anterior biasanya ditangani dengan kortikosteroid topikal atau kadang-kadang dengan injeksi subkonjungtiva. Terapi sistemik diperlukan jika dicurigai terdapat keterlibatan jaringan adneksa, uvea posterior, retina, saraf optik, atau jaringan orbita. Rute retrobulbar juga efektif untuk gangguan koroid, retina, saraf optik, dan orbita.

2.4.4 Cara Pemberian Kortikosteroid

- Steroid Topikal

Pemberian kortikosteroid topikal yang berupa tetes mata maupun salep mata paling sering mengakibatkan terjadinya peningkatan tekanan intraokuli dan glaukoma. Jumlah steroid yang sampai ke mata lebih sedikit pada pemberian steroid sistemik dibandingkan pemberian steroid topikal, dan hal ini menjelaskan frekuensi peningkatan TIO pada pemberian steroid topikal dibandingkan dengan bentuk sistemik.

Pemakaian krim, lotion, dan salep steroid pada wajah, kelopak mata, atau tempat lain dalam jangka lama dapat meningkatkan TIO.^{5,32}

- Steroid Periokular

Injeksi periokular dari kortikosteroid merupakan bentuk pemberian steroid yang paling berbahaya karena terjadi perpanjangan durasi kerja steroid.

Peningkatan tekanan intraokuli dapat terjadi sebagai respon terhadap pemberian steroid subkonjungtiva, subtenon, maupun steroid retrobulbar.

Respon pasien terhadap pemberian steroid topikal sebelumnya tidak dapat digunakan untuk memprediksi respon pasien terhadap pemberian steroid periokular.³²

- Steroid Intravitreal

Injeksi kortikosteroid intravitreal adalah modalitas terapi terkini yang banyak meningkat penggunaannya sebagai terapi berbagai edema dan

kondisi intraokuler dengan neovaskularisasi. Pemberian steroid intravitreal mengurangi pengaruh kortikosteroid ke jaringan okuler

sehingga meminimalkan efek samping yang berkaitan dengan terapi steroid. Frekuensi peningkatan TIO bervariasi mulai dari 20 hingga 65%

yang dipengaruhi oleh dosis, lama pemberian, TIO sebelum terapi, dan riwayat pemberian steroid intravitreal sebelumnya.⁵

- Implan Steroid Lepas Lambat Intravitreal
Peningkatan TIO akibat pemberian implan steroid intravitreal lebih sering terjadi dibandingkan dengan pemberian injeksi kortikosteroid intravitreal. Hal ini disebabkan karena paparan kadar kortikosteroid selama jangka waktu implan yang lebih lama dibandingkan dengan dengan injeksi kortikosteroid intravitreal dengan paparan kadar kortikosteroid yang berfluktuasi.⁵
- Steroid Inhalasi
Studi populasi dengan metode *cross-sectional* melaporkan bahwa penggunaan steroid inhalasi berhubungan dengan meningkatnya risiko peningkatan TIO pada subjek yang merupakan keturunan pertama keluarga dengan riwayat glaukoma. Pada studi lain terdapat penurunan TIO yang signifikan setelah penghentian steroid nasal pada pasien glaukoma. Studi pada pasien nonglaukomatosa tidak melaporkan peningkatan TIO setelah menggunakan berbagai bentuk steroid inhalasi.³⁸
- Steroid Sistemik
Pemberian steroid sistemik merupakan rute yang paling rendah dalam menyebabkan peningkatan TIO. Peningkatan TIO terjadi pada kelompok pasien yang diterapi dengan steroid sistemik jangka panjang. Hal ini dikonfirmasi dengan membandingkan antara pasien yang diterapi steroid dengan populasi normal tanpa terapi steroid atau terhadap kelompok pasien dengan penyakit yang sama tetapi tanpa terapi steroid. Pemberian steroid sistemik dapat menyebabkan peningkatan aliran humor akuos pada kedua kelompok, terutama sesaat setelah pemberian steroid.^{5,32}

2.4.5 Patofisiologi Peningkatan TIO Akibat Steroid

Mekanisme pasti terjadinya peningkatan tekanan intraokuli akibat pemakaian kortikosteroid sampai saat ini belum diketahui secara pasti.

Mekanisme peningkatan TIO yang diinduksi oleh steroid diduga disebabkan oleh meningkatnya resistensi aliran akuos humor, dimana 75% resistensi aliran akuos humor berada di trabekular meshwork, dan 25% berada di kanalis Schlemm.⁵⁻⁹

2.4.5.1 Matriks Ekstraseluler Trabekular Meshwork

Efek glukokortikoid pada matriks ekstraseluler trabekular meshwork disebabkan perubahan jumlah sintesis protein, perubahan jumlah degradasi protein, atau bahkan kombinasi keduanya. Hal ini diperantarai oleh reseptor glukokortikoid, yang merupakan faktor transkripsi *ligand-dependent* yang merubah ekspresi gen-gen trabekular meshwork. Glukokortikoid meningkatkan ekspresi matriks ekstraselular (glikosaminoglikan, elastin, fibronektin, laminin, dan kolagen tipe IV), gen-gen inhibitor protease, dan menurunkan ekspresi gen-gen proteinase (MMP1, TPA).³⁰

Peningkatan jumlah glikosaminoglikan, elastin, fibronektin, laminin, dan kolagen tipe IV sebagai bagian matriks ekstraseluler menyebabkan penumpukan matriks ekstraselular yang akan mempengaruhi jalur aliran humor akuos, dimana terjadi penyempitan ruang intertrabekular. Pada glaukoma yang diinduksi oleh steroid juga didapatkan bentukan akumulasi material *fingerprint-like*/material fibrilar pada daerah subendotelial dari kanalis Schlemm sehingga terjadi penyempitan kanalis Schlemm. Penyempitan ruang intertrabekular dan kanalis Schlemm ini selanjutnya akan menyebabkan terjadinya peningkatan resistensi aliran humor akuos.³⁹

2.4.5.2 Ekspresi Gen Myocilin (GLC1A)

Myocilin (GLC1A) merupakan gen glaukoma pertama yang dipetakan dan diidentifikasi karena ekspresinya di trabekular meshwork dan induksinya oleh steroid. Hasil gen myocillin disebut myocilin atau protein *trabecular meshwork-inducible glucocorticoid response* (TIGR) didistribusikan dalam matriks intraseluler dan ekstraseluler pada trabekular meshwork normal dan glaukوماتosa. Mutasi gen myocilin bertanggung jawab terhadap glaukoma sudut terbuka juvenile dan glaukoma sudut terbuka primer.^{8,20}

Glukokortikoid mempengaruhi ekspresi myocilin melalui translokasi pada nukleus dan manifestasi dari fungsi koaktivator reseptor steroid, sehingga terjadi peningkatan transkripsi myocilin. Overekspresi myocilin telah dilaporkan dapat meningkatkan resistensi terhadap aliran keluar humor akuos dengan menginduksi perubahan organisasi sitoskeleton maupun sifat adhesif sel pada sel trabekular meshwork.^{8,40}

Ketika disekresikan, myocilin berasosiasi dengan kolagen dan serabut elastin dalam trabekular meshwork. Komponen struktural matriks ekstraseluler

termasuk fibronektin, laminin, decorin, dan kolagen tipe I, III, V dan VI terikat dengan myocilin. Interaksi myocilin dengan fibronektin akan mempengaruhi sifat adhesif sel, organisasi sitoskeletal, sinyal transduksi, dan fagositosis. Overekspresi myocilin pada sel trabekular meshwork menyebabkan hilangnya sifat adhesif seluler yang mengakibatkan peningkatan aktivasi cAMP/PKA dan penghambatan Rho kinase. Hilangnya tegangan serabut aktin dan penurunan adhesi fokal mempengaruhi perlekatan seluler pada matriks ekstraseluler, dimana terjadi penurunan laju penyebaran seluler. Selain berkurangnya kemampuan migrasi, terjadi perubahan morfologi, dimana sel menjadi lebih besar dan berbentuk stelata. Terjadi peningkatan kontraktilitas trabekular meshwork dan akumulasi sel trabekular meshwork, yang menyebabkan peningkatan resistensi aliran humor akuos dan peningkatan TIO.^{8,40}

2.4.5.3 Sel Trabekular Meshwork

Struktur sitoskeletal berhubungan erat dengan kompleks adhesi dan sambungan sel/*cell junctions*. Bentuk sel juga ditentukan oleh sitoskeleton. Sel trabekular meshwork mengandung tiga jenis utama dari elemen sitoskeletal: filamen aktin, mikrotubulus, dan filamen intermediet vimentin dan desmin. Beberapa mekanisme yang mempengaruhi sitoskeleton melibatkan perubahan morfologi dan adhesi sel termasuk terpisahnya sambungan antara sel-sel trabekular meshwork dan sel-sel kanalis Schlemm melalui elemen sitoskeletal yang telah terbukti dapat menyebabkan penurunan aliran humor akuos.⁴¹

Glukokortikoid dapat mengubah arsitektur *F-actin* dan mendorong pembentukan jaringan aktin/*cross-linked actin network* (CLAN) secara signifikan pada sel trabekular meshwork, dimana CLAN juga didapatkan pada mata glaukoma dan dianggap sebagai faktor penting dalam perkembangan penyakit glaukoma. Selain itu, arsitektur *F-actin* di kanalis Schlemm dan sel jukstakanalikular telah ditemukan berbeda antara mata normal dan glaukoma, dimana pada glaukoma tampak struktur aktin yang secara keseluruhan lebih tidak teratur, dan membuktikan bahwa arsitektur sitoskeleton aktin merupakan mediator penting dari *aqueous outflow pathway*. Glukokortikoid menginduksi ekspresi *F-actin* yang akan berinteraksi dengan *zonula occludens-1* dan membantu pembentukan *tight junction* interseluler sehingga terjadi kontraksi sel trabekular meshwork. Kontraksi sel ini mengurangi ruang interseluler sehingga mengurangi aliran humor akuos.⁴²

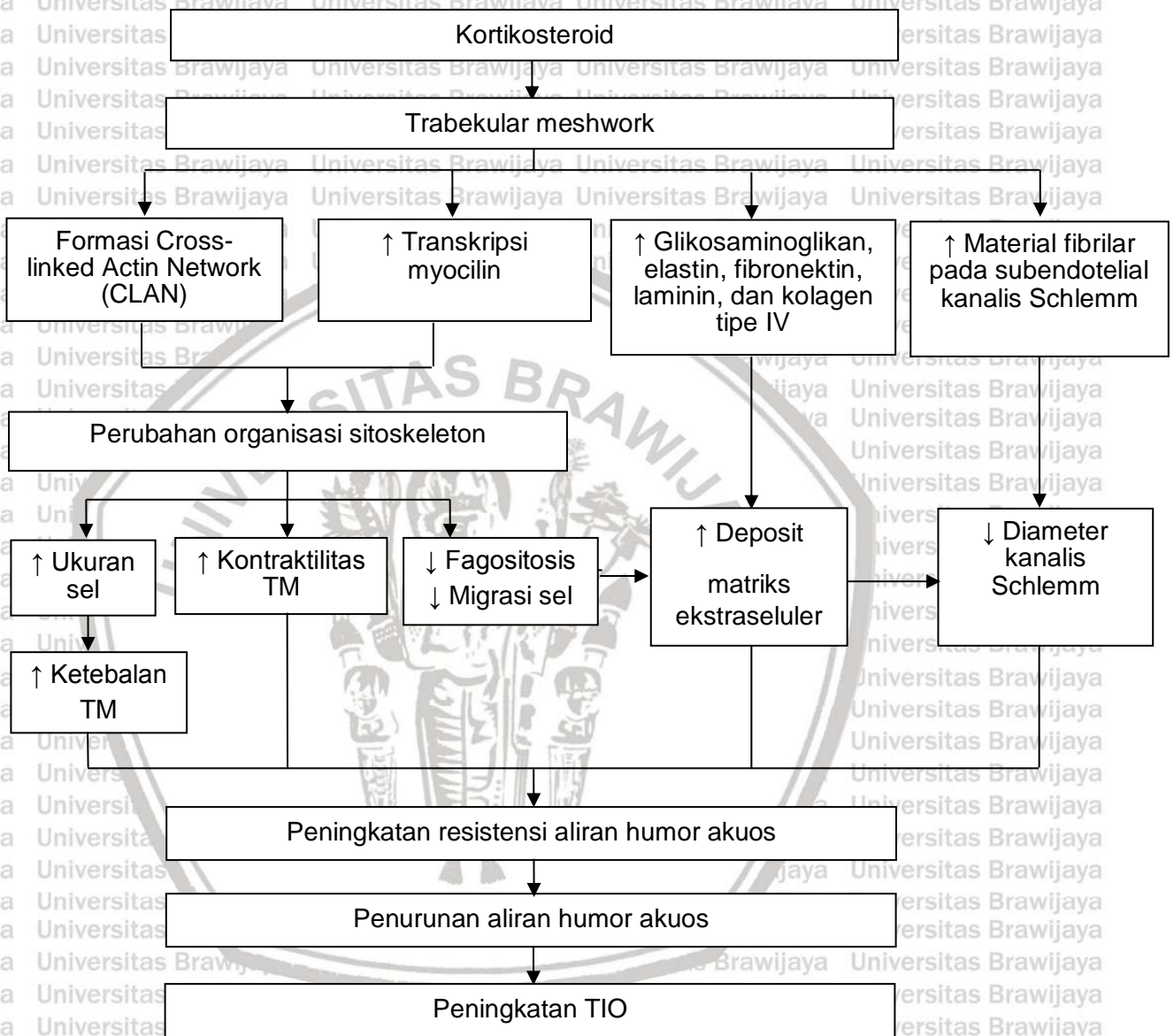
Perubahan mikrostruktur trabekular meshwork (pembentukan jaringan aktin/cross-linked actin network) dan aktivitas sel menyebabkan berkurangnya proliferasi, migrasi, dan fagositosis sel trabekular meshwork dan menyebabkan selularitas trabekular meshwork pada pasien dengan glaukoma akibat steroid berkurang dan terjadi peningkatan ketebalan trabekular meshwork serta akumulasi debris ekstraseluler progresif sehingga resistensi aliran humor akuos meningkat.³⁰



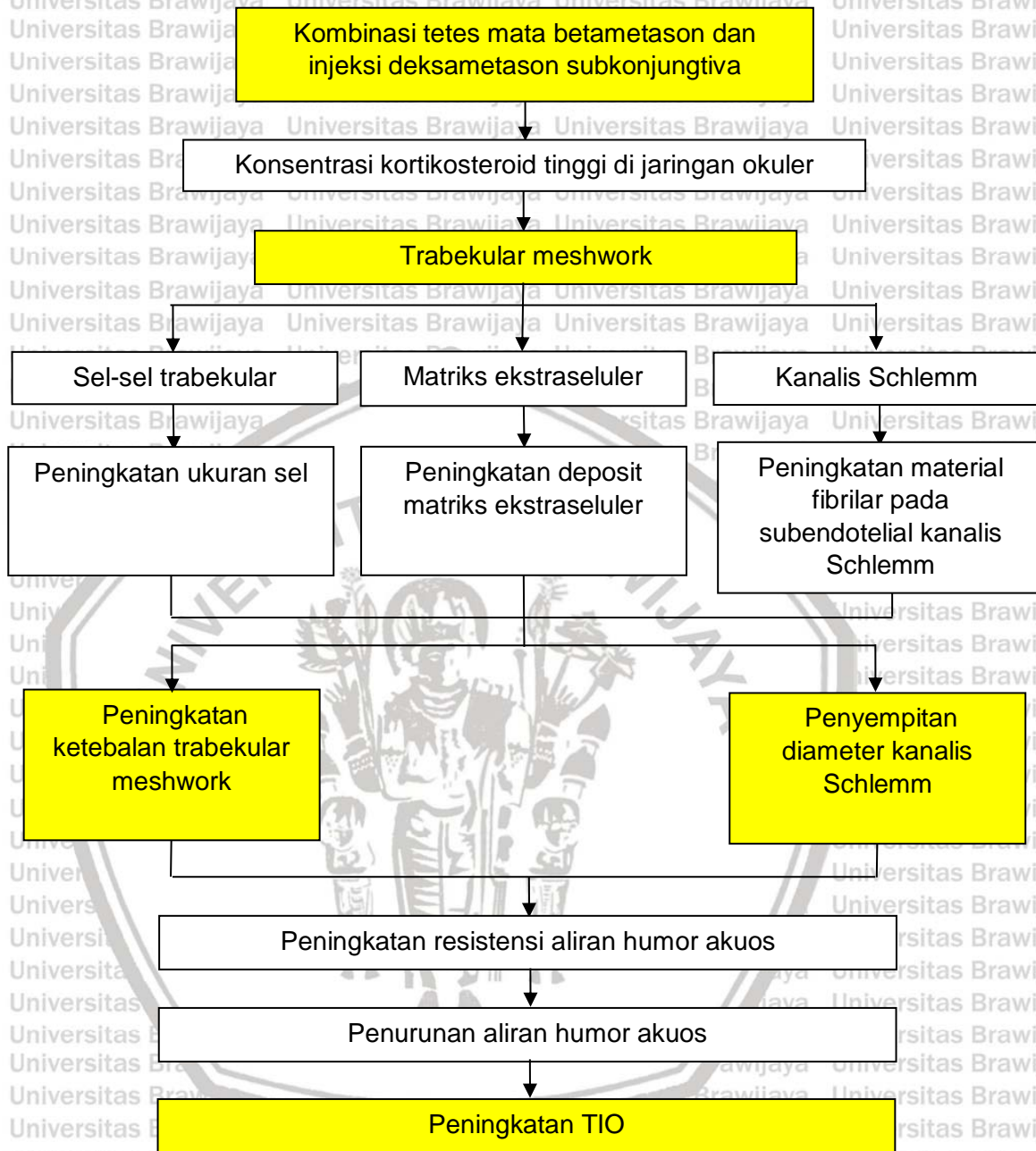
BAB 3

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep



Keterangan kerangka konsep:

→ : mempengaruhi

3.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva dapat menyebabkan peningkatan tekanan intraokuli tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar.
2. Pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva dapat menyebabkan peningkatan ketebalan trabekular meshwork dan penyempitan ukuran diameter kanalis Schlemm tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* yang dikerjakan di laboratorium secara *in vivo* dengan desain penelitian *pre and post test design*, yang membandingkan kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan terhadap objek.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biosains dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dengan waktu penelitian mulai bulan September 2018 sampai November 2018.

4.3 Subjek Penelitian

Subjek penelitian yang digunakan adalah mata tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan dan jaringan trabekular meshwork yang diambil dari mata tersebut.

4.3.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah:

- Tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan
- Usia 10-12 minggu
- Berat 250-300 gram
- Tekanan intraokuli normal (10-18mmHg)

4.3.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah:

- Tikus yang mati selama penelitian
- Tikus yang mengalami infeksi dan peradangan pada mata akibat perlakuan

4.3.3 Besar Replikasi

Dalam penelitian ini subjek akan dibagi menjadi 5 kelompok dengan jumlah subjek pada masing-masing kelompok adalah sama. Banyaknya tikus yang diperlukan untuk masing-masing kelompok ditentukan dengan rumus:

$$p(n-1) \geq 15$$

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

$$n-1 \geq 3$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

p = banyaknya kelompok penelitian

n = jumlah replikasi

Pada penelitian terdapat 5 kelompok penelitian, sehingga dibutuhkan jumlah replikasi pada masing-masing kelompok sebanyak 4. Dengan demikian, jumlah subjek penelitian yang dibutuhkan pada penelitian ini sebanyak 20 mata tikus.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas (*Independent*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva.

4.4.2 Variabel Tergantung (*Dependent*)

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah perubahan tekanan intraokuli dan perubahan morfologi trabekular meshwork.

4.5 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini antara lain:

- Tetes mata betametason: tetes mata steroid murni dengan kandungan betametason 1.00mg/ml.
- Injeksi deksametason: larutan injeksi steroid murni dengan kandungan deksametason 5mg/ml.
- Peningkatan tekanan intraokuli (TIO): peningkatan tekanan intraokuli disebut signifikan bila didapatkan nilai ≥ 21 mmHg yang diukur dengan menggunakan Tono-Pen.

- Perubahan morfologi trabekular meshwork: dinilai dengan pengukuran secara kuantitatif yang meliputi diameter kanalis Schlemm, dan ketebalan dari trabekular meshwork secara komputersasi dengan menggunakan program *dot slide* dalam satuan μm .
- Diameter kanalis Schlemm: merupakan nilai panjang yang didapatkan dari pengukuran anterior ke posterior lumen kanalis Schlemm yang melekat dengan lapisan jukstakanalikuler meshwork.
- Ketebalan ruang trabekular meshwork: nilai yang diukur mulai dari lapisan uveal meshwork hingga tepat di bawah kanalis Schlemm secara perpendikular.

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

- Gunting
- Pinset
- Timbangan
- Jas laboratorium
- Tono-Pen dan *probe*
- Mikroskop inami
- Sarung tangan steril
- *Cover glass slide*
- Spuit 1 cc
- Jarum suntik 32 gauge
- Tetrakain tetes mata 0,5%
- Betametason tetes mata
- Deksametason ampul
- Alkohol dengan konsentrasi 30%, 50%, 70%, 80%, 96%, dan *absolute*
- XyloI
- Gelatine 5%
- dH₂O
- PBS
- Hematoksilin
- Eosin



Gambar 6. Tonometer dan probe (Icare) yang digunakan.



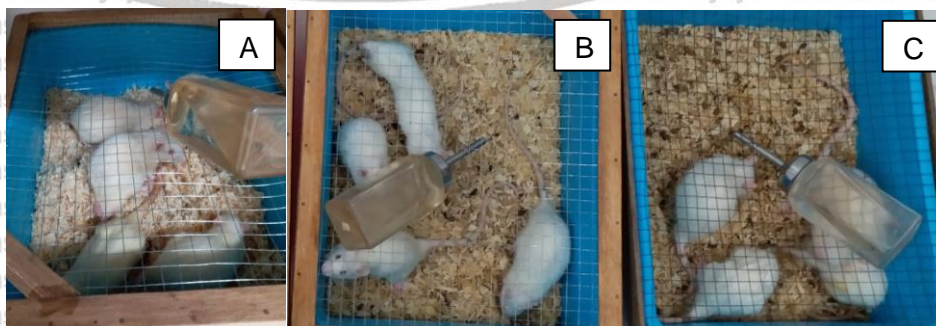
Gambar 7. Obat yang digunakan pada penelitian. A. Betametason dengan merk dagang Vosama (Cendo). B. Deksametason (Indofarma).

4.7 Perlakuan Subjek Penelitian

- Tekanan intraokuli seluruh tikus diperiksa sebelum perlakuan diberikan.
- Tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar dibagi dalam 5 kelompok, sebagai berikut:
 - Kelompok 1 (kelompok kontrol negatif): tanpa perlakuan
 - Kelompok 2 (kelompok perlakuan I): dilakukan pemberian tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari selama 2 minggu
 - Kelompok 3 (kelompok perlakuan II): dilakukan pemberian tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva dengan dosis 0,1ml perminggu selama 2 minggu
 - Kelompok 4 (kelompok perlakuan III): dilakukan pemberian tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari selama 4 minggu

➤ Kelompok 5 (kelompok perlakuan IV): dilakukan pemberian tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva dengan dosis 0,1ml perminggu selama 4 minggu.

- Pada akhir minggu kedua, TIO tikus kelompok 2 dan 3 akan diperiksa dengan menggunakan Tono-Pen.
- Pada akhir minggu kedua dan keempat TIO tikus kelompok 1, 4, dan 5 akan diperiksa dengan menggunakan Tono-Pen.
- Setiap hari tikus diberi makan sesuai kebutuhan.
- Pada akhir minggu kedua, setelah dilakukan pemeriksaan TIO, tikus kelompok 2 dan 3 akan dikorbankan dengan cara dimasukkan dalam wadah tertutup yang telah diberi eter kemudian dipatahkan batang lehernya hingga fraktur.
- Pada akhir minggu keempat, setelah dilakukan pemeriksaan TIO, tikus kelompok 1, 4, dan 5 akan dikorbankan dengan cara dimasukkan dalam wadah tertutup yang telah diberi eter kemudian dipatahkan batang lehernya hingga fraktur.
- Tikus yang telah dikorbankan selanjutnya dienukleasi dengan cara memotong otot ekstraokuli dan jaringan ikat di sekitar bola mata dan kemudian memotong nervus optikus di belakang bola mata. Setelah itu bangkai tikus akan dikuburkan di tempat penguburan khusus yang telah disiapkan.



D

E



Gambar 8. Sampel tikus yang digunakan pada penelitian. A. Kelompok 1 (kontrol negatif). B. Kelompok 2 (perlakuan I). C. Kelompok 3 (perlakuan II). D. Kelompok 4 (perlakuan III). E. Kelompok 5 (perlakuan IV).

4.8 Metode Kerja

4.8.1 Pengukuran Tekanan Intraokuli

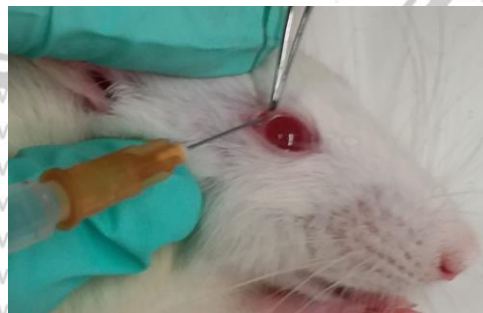
- Pengukuran menggunakan Tono-Pen.
- Dilakukan anestesi lokal dengan pemberian tetrakain tetes mata 0,5% sebanyak 1 tetes pada mata tikus.
- *Probe* diletakkan sejajar dengan bola mata, dengan jarak antara *probe* dengan permukaan kornea 4-8mm.
- Tombol pengukuran ditekan.
- Saat *probe* menyentuh permukaan kornea, nilai tekanan intraokuli akan muncul pada layar.
- Untuk mendapatkan nilai rerata yang tertera pada alat, pengukuran dilakukan sebanyak 5 kali.



Gambar 9. Pengukuran tekanan intraokuli tikus.

4.8.2 Injeksi Deksametason Subkonjungtiva

- Dilakukan anestesi lokal dengan pemberian tetrakain tetes mata 0,5% sebanyak 1 tetes pada mata tikus.
- Kelopak mata tikus diretraksi dan konjungtiva dengan lembut ditarik menjauh dari permukaan bola mata dengan pinset.
- Deksametason disuntikkan langsung di bawah konjungtiva dengan spuit dan jarum suntik 32 gauge.



Gambar 10. Injeksi deksametason subkonjungtiva pada mata tikus.

4.8.3 Pengambilan Jaringan Trabekular Meshwork

- Bola mata tikus yang telah dienukleasi difiksasi dalam larutan paraformaldehde 4%.
- Bola mata dipotong melintang pada bagian ekuator sehingga didapatkan segmen anterior dan posterior bola mata.
- Setelah lensa mata diambil, dilakukan pembagian segmen anterior menjadi 4 kuadran. Dengan cara ini diharapkan lebih mudah untuk mendapatkan jaringan trabekular meshwork melalui proses pembuatan parafin blok.

4.8.4 Pembuatan Parafin Blok

- Jaringan bola mata dihidrasi dengan menggunakan alkohol bertingkat (30%, 50%, 70%, 80%, 96%, dan *absolute*) selama 60 menit.
- Dilakukan *clearing* dengan menggunakan xylol sebanyak 2 kali, masing-masing selama 60 menit.
- Infiltrasi dengan parafin lunak selama 60 menit pada suhu 48°C.
- Dilakukan blok dalam parafin keras dan didiamkan selama 1 hari.
- Dilakukan penempelan pada *holder*, kemudian dilakukan pemotongan setebal 5 μ m dengan *rotary microtome* secara melintang di daerah trabekular meshwork.
- Dilakukan *mounting* pada gelas objek dengan gelantine 5%.

4.8.5 Proses Deparafinisasi

- Gelas objek hasil parafin blok direndam dengan xylol sebanyak 2 kali masing-masing selama 5 menit.
- Dilakukan rehidrasi dengan alkohol berseri (*absolute*, 96%, 80%, 70%, 50%, dan 30%) masing-masing selama 5 menit.
- Dibilas dengan dH₂O selama 5 menit.

4.8.6 Proses Pewarnaan Hematoksilin-Eosin

- *Slide* dicuci dengan *phosphate buffered saline* (PBS) pH7,4 selama 5 menit.
- Dilakukan pewarnaan dengan hematoksilin selama 10 menit, kemudian dibilas dengan dH₂O.

- Dilakukan dehidrasi dengan alkohol berseri 30% dan 50% masing-masing selama 5 menit.
- Dilakukan pewarnaan dengan larutan eosin selama 3 menit, kemudian bilas dengan alkohol 30%.
- Dilakukan pembiasan dengan dH₂O selama 5 menit kemudian dikeringkan.

4.8.7 Penilaian Morfologi Trabekular Meshwork

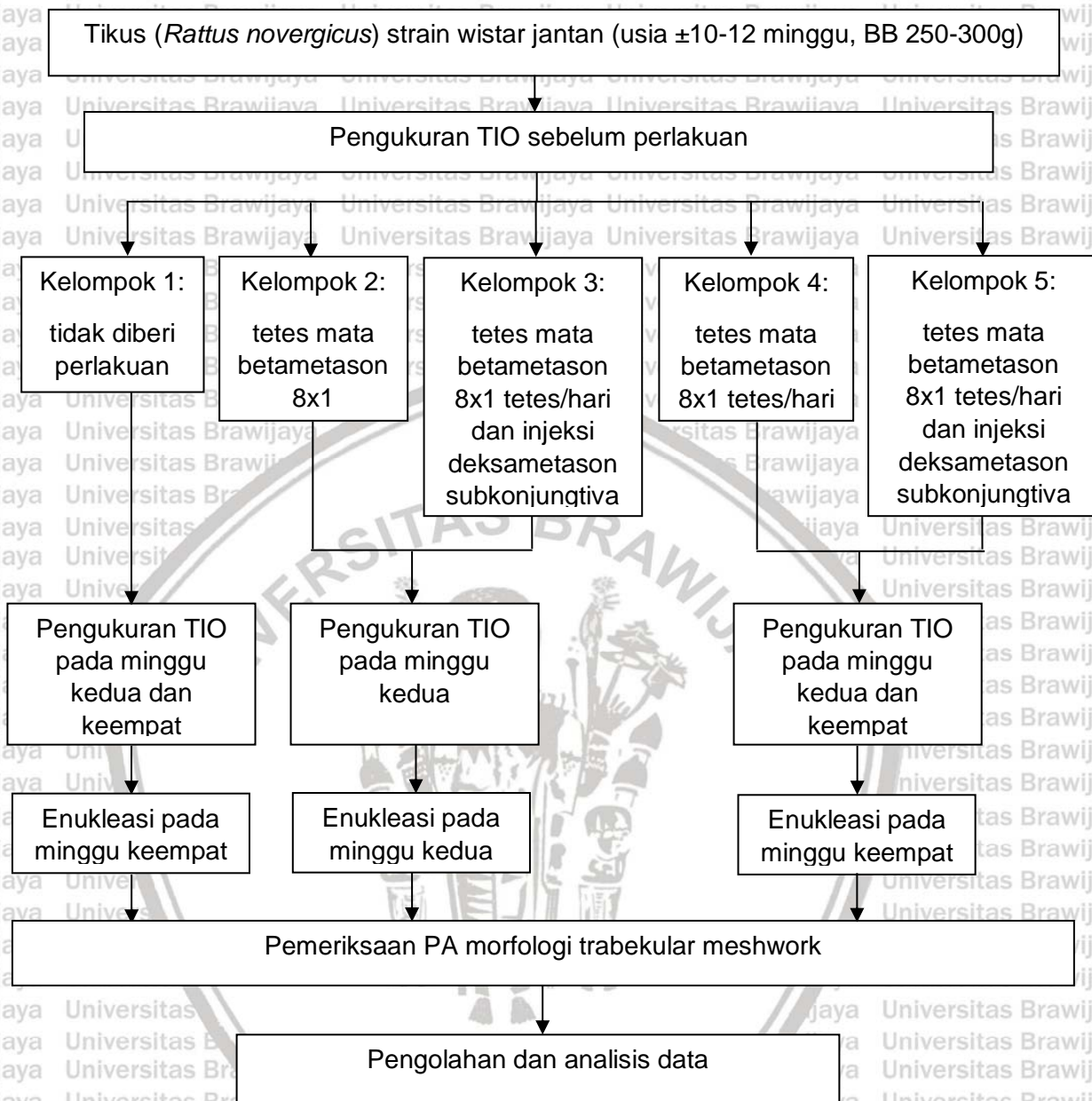
- Masing-masing *slide* dilakukan pengambilan gambar dengan kamera digital Olympus pada mikroskop Olympus CX 4 dengan perbesaran 400x.
- Dilakukan pengukuran kuantitatif meliputi diameter kanalis Schlemm dan ketebalan trabekular meshwork.
- Pengukuran dilakukan secara komputerisasi menggunakan program *dot slide* yang dan dinyatakan dalam satuan μm .

4.9 Teknik Analisis Data

Analisis data untuk mengetahui pengaruh kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva terhadap tekanan intraokuli dan perubahan morfologi trabekular meshwork tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar dilakukan dengan langkah sebagai berikut:

1. Dilakukan uji normalitas data dengan uji Kolmogorov-Smirnov dan homegenitas data dengan uji Levene.
2. Dilakukan uji *one-way* ANOVA untuk membandingkan antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan.
3. Apabila dari uji *one-way* ANOVA didapatkan perbedaan yang signifikan antar kelompok maka dilanjutkan dengan uji rentang ganda (*multiple comparison*/Tukey HSD), dimana dengan uji Tukey ini dapat diketahui perbedaan antarkelompok sehingga bisa diketahui kelompok mana saja yang berbeda signifikan atau tidak berbeda signifikan.
4. Bila data yang digunakan memiliki sebaran tidak normal, maka dilakukan pengujian menggunakan uji Kruskal-walis dan Mann-Whitney

4.10 Alur Kerja Penelitian



4.11 Organisasi Penelitian

Peneliti : dr. Dessira Rizka Tri Ariany

Pembimbing : dr. Aulia Abdul Hamid, Sp.M., M.Biomed.Sc

4.12 Jadwal Penelitian

No.	Kegiatan	2017					2018									
		Nov	Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Ags	Sep	Okt	Nov		
1	Studi kepustakaan															
2	Pengajuan judul															
3	Pembuatan usulan penelitian															
4	Konsultasi usulan penelitian															
5	Presentasi usulan penelitian															
6	Pelaksanaan penelitian															
7	Pembuatan laporan penelitian															
8	Presentasi laporan penelitian															
9	Pengumpulan laporan penelitian															



**BAB 5
HASIL PENELITIAN**

Pada penelitian ini terdapat 5 kelompok penelitian dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4 tikus. Masing-masing kelompok ditambah 1 tikus untuk mengantisipasi adanya *drop out*. Selama penelitian terdapat 1 tikus yang mati pada kelompok perlakuan III yang mendapatkan betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan 1 tikus yang mati pada kelompok perlakuan IV yang mendapatkan betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu selama 4 minggu. Hilangnya beberapa sampel tersebut tidak mengganggu data sampel karena telah sesuai dengan kebutuhan jumlah masing-masing kelompok.

Berdasarkan hasil pengamatan sampel penelitian, dilakukan uji normalitas data untuk mengetahui distribusi atau sebaran data. Uji normalitas digunakan untuk menganalisis apakah data tersebut mempunyai distribusi secara normal atau tidak. Pada penelitian ini uji normalitas data dilakukan dengan uji *Kolmogorov Smirnov*. Interpretasi dari uji ini adalah bahwa jika didapatkan nilai $p > 0,05$ maka distribusi data dinyatakan memenuhi asumsi normal, dan jika nilai $p < 0,05$ maka diinterpretasikan sebagai tidak normal.

Tabel 2. Hasil uji normalitas tekanan intraokuli.

Parameter	Signifikansi
Sebelum Perlakuan	0.865
Minggu Kedua	0.666
Minggu Keempat	0.997

**Tabel 3.
Hasil uji
normalitas**

diameter kanalis Schlemm dan ketebalan trabekular meshwork.

Parameter	Signifikansi
Diameter Kanalis Schlemm	0,722
Ketebalan Trabekular Meshwork	0,663

Hasil analisis pengujian normalitas data menunjukkan bahwa data TIO (sebelum perlakuan, minggu kedua, minggu keempat), diameter kanalis Schlemm, dan ketebalan trabekular meshwork memiliki nilai signifikansi lebih besar dari α (0,05), sehingga dapat disimpulkan bahwa data TIO, diameter kanalis Schlemm, dan ketebalan trabekular meshwork tersebut menyebar mengikuti sebaran normal. Oleh karena asumsi kenormalan distribusi data telah terpenuhi, maka dapat dilakukan pengujian dengan *one-way ANOVA*.



Berdasarkan hasil pengamatan sampel penelitian, dilakukan uji homogenitas data untuk mengetahui bahwa sekumpulan data memiliki kesamaan ragam antar kelompok. Pada penelitian ini dilakukan uji Levene.

Tabel 4. Hasil uji homogenitas tekanan intraokuli.

Uji Signifikansi	Tekanan Intraokuli
	0,266

Tabel 5. Hasil uji homogenitas diameter kanalis Schlemm dan ketebalan trabekular meshwork

Uji	Diameter Kanalis Schlemm	Ketebalan Trabekular Meshwork
Statistik Levene	0,999	0,902
Signifikansi	0,439	0,487

Berdasarkan hasil uji Levene untuk TIO didapatkan nilai signifikansi 0,266 yang lebih besar dari nilai α 0,05 ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut relatif homogen. Berdasarkan hasil uji Levene untuk diameter kanalis Schlemm dan ketebalan trabekular meshwork, didapatkan nilai signifikansi 0,439 dan 0,487 yang lebih besar dari nilai α 0,05 ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data diameter kanalis Schlemm dan ketebalan trabekular meshwork tersebut relatif homogen. Oleh karena asumsi homogenitas ragam data telah terpenuhi, maka dapat dilakukan pengujian dengan *one-way* ANOVA.

5.1 Tekanan Intraokuli

Pengukuran TIO pada bola mata tikus dilakukan sebanyak 2 kali (pada kelompok 2 dan 3) dan 3 kali (pada kelompok 1, 4, dan 5). Pengukuran pertama pada masing-masing kelompok dilakukan sebelum pemberian perlakuan, pengukuran kedua dilakukan setelah dua minggu perlakuan, dan pengukuran ketiga pada kelompok 1, 4, dan 5 dilakukan setelah empat minggu perlakuan.

Pengukuran dilakukan dengan tonopen Icare dan masing-masing sampel dilakukan sebanyak lima kali pengukuran. Besarnya TIO yang digunakan sebagai TIO sampel diperoleh dari nilai rata-rata dari kelima pengukuran tersebut.

Pada pengukuran awal sebelum perlakuan, didapatkan rata-rata TIO awal sebesar 15,83mmHg pada kelompok 1, 12,78mmHg pada kelompok 2, 13,80 mmHg pada kelompok 3, 12,98mmHg pada kelompok 4, dan 15,03mmHg pada kelompok 5. Hasil dari pengukuran TIO tersebut menunjukkan TIO yang bersifat

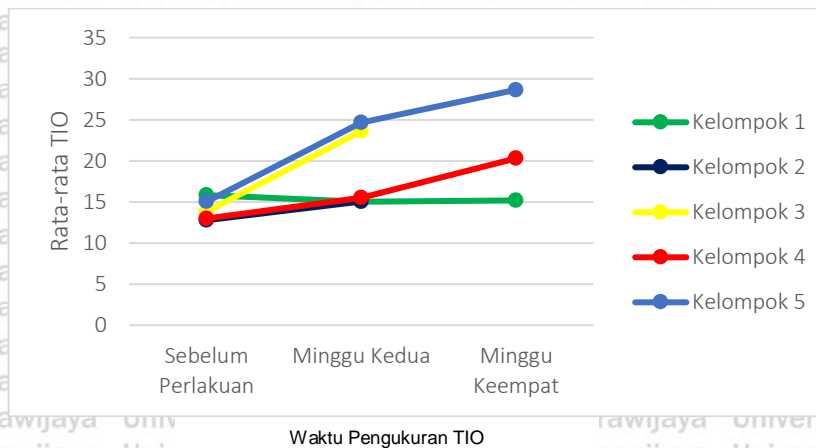
normotensi. Sedangkan pengukuran TIO pada minggu kedua diperoleh rata-rata TIO sebesar 15,03mmHg pada kelompok 1, 15,05mmHg pada kelompok 2, 23,63mmHg pada kelompok 3, 15,53mmHg pada kelompok 4, dan 24,68mmHg pada kelompok 5. Kemudian pada minggu keempat dilakukan pengukuran TIO kembali pada kelompok 1, 4, dan 5, dan diperoleh hasil 15,20mmHg pada kelompok 1, 20,30mmHg pada kelompok 4, dan 28,65mmHg pada kelompok 5. Hasil rata-rata TIO selama empat minggu dirangkum pada tabel 6 dan grafik 1.

Berdasarkan tabel 6 dan grafik 1 terlihat adanya pengaruh pemberian tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari pada kelompok perlakuan I dan III, serta kombinasi tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu pada kelompok perlakuan II dan IV yang menyebabkan peningkatan TIO.

Tabel 6. Rata-rata hasil pengamatan TIO kelompok kontrol negatif dan perlakuan.

		Mean	95% Confidence Interval for Mean		Std. Deviation
			Lower Bound	Upper Bound	
Sebelum Perlakuan	Kelompok 1	15.825	12.140	19.510	2.316
	Kelompok 2	12.775	9.945	15.605	1.778
	Kelompok 3	13.800	11.251	16.349	1.602
	Kelompok 4	12.975	6.296	19.654	4.197
	Kelompok 5	15.025	12.649	17.401	1.493
Minggu Kedua	Kelompok 1	15.025	11.523	18.527	2.201
	Kelompok 2	15.050	10.947	19.153	2.579
	Kelompok 3	23.625	20.760	26.490	1.801
	Kelompok 4	15.525	10.667	20.383	3.053
	Kelompok 5	24.675	19.810	29.540	3.058
Minggu Keempat	Kelompok 1	15.200	13.007	17.393	1.378
	Kelompok 4	20.300	17.489	23.111	1.766
	Kelompok 5	28.650	22.229	35.071	4.035

Grafik 1. Grafik rata-rata TIO kelompok kontrol negatif dan perlakuan.



Analisis data yang digunakan untuk mengetahui perbandingan perbedaan TIO sebelum pemberian perlakuan, minggu kedua, dan minggu keempat adalah dengan menggunakan uji *one-way* ANOVA. Berdasarkan hasil uji *one-way* ANOVA seluruh kelompok pada minggu ke-2 yang tercantum pada tabel 7, diperoleh nilai F hitung yang lebih besar dari F tabel dan nilai signifikansi sebesar 0,000 lebih kecil dari α (0,05), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata TIO yang signifikan pada masing-masing kelompok. Hal yang sama juga didapatkan dari hasil uji *one-way* ANOVA kelompok kontrol negatif, perlakuan II, dan perlakuan IV pada minggu ke-4 yang tercantum pada tabel 8, dimana diperoleh nilai F hitung yang lebih besar dari F tabel dan nilai signifikansi sebesar 0,000 lebih kecil dari α (0,05), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata TIO yang signifikan pada masing-masing kelompok. Kemudian dilakukan uji perbandingan berganda (*multiple comparisson*) dengan uji Tukey untuk mengetahui perbedaan TIO antarkelompok.

Tabel 7. Hasil uji *one-way* ANOVA perbedaan rata-rata TIO kelompok kontrol negatif dan perlakuan pada minggu ke-2.

Uji F hitung	Signifikansi	F table	Kesimpulan
14,493	0.000	3,055	Signifikan

Tabel 8. Hasil uji *one-way* ANOVA perbedaan rata-rata TIO kelompok kontrol negatif, perlakuan III, dan perlakuan IV pada minggu ke-4.

Uji F hitung	Signifikansi	F table	Kesimpulan
25,971	0.000	4,055	Signifikan

Tabel 9. Hasil uji Tukey perbedaan rata-rata TIO kelompok kontrol negatif dan perlakuan pada minggu ke-2.

Perbedaan kelompok		p	95% Confidence Interval		Keterangan
			Lower Bound	Upper Bound	
Kelompok 1	Kelompok 2	1.000	-5.669	5.619	Tidak Signifikan
	Kelompok 3	0.002	-14.224	-2.956	Signifikan
	Kelompok 4	0.999	-6.144	5.144	Tidak Signifikan
	Kelompok 5	0.001	-15.294	-4.006	Signifikan
Kelompok 2	Kelompok 3	0.002	-14.219	-2.931	Signifikan
	Kelompok 4	0.999	-6.119	5.169	Tidak Signifikan
	Kelompok 5	0.001	-15.269	-3.981	Signifikan
Kelompok 3	Kelompok 4	0.004	2.456	13.744	Signifikan
	Kelompok 5	0.077	-6.694	4.594	Tidak Signifikan
Kelompok 4	Kelompok 5	0.001	-14.794	-3.506	Signifikan

Berdasarkan hasil uji Tukey yang tercantum pada tabel 9, perbedaan rata-rata TIO pada minggu ke-2 yang signifikan ditemukan pada kelompok 1 dibandingkan dengan kelompok 3 ($p=0,002$) dan kelompok 5 ($p=0,001$); pada kelompok 2 dibandingkan dengan kelompok 3 ($p=0,002$) dan kelompok 5 ($p=0,001$); pada kelompok 3 dibandingkan dengan kelompok 4 ($p=0,004$); dan pada kelompok 4 dibandingkan dengan kelompok 5 ($p=0,001$). Tabel 9 di atas menunjukkan bahwa pada minggu kedua setelah perlakuan, TIO pada kelompok perlakuan II dan IV lebih besar secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, perlakuan I, dan perlakuan III. Sementara TIO pada kelompok perlakuan II dan IV tidak berbeda signifikan ($p=0,077$).

Tabel 10. Hasil uji Tukey perbedaan rata-rata TIO kelompok kontrol negatif, perlakuan III, dan perlakuan IV pada minggu ke-4.

Perbedaan Kelompok		p	95% Confidence Interval		Kesimpulan
			Lower Bound	Upper Bound	
Kelompok 1	Kelompok 4	0.057	-10.360	0.161	Tidak Signifikan
	Kelompok 5	0.000	-18.721	-8.189	Signifikan
Kelompok 4	Kelompok 5	0.004	-13.611	-3.089	Signifikan

Berdasarkan hasil uji Tukey yang tercantum pada tabel 10, perbedaan rata-rata TIO pada minggu ke-4 yang signifikan ditemukan pada kelompok 1 dibandingkan dengan kelompok 5 ($p=0,000$) dan kelompok 4 dibandingkan dengan kelompok 5 ($p=0,004$). Tabel 10 di atas menunjukkan bahwa pada minggu

kedua setelah perlakuan, TIO pada kelompok perlakuan IV lebih besar secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,000$) dan kelompok perlakuan III ($p=0,004$).

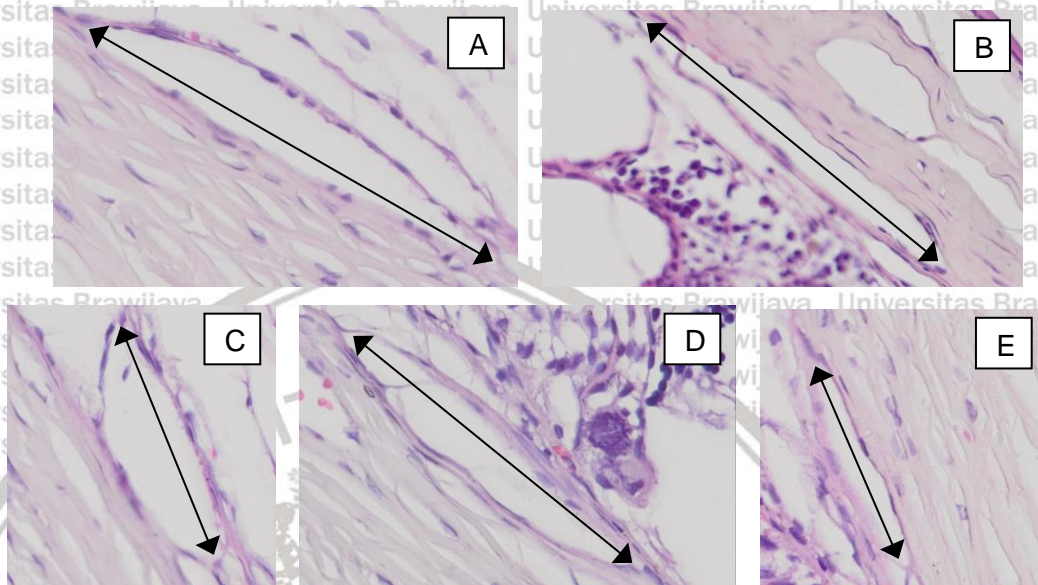
5.2 Kanalis Schlemm

Kanalis Schlemm merupakan suatu saluran yang melekat pada lapisan jukstakanalikularis meshwork dan berhubungan dengan kornea. Kanalis Schlemm ini dikelilingi oleh lapisan endotelium dan merupakan batas antara kompartemen cairan intraokular dan vaskular. Secara histologis saluran ini tampak seperti rongga berbentuk elips yang dibatasi oleh lapisan endotelium, dengan gambaran berwarna merah muda dengan inti berwarna ungu setelah pewarnaan hematoksilin-eosin. Pengamatan kanalis Schlemm ini dilakukan dengan mengevaluasi dan mengukur diameter lumen yang ada.

Pengukuran diameter kanalis Schlemm pada bola mata tikus dilakukan setelah pembuatan *slide* melalui proses parafin blok dan pewarnaan dengan hematoksilin-eosin. Pengamatan kanalis Schlemm pada setiap *slide* dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Secara histopatologis, potongan meridional bola mata dengan menggunakan mikroskop cahaya akan menunjukkan gambaran kanalis Schlemm seperti pada gambar 11. Kemudian dilakukan pengukuran diameter kanalis Schlemm dari anterior ke posterior lumen secara komputerisasi dengan menggunakan program *dot slide* dan dinyatakan dalam satuan μm .

Gambar 11 merupakan gambar kanalis Schlemm pada masing-masing kelompok penelitian. Pada gambar A terlihat bahwa lumen yang terbentuk pada kanalis Schlemm merupakan gambaran lumen yang normal. Pada gambar B terlihat bahwa lumen yang terbentuk pada kanalis Schlemm merupakan gambaran lumen yang tampak sedikit lebih menyempit akibat pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari selama 2 minggu. Sedangkan gambar C menunjukkan gambaran lumen kanalis Schlemm yang tampak lebih menyempit dibandingkan gambar A, B, dan D, akibat pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu selama 2 minggu. Sementara itu, gambar D menunjukkan gambaran lumen kanalis Schlemm yang tampak lebih menyempit dibandingkan gambar A dan B akibat pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes selama 4 minggu. Gambar E merupakan gambar kanalis Schlemm akibat

pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu selama 4 minggu dimana gambarannya terlihat jauh lebih menyempit dibandingkan semua kelompok yang lain.



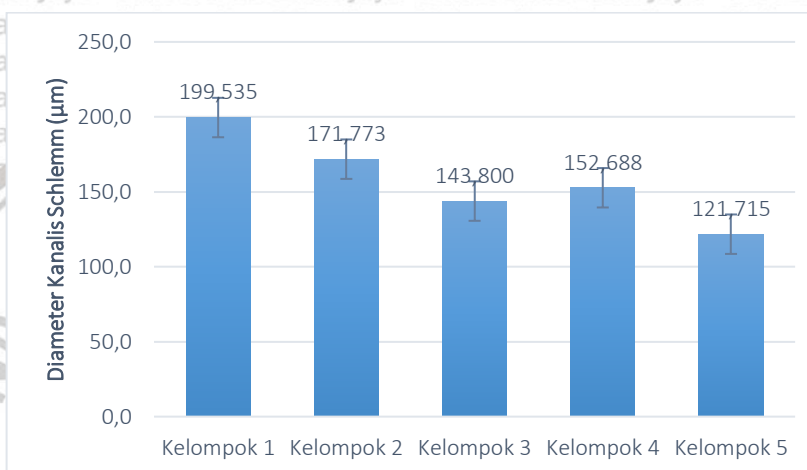
Gambar 11. Gambar kanalis Schlemm dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x. A. Kanalis Schlemm pada kelompok kontrol negatif. B. Kanalis Schlemm pada kelompok perlakuan I. C. Kanalis Schlemm pada kelompok perlakuan II. D. Kanalis Schlemm pada kelompok perlakuan III. E. Kanalis Schlemm pada kelompok perlakuan IV. Tanda panah menunjukkan diameter kanalis Schlemm.

Pada penelitian ini, didapatkan rata-rata hasil pengukuran diameter kanalis Schlemm yang tertera pada tabel 11 dan grafik 2. Rata-rata diameter kanalis Schlemm pada kelompok kontrol negatif didapatkan sebesar 199,54 μ m. Pada kelompok perlakuan I dengan pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari selama 2 minggu didapatkan rata-rata diameter kanalis Schlemm sebesar 171,77 μ m. Sedangkan pada kelompok perlakuan II dengan pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu selama 2 minggu didapatkan rata-rata diameter kanalis Schlemm sebesar 143,80 μ m. Pada kelompok perlakuan III dengan pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari selama 4 minggu didapatkan rata-rata diameter kanalis Schlemm sebesar 152,69 μ m. Sedangkan pada kelompok perlakuan IV dengan pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu selama 4 minggu didapatkan rata-rata diameter kanalis Schlemm sebesar 121,72 μ m.

Tabel 11. Rata-rata diameter kanalis Schlemm.

	N	Mean	Std. Deviation	95% CI		
				Lower Bound	Upper Bound	
Diameter Kanalis Schlemm	Kelompok 1	4	199.535	20.838	166.378	232.692
	Kelompok 2	4	171.773	23.205	134.848	208.697
	Kelompok 3	4	143.800	10.772	126.659	160.941
	Kelompok 4	4	152.688	13.796	130.735	174.640
	Kelompok 5	4	121.715	25.775	80.701	162.729

Grafik 2. Rata-rata diameter kanalis Schlemm.



Berdasarkan tabel 11 dan grafik 2 terlihat adanya pengaruh pemberian tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari pada kelompok perlakuan I dan III, serta kombinasi tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu pada kelompok perlakuan II dan IV, yang menyebabkan penurunan diameter kanalis Schlemm. Pada penelitian ini didapatkan diameter kanalis Schlemm terbesar pada kelompok kontrol negatif, sedangkan pada kelompok perlakuan I dan III maupun kelompok perlakuan II dan IV didapatkan diameter kanalis Schlemm yang lebih kecil.

Tabel 12. Hasil uji *one-way* ANOVA perbedaan rata-rata diameter kanalis Schlemm.

Uji F hitung	Signifikansi	F table	Kesimpulan
8,905	0.001	3,056	Signifikan

Untuk mengetahui perbedaan diameter kanalis Schlemm pada kelompok kontrol dan perlakuan maka digunakan analisis data dengan uji *one-way* ANOVA.

Berdasarkan hasil yang tercantum pada tabel, diperoleh nilai F hitung yang lebih besar dari F tabel dan nilai signifikansi sebesar 0,001 lebih kecil dari α (0,05), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata diameter kanalis Schlemm yang signifikan pada masing-masing kelompok. Kemudian dilakukan uji perbandingan berganda (*multiple comparisson*) dengan uji Tukey untuk mengetahui perbedaan diameter kanalis Schlemm antarkelompok.

Tabel 13. Hasil uji Tukey perbedaan rata-rata diameter kanalis Schlemm antarkelompok.

Perbedaan Kelompok		p	95% Confidence Interval		Kesimpulan
			Lower Bound	Upper Bound	
Kelompok 1	Kelompok 2	0.316	-15.285	70.810	Tidak Signifikan
	Kelompok 3	0.009	12.687	98.783	Signifikan
	Kelompok 4	0.030	3.800	89.895	Signifikan
	Kelompok 5	0.000	34.772	120.868	Signifikan
Kelompok 2	Kelompok 3	0.309	-15.075	71.020	Tidak Signifikan
	Kelompok 4	0.655	-23.963	62.133	Tidak Signifikan
	Kelompok 5	0.019	7.010	93.105	Signifikan
Kelompok 3	Kelompok 4	0.966	-51.935	34.160	Tidak Signifikan
	Kelompok 5	0.528	-20.963	65.133	Tidak Signifikan
Kelompok 4	Kelompok 5	0.224	-12.075	74.020	Tidak Signifikan

Hasil uji Tukey di atas menunjukkan bahwa pada pengukuran diameter kanalis Schlemm perbedaan yang signifikan ditemukan pada kelompok 1 dibandingkan dengan kelompok 2 ($p=0,009$), kelompok 4 ($p=0,030$), dan kelompok 5 ($p=0,000$); serta pada kelompok 2 dibandingkan dengan kelompok 5 ($p=0,019$).

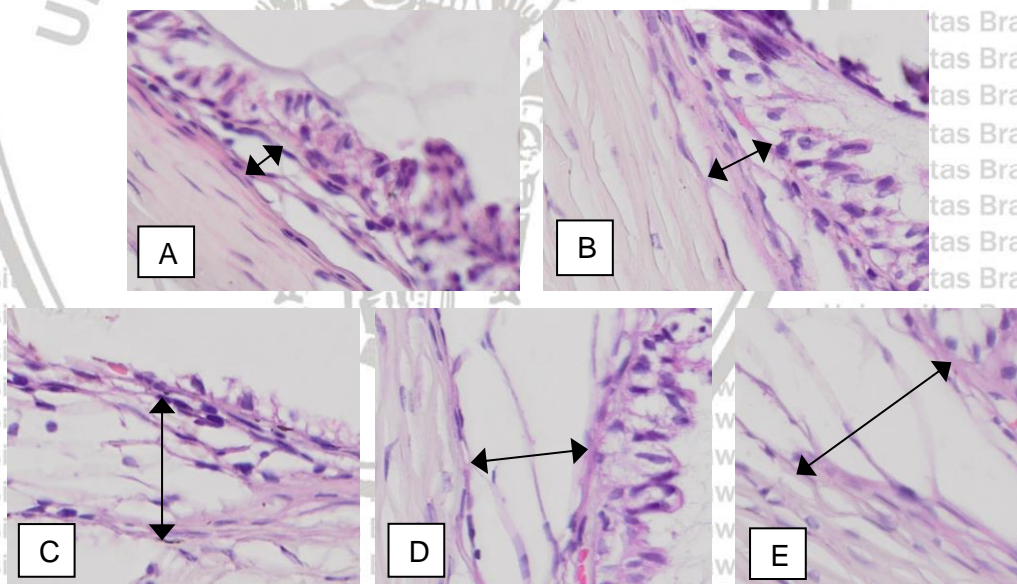
Tabel 13 di atas menunjukkan bahwa diameter kanalis Schlemm pada kelompok kontrol negatif lebih besar secara signifikan dibandingkan dengan kelompok perlakuan III ($p=0,030$), kelompok perlakuan II ($p=0,009$), dan kelompok perlakuan IV ($p=0,000$). Hasil yang sama juga didapatkan pada kelompok perlakuan I, dimana diameter kanalis Schlemm lebih besar secara signifikan dibandingkan dengan kelompok perlakuan IV ($p=0,019$).

5.3 Trabekular Meshwork

Pada pemeriksaan secara histologis potongan meridional bola mata menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x maka trabekular meshwork akan memiliki gambaran seperti yang tertera pada gambar 12.

Trabekular meshwork akan tampak seperti anyaman yang merupakan jaringan

multilapis yang mengandung lamela fenestra dan sel endotel serta terletak pada bagian anterior sudut iridokornea. Gambar A menunjukkan gambaran trabekular meshwork pada kelompok kontrol yang tidak mendapat perlakuan apapun. Pada gambar B terlihat trabekular meshwork tampak sedikit lebih tebal akibat pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari selama 2 minggu. Sedangkan gambar C menunjukkan gambaran trabekular meshwork yang tampak lebih tebal dibandingkan gambar A, B, dan D akibat pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu selama 2 minggu. Sementara itu, gambar D merupakan gambaran trabekular meshwork akibat pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes selama 4 minggu yang tampak lebih tebal dibandingkan gambar A, dan B. Gambar E merupakan gambar trabekular meshwork akibat pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu selama 4 minggu dimana gambarannya terlihat jauh lebih tebal dibandingkan semua kelompok yang lain.



Gambar 12. Gambar trabekular meshwork dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x A. Trabekular meshwork pada kelompok kontrol negatif. B. Trabekular meshwork pada kelompok perlakuan I. C. Trabekular meshwork pada kelompok perlakuan II. D. Trabekular meshwork pada kelompok perlakuan III. E. Trabekular meshwork pada kelompok perlakuan IV. Tanda panah menunjukkan ketebalan trabekular meshwork.

Pengukuran ketebalan trabekular meshwork pada bola mata tikus dilakukan setelah pembuatan *slide* melalui proses parafin blok dan pewarnaan

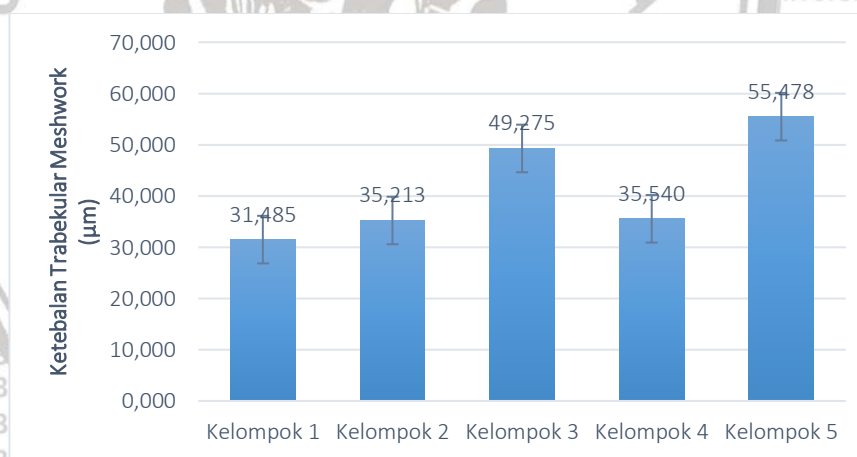
dengan hematoksin-eosin. Pengamatan trabekular meshwork pada setiap *slide* dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Kemudian dilakukan pengukuran ketebalan trabekular meshwork dari lapisan uveal meshwork hingga tepat di bawah kanalis Schlemm secara perpendikular.

Pengukuran ini dilakukan secara komputerisasi dengan program *dot slide* dan dinyatakan dalam satuan μm . Pengukuran ketebalan trabekular meshwork dilakukan pada seluruh kelompok penelitian. Hasil yang didapatkan dari pengukuran ini tercantum dalam tabel 14 dan grafik 3.

Tabel 14. Rata-rata ketebalan trabekular meshwork.

		N	Mean	Std. Deviation	95% CI	
					Lower Bound	Upper Bound
Ketebalan	Kelompok 1	4	31.485	7.875	18.955	44.015
Trabekular	Kelompok 2	4	35.213	5.703	26.137	44.288
Meshwork	Kelompok 3	4	49.275	12.548	29.309	69.241
	Kelompok 4	4	35.540	7.621	23.414	47.666
	Kelompok 5	4	55.478	9.107	40.987	69.968

Grafik 3. Rata-rata ketebalan trabekular meshwork.



Dari hasil penelitian terlihat bahwa rata-rata ketebalan trabekular meshwork pada kelompok kontrol negatif adalah sebesar $31,49(\pm 7,88)\mu\text{m}$. Pada kelompok perlakuan I dengan pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari selama 2 minggu didapatkan rata-rata ketebalan trabekular meshwork sebesar $35,21(\pm 5,70)\mu\text{m}$. Sedangkan pada kelompok perlakuan II dengan pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu selama 2 minggu didapatkan rata-rata ketebalan trabekular meshwork sebesar $49,28(\pm 12,55)\mu\text{m}$.

Pada kelompok perlakuan III dengan pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari selama 4 minggu didapatkan rata-rata ketebalan trabekular meshwork sebesar $35,540(\pm 7,62)\mu\text{m}$. Sedangkan pada kelompok perlakuan IV dengan pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu selama 4 minggu didapatkan rata-rata ketebalan trabekular meshwork sebesar $55,48(\pm 9,11)\mu\text{m}$. Berkebalikan dengan temuan diameter kanalis Schlemm, ketebalan trabekular meshwork paling kecil terlihat pada kelompok kontrol negatif, sedangkan keempat kelompok yang lain memiliki ukuran lebih besar.

Tabel 15. Hasil uji one-way ANOVA perbedaan rata-rata ketebalan trabekular meshwork.

F hitung	Signifikansi	F table	Kesimpulan
5,485	0.006	3,056	Signifikan

Seperti halnya evaluasi diameter kanalis Schlemm, analisis data yang digunakan untuk mengetahui perbandingan perbedaan ketebalan trabekular meshwork kelompok kontrol dan perlakuan adalah dengan menggunakan uji one-way ANOVA. Berdasarkan hasil yang tercantum pada tabel 15, diperoleh nilai F hitung yang lebih besar dari F tabel dan nilai signifikansi sebesar 0,006 lebih kecil dari α (0,05), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata ketebalan trabekular meshwork yang signifikan pada masing-masing kelompok. Kemudian dilakukan uji perbandingan berganda (*multiple comparisson*) dengan uji Tukey untuk mengetahui perbedaan ketebalan trabekular meshwork antarkelompok.

Tabel 16. Hasil uji Tukey perbedaan rata-rata ketebalan trabekular meshwork antarkelompok.

Perbedaan Kelompok	p	95% Confidence Interval		Kesimpulan	
		Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok 1	Kelompok 2	0.974	-23.085	15.630	Tidak Signifikan
	Kelompok 3	0.079	-37.148	1.568	Tidak Signifikan
	Kelompok 4	0.965	-23.413	15.303	Tidak Signifikan
	Kelompok 5	0.012	-43.350	-4.635	Signifikan
Kelompok 2	Kelompok 3	0.217	-33.420	5.295	Tidak Signifikan
	Kelompok 4	1.000	-19.685	19.030	Tidak Signifikan
	Kelompok 5	0.038	-39.623	-0.907	Signifikan
Kelompok 3	Kelompok 4	0.235	-5.623	33.093	Tidak Signifikan
	Kelompok 5	0.856	-25.560	13.155	Tidak Signifikan
Kelompok 4	Kelompok 5	0.042	-39.295	-0.580	Signifikan

Hasil uji Tukey di atas menunjukkan bahwa pada pengukuran ketebalan trabekular meshwork terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok 1 dibandingkan dengan kelompok 5 ($p=0,012$), kelompok 2 dibandingkan dengan kelompok 5 ($p=0,038$), dan kelompok 4 dibandingkan dengan kelompok 5 ($p=0,042$). Tabel 16 di atas menunjukkan bahwa ketebalan trabekular meshwork pada kelompok perlakuan IV lebih besar secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,012$), kelompok perlakuan I ($p=0,042$), dan kelompok perlakuan I ($p=0,038$).

BAB 6 PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan tekanan intraokuli dan perubahan morfologi trabekular meshwork yang terjadi akibat pemberian kombinasi betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu dengan durasi pemberian yang berbeda, yaitu dua minggu dan empat minggu. Kelompok perlakuan I dan III digunakan untuk membandingkan perubahan tekanan intraokuli dan perubahan morfologi trabekular meshwork yang terjadi akibat pemberian betametason tetes mata dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dengan kelompok perlakuan II dan IV yang mendapatkan kombinasi betametason tetes mata 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu.

Tujuan lain dari penelitian ini adalah sebagai alternatif dalam membuat tikus model hipertensi okuli. Penggunaan hewan coba berupa tikus disebabkan karena tikus seringkali dijadikan hewan coba dalam penelitian yang terkait dengan mata. Hal ini disebabkan ketersediaannya yang mudah didapat, murah, serta memiliki anatomi dan fungsi mata yang menyerupai manusia. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus dengan usia 10-12 minggu, yang dapat disetarakan dengan usia dewasa pada manusia.^{2,16} Sementara itu, pemilihan deksametason dan betametason disebabkan karena kedua obat tersebut merupakan jenis kortikosteroid yang banyak digunakan dengan harga terjangkau dan ketersediaan obat yang mudah didapatkan. Deksametason dan betametason memiliki potensi sekitar 5 hingga 10 kali lipat lebih kuat dari prednisolon dan 25 kali lebih kuat daripada hidrokortison.¹⁰

Pemilihan betametason tetes mata 8 kali 1 tetes perhari sebagai kelompok perlakuan pada penelitian ini berdasarkan atas penelitian Kartika (2017) yang mengaitkan hubungan pemberian betametason topikal dengan dosis 4 kali 1 tetes perhari dan 8 kali 1 tetes perhari selama 4 minggu, dimana didapatkan penurunan ukuran diameter kanalis Schlemm dan peningkatan ketebalan trabekular meshwork yang paling besar pada dosis 8 kali 1 tetes perhari, meskipun tidak didapatkan peningkatan tekanan intraokuli yang signifikan pada semua kelompok.¹⁴

Belum ada penelitian yang menggunakan kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason dalam membuat tikus model hipertensi

okuli. Penelitian yang pernah dilakukan adalah pemberian kombinasi tetes mata deksametason dengan dosis 3 kali 1 tetes perhari dan injeksi triamcinolone subkonjungtiva 3mg perminggu selama 8 minggu pada kelinci, dengan hasil peningkatan TIO yang signifikan mulai terlihat setelah 3 minggu perlakuan, dari 18,082(\pm 2,398)mmHg menjadi 24,056(\pm 1,245)mmHg dan mencapai puncak pada 6 minggu setelah perlakuan dengan TIO rata-rata 30,214(\pm 0,766)mmHg.¹⁵

Peningkatan TIO merupakan salah satu efek samping dari penggunaan kortikosteroid. Pada penelitian ini, berdasarkan tabel 6 dan grafik 1 yang berisi rata-rata TIO pada masing-masing waktu pengukuran terlihat adanya pengaruh pemberian tetes mata betametason pada kelompok perlakuan I dan III serta kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva pada kelompok perlakuan II dan IV yang menyebabkan peningkatan TIO.

Demikian juga berdasarkan hasil uji *one-way* ANOVA seluruh kelompok pada minggu ke-2 yang tercantum pada tabel 7, dan hasil uji *one-way* ANOVA kelompok kontrol negatif, perlakuan III, dan perlakuan IV pada minggu ke-4, yang tercantum pada tabel 8, diperoleh nilai signifikansi dengan $p < 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata TIO yang signifikan pada masing-masing kelompok dalam penelitian ini.

Adanya peningkatan TIO yang dikaitkan dengan penggunaan kortikosteroid telah dibahas pada beberapa penelitian terhadap hewan coba lainnya. Khan *et al.* (2014) mengaitkan hubungan pemberian kortikosteroid betametason terhadap TIO dimana betametason yang digunakan diberikan melalui injeksi subkonjungtiva pada hewan coba kelinci dengan berat badan 1.500-2.000g dengan dosis 0,7ml (6mg/ml) sebanyak satu kali perminggu selama 4 minggu. Pada penelitian ini, dari hasil pengukuran TIO yang dilakukan, didapatkan peningkatan TIO yang signifikan pada minggu kedua dan minggu keempat penelitian.¹¹ Penelitian dengan menggunakan prednisolon asetat topikal 0,5% tiga kali sehari juga diketahui dapat menyebabkan peningkatan TIO rata-rata pada domba setelah 3 minggu pengobatan dari 10,4mmHg menjadi 27,5mmHg. TIO pada hewan ini kembali normal saat pengobatan dihentikan.⁴³ Penggunaan deksametason topikal pada tikus juga telah diteliti, dimana penggunaan deksametason tetes mata empat kali sehari dapat menyebabkan peningkatan TIO setelah 2 minggu pengobatan.¹³

Meskipun berdasarkan uji statistik terdapat perbedaan rata-rata TIO yang signifikan pada masing-masing kelompok, pada penelitian ini, kelompok yang

memiliki peningkatan rata-rata TIO >21mmHg hanya didapatkan pada kelompok perlakuan II dan IV, dengan rata-rata TIO setelah 2 minggu perlakuan 23,635(±1,801)mmHg pada kelompok perlakuan II dan 24,675 (±3,058)mmHg pada kelompok perlakuan IV, dan rata-rata TIO setelah 4 minggu perlakuan 28,650(±4,035)mmHg pada kelompok perlakuan IV, sementara pada kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan I dan III, peningkatan TIO rata-rata kurang dari 21mmHg. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pengaruh pada rute administrasi kortikosteroid antara kelompok perlakuan I dan III, dimana kortikosteroid hanya diberikan secara topikal, dan kelompok perlakuan II dan IV, dimana kortikosteroid diberikan secara topikal dan periokular.

Berdasarkan literatur, dikatakan bahwa peningkatan TIO akibat pemberian kortikosteroid paling banyak terjadi akibat pemberian melalui periokular dan topikal, dan yang paling jarang yaitu pemberian sistemik.^{5,32} Injeksi periokular dari kortikosteroid merupakan bentuk pemberian steroid yang paling berbahaya karena terjadi perpanjangan durasi kerja steroid, dimana peningkatan tekanan intraokuli dapat terjadi sebagai respon terhadap pemberian steroid subkonjungtiva, subtenon, maupun steroid retrobulbar.³² Selain itu, sebuah studi oleh Weijtens *et al.* (2002) menyebutkan bahwa pemberian deksametason topikal tetes mata dengan dosis pemberian yang sering sekalipun masih memiliki konsentrasi yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan pemberian melalui injeksi subkonjungtiva, sehingga walaupun terjadi peningkatan TIO, maka peningkatan tersebut tidak terlalu signifikan dibandingkan dengan jalur pemberian kortikosteroid lainnya.⁴⁴ Sementara itu, penelitian Kartika (2017) menemukan bahwa pemberian betametason topikal dengan dosis 4 kali 1 tetes perhari dan 8 kali 1 tetes perhari selama 4 minggu tidak dapat menyebabkan peningkatan tekanan intraokuli yang signifikan.¹⁴

Pada penelitian ini, kelompok perlakuan II dan IV mendapatkan kortikosteroid secara periokular dan topikal, sehingga konsentrasi steroid intraokular menjadi lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan I dan III yang mendapatkan kortikosteroid topikal saja. Hal ini sesuai dengan penelitian Zhao *et al.* (2010) yang membandingkan TIO serta perubahan morfologi trabekular meshwork antara kelinci yang mendapatkan tetes mata deksametason 3 kali 1 tetes perhari dengan kelinci yang mendapatkan kombinasi tetes mata deksametason 3 kali 1 tetes perhari dan injeksi triamcinolone subkonjungtiva 3mg perminggu selama 8 minggu, dimana pada kelinci yang mendapatkan kombinasi

tetes mata deksametason dan injeksi triamcinolone subkonjungtiva didapatkan peningkatan TIO yang lebih besar. Berdasarkan penelitian ini, peningkatan TIO yang signifikan mulai terlihat setelah 3 minggu perlakuan, dari 18,082(\pm 2,398)mmHg menjadi 24,056(\pm 1,245)mmHg dan mencapai puncak pada 6 minggu setelah perlakuan dengan TIO rata-rata 30,214(\pm 0,766)mmHg.¹⁵

Pada penelitian ini, berdasarkan uji Tukey, peningkatan TIO yang signifikan pada minggu kedua didapatkan pada kelompok perlakuan II dan IV yang mendapatkan kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva. Tekanan intraokuli pada kelompok perlakuan IV didapatkan semakin meningkat setelah 4 minggu pemberian obat. Hal ini sesuai dengan literatur, dimana dikatakan bahwa selain rute administrasi, durasi dan frekuensi pemberian obat juga mempengaruhi efek kortikosteroid. Aplikasi yang lebih sering dan durasi yang lebih panjang menghasilkan konsentrasi intraokular yang lebih tinggi. Sebagian besar penelitian melaporkan peningkatan TIO terjadi 3-6 minggu setelah penggunaan steroid topikal, dan dapat terjadi peningkatan tekanan intraokuli pada minggu pertama dan kedua. Peningkatan TIO hampir tidak pernah terjadi pada pemakaian steroid kurang dari 5 hari.^{32,36,37}

Selain perubahan TIO, penelitian ini juga mengamati perubahan diameter kanalis Schlemm pada pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva. Dari hasil pengukuran diameter kanalis Schlemm, terlihat adanya pengaruh pemberian tetes mata betametason pada kelompok perlakuan I dan III serta kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva pada kelompok perlakuan II dan IV, yang menyebabkan penurunan diameter kanalis Schlemm. Diameter kanalis Schlemm terbesar didapatkan pada kelompok kontrol negatif, sedangkan pada kelompok perlakuan I dan III, maupun kelompok perlakuan II dan IV, didapatkan diameter kanalis Schlemm yang lebih kecil. Berdasarkan uji *one-way* ANOVA perbedaan rata-rata diameter kanalis Schlemm didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,001, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata diameter kanalis Schlemm yang signifikan pada masing-masing kelompok. Penurunan diameter kanalis Schlemm pada kelompok perlakuan I dan III sesuai dengan penelitian Kartika (2017) dimana didapatkan penurunan ukuran diameter kanalis Schlemm yang signifikan pada pemberian betametason topikal dengan dosis 4 kali 1 tetes perhari dan 8 kali 1 tetes perhari selama 4 minggu.¹⁴

Pada penelitian ini, diameter kanalis Schlemm pada kelompok perlakuan II dan IV didapatkan lebih kecil dibandingkan dengan kelompok perlakuan I dan III, yaitu sebesar 143,80 μ m pada kelompok perlakuan II dan 121,72 μ m pada kelompok perlakuan IV, serta 171,77 μ m pada kelompok perlakuan I dan 152,69 μ m pada kelompok perlakuan III. Berdasarkan hasil uji Tukey, didapatkan bahwa pada pengukuran diameter kanalis Schlemm terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok perlakuan I ($p=0,030$), kelompok perlakuan II ($p=0,009$), dan kelompok perlakuan IV ($p=0,000$); serta pada kelompok perlakuan I dibandingkan dengan kelompok perlakuan IV ($p=0,019$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva dapat menyebabkan penurunan diameter kanalis Schlemm yang lebih besar dibandingkan pemberian tetes mata betametason saja. Selain itu, pemberian tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva selama 4 minggu memiliki pengaruh yang lebih signifikan dalam menyebabkan penurunan diameter kanalis Schlemm dibandingkan pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva selama 2 minggu.

Pada kondisi tekanan intraokuli yang meningkat, berbagai perubahan dapat terjadi pada mata normal. Penelitian oleh Clark *et al.* (1994) mendemonstrasikan antara perubahan histologis dengan tekanan intraokuli yang terjadi pada sampel kultur jaringan mata manusia dengan terapi kortikosteroid. Dikatakan bahwa pada mata dengan peningkatan TIO, terjadi perubahan morfologi yang meliputi penebalan trabekular meshwork, penurunan ruang intertrabekular, penebalan jaringan jukstakanalikular, dan peningkatan jumlah material ekstraselular. Berdasarkan hasil kultur jaringan tersebut, didapatkan penumpukan glikosaminoglikan seiring dengan meningkatnya durasi paparan dengan steroid. Adanya perubahan-perubahan tersebut secara tidak langsung akan mempengaruhi perubahan morfologi pada kanalis Schlemm, dimana salah satunya akan terjadi penyempitan lumen kanalis Schlemm.⁴⁵

Perubahan struktur histologi yang terjadi pada kondisi hipertensi okuli akibat kortikosteroid maupun *steroid induced glaucoma* memiliki gambaran serupa dengan glaukoma sudut terbuka primer. Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Yan *et al.* (2016) mengevaluasi hubungan antara kanalis Schlemm dan trabekular meshwork pada pasien dengan glaukoma sudut terbuka primer. Evaluasi dilakukan dengan menggunakan *ultrasound biomicroscopy*. Berdasarkan penelitian

tersebut, didapatkan penurunan ukuran diameter meridional dan koronal kanalis Schlemm pada pasien dengan glaukoma sudut terbuka primer dibandingkan dengan mata normal.⁴⁶

Selain perubahan TIO dan diameter kanalis Schlemm, penelitian ini juga mengevaluasi efek pemberian kortikosteroid berupa ketebalan trabekular meshwork. Berkebalikan dengan diameter kanalis Schlemm, ketebalan trabekular meshwork paling kecil terlihat pada kelompok kontrol negatif, sedangkan keempat kelompok yang lain memiliki ukuran lebih besar, dengan ukuran rata-rata ketebalan trabekular meshwork kelompok kontrol negatif sebesar $31,49(\pm 7,88)\mu\text{m}$, perlakuan I sebesar $35,21(\pm 5,70)\mu\text{m}$, perlakuan III sebesar $35,540(\pm 7,62)\mu\text{m}$, perlakuan II sebesar $49,28(\pm 12,55)\mu\text{m}$, dan perlakuan IV sebesar $55,48(\pm 9,11)\mu\text{m}$. Berdasarkan uji *one-way* ANOVA perbedaan rata-rata ketebalan trabekular meshwork, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,006 sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata ketebalan trabekular meshwork yang signifikan pada masing-masing kelompok. Peningkatan ketebalan trabekular meshwork pada kelompok perlakuan I dan III sesuai dengan penelitian Kartika (2017) dimana didapatkan peningkatan ketebalan trabekular meshwork yang signifikan pada pemberian betametason topikal dengan dosis 4 kali 1 tetes perhari dan 8 kali 1 tetes perhari selama 4 minggu.¹⁴

Berdasarkan hasil uji Tukey, pada pengukuran ketebalan trabekular meshwork terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok perlakuan IV ($p=0,012$), kelompok perlakuan I dibandingkan dengan kelompok perlakuan IV ($p=0,038$), dan kelompok perlakuan III dibandingkan dengan kelompok perlakuan IV ($p=0,042$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva selama 4 minggu dapat lebih menyebabkan peningkatan ketebalan trabekular meshwork dibandingkan pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva selama 2 minggu maupun pemberian tetes mata betametason saja.

Beberapa penelitian terdahulu menyebutkan bahwa pada pemakaian kortikosteroid akan didapatkan adanya deposit material matriks ekstraselular dan terjadi perubahan struktur trabekular meshwork. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, pada penelitian Clark *et al.* (1994) didapatkan bahwa pemberian terapi kortikosteroid dapat menyebabkan perubahan morfologi trabekular meshwork, salah satunya berupa peningkatan ketebalan trabekular meshwork

yang terjadi akibat ukuran sel-sel trabekular meshwork yang membesar dan peningkatan jumlah material ekstraselular.⁴⁵

Penelitian lain oleh Razali *et al.* (2015) mengevaluasi pemakaian tetes mata deksametason 0,1% dengan dosis pemberian 2 kali 1 tetes perhari selama 62 hari yang diberikan pada hewan coba tikus, dimana didapatkan peningkatan TIO pada hari ke-8 dan selanjutnya meningkat sampai dengan 80% pada hari ke 29-62. Peningkatan TIO ini dikatakan berkaitan dengan peningkatan ketebalan trabekular meshwork dan penurunan jumlah sel trabekular meshwork.⁴⁷ Pada penelitian Tektas *et al.* (2010), selain mengevaluasi peningkatan TIO juga dilakukan evaluasi terhadap perubahan morfologi trabekular meshwork pada hewan coba sapi yang diberi tetes mata prednisolone 0,5%. Berdasarkan hasil pemeriksaan histologis yang dilakukan, didapatkan adanya akumulasi dari matriks ekstraselular dan penebalan trabekular meshwork. Hal ini dikatakan sama seperti yang terjadi pada mata manusia dengan glaukoma sudut terbuka primer dan glaukoma *steroid-induced*.⁴⁸ Hal yang sama diungkapkan pada penelitian Qin *et al.* (2012) yang mengevaluasi efek penggunaan kortikosteroid topikal pada kelinci dari berbagai kelompok usia terhadap peningkatan TIO dan perubahan histologis trabekular meshwork, dimana terjadi peningkatan ruang interselular pada trabekular meshwork sehingga ketebalan dari trabekular meshwork meningkat.⁴⁹

Berdasarkan literatur, dikatakan bahwa peningkatan tekanan intraokuli terjadi akibat perubahan-perubahan yang terdapat pada struktur trabekular meshwork. Sebelum terjadi peningkatan TIO, akan terjadi gangguan resistensi aliran *outflow* sebagai akibat penyempitan diameter kanalis Schlemm dan peningkatan ketebalan trabekular meshwork.^{8,30,39,40} Pada penelitian ini, didapatkan peningkatan TIO, penyempitan diameter kanalis Schlemm, dan peningkatan diameter trabekular meshwork yang signifikan berdasarkan hasil analisis statistik. Hal ini menunjukkan mekanisme peningkatan TIO oleh pemberian steroid, dimana peningkatan TIO disebabkan oleh perubahan morfologi berupa penyempitan diameter kanalis Schlemm dan peningkatan ketebalan trabekular meshwork yang menyebabkan peningkatan resistensi aliran *outflow* sebagaimana disebutkan dalam literatur.

Penelitian ini dapat digunakan sebagai metode baru dalam membuat hewan model hipertensi okuli yang sederhana untuk mempelajari glaukoma, dimana waktu yang dibutuhkan untuk menginduksi hipertensi okuli relatif singkat, yaitu peningkatan tekanan intraokuli dan penurunan diameter kanalis Schlemm

didapatkan dua minggu setelah perlakuan, dan peningkatan ketebalan trabekular meshwork didapatkan empat minggu setelah perlakuan. Selain itu penggunaan tikus, serta obat tetes mata betametason dan deksametason ampul memiliki harga yang relatif terjangkau dan mudah didapatkan.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah ketersediaan literatur yang berkaitan dengan kombinasi pemberian kortikosteroid topikal dan injeksi subkonjungtiva memang cukup jarang. Kekurangan lain pada penelitian ini, yaitu pengamatan diameter kanalis Schlemm dan trabekular meshwork dengan menggunakan pewarnaan HE dapat mempengaruhi hasil pengukuran yang disebabkan adanya proses deparafinisasi sebelum pewarnaan HE yang sedikit banyak akan mempengaruhi ukuran kanalis Schlemm dan trabekular meshwork. Maka dari itu, diperlukan cara pengambilan preparat lainnya agar hasil dalam pengukuran kanalis Schlemm dan trabekular meshwork dapat lebih akurat.



BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan pada penelitian ini, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat peningkatan tekanan intraokuli yang signifikan akibat pemberian kombinasi tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu selama 2 dan 4 minggu.
2. Terdapat penurunan ukuran diameter kanalis Schlemm yang signifikan akibat pemberian kombinasi tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu selama 2 dan 4 minggu.
3. Terdapat peningkatan ketebalan trabekular meshwork yang signifikan akibat pemberian kombinasi tetes mata betametason dengan dosis 8 kali 1 tetes perhari dan injeksi deksametason subkonjungtiva 0,1ml perminggu selama 4 minggu.

7.2 Saran

Berdasarkan pembahasan dan kesimpulan penelitian, dikemukakan saran penelitian sebagai berikut:

1. Dilakukan penelitian lanjutan untuk mengevaluasi apakah peningkatan tekanan intraokuli yang terjadi akibat pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva bersifat reversibel atau ireversibel.
2. Dilakukan penelitian lanjutan untuk mengevaluasi apakah perubahan histologi dari trabekular meshwork yang terjadi akibat pemberian kombinasi tetes mata betametason dan injeksi deksametason subkonjungtiva bersifat reversibel atau ireversibel.

DAFTAR PUSTAKA

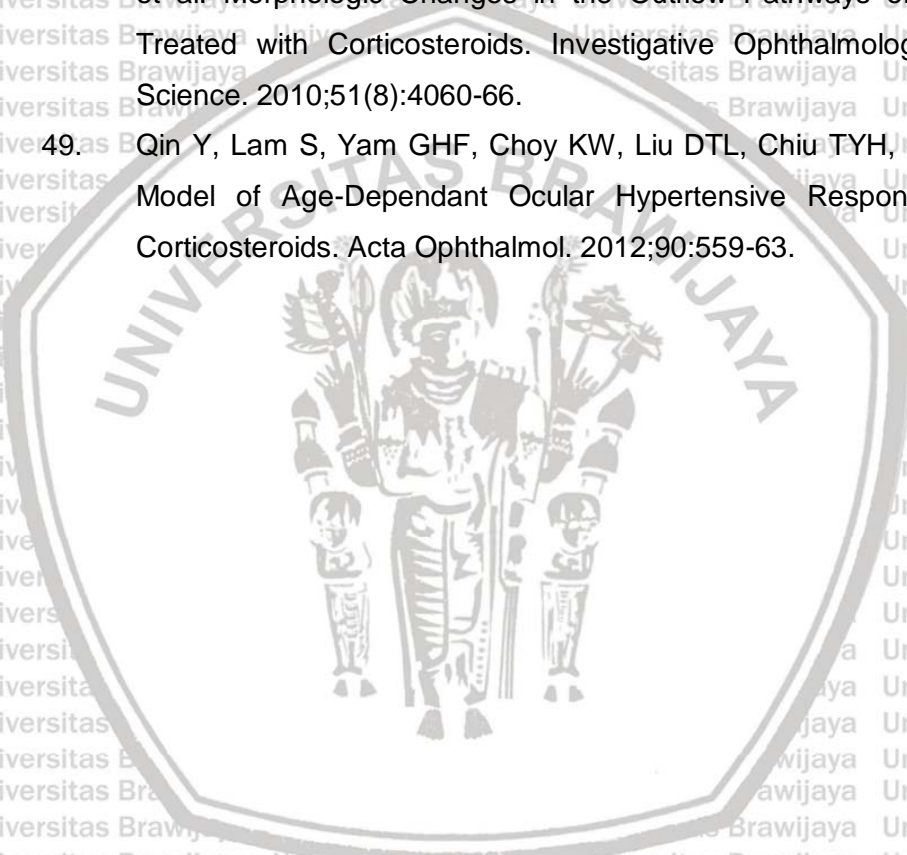
1. Ahmad SS. Controversies in The Vascular Theory of Glaucomatous Optic Nerve Degeneration. Taiwan J Ophthalmol. 2016;6(4):182-6.
2. Bouhenni RA, Dunmire J, Sewell A, Edward DP. Animal Models of Glaucoma. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2012:1-11.
3. Vecino E, Sharma SC. Glaucoma Animal Models. In: Rumelt S, editor. Glaucoma Basic and Clinical Concepts. China: Intech; 2011. p. 319-34.
4. Quigley H, Broman AT. The Number of People with Glaucoma Worldwide in 2010 and 2020. Br J Ophthalmol. 2006;90:262-7.
5. Staff AAO. Glaucoma, Basic and Clinical Science Course. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2014. p. 13-9, 23-6, 44-5.
6. Phulke S, Kaushik S, Kaur S, Pandav S. Steroid-induced Glaucoma: An Avoidable Irreversible Blindness. Journal of Current Glaucoma Practice. 2017;11(2):67-72.
7. Pleyer U, Ursell PG, Rama P. Intraocular Pressure Effects of Common Topical Steroids for Post-Cataract Inflammation: Are They All the Same. Ophthalmol Ther. 2013;2:55-72.
8. Patel GC, Phan TN, Maddineni P, Kasetti RB, Millar JC, Abbot F. Clark, et al. Dexamethasone-Induced Ocular Hypertension in Mice; Effects of Myocilin and Route of Administration. The American Journal of Pathology. 2017;187(4):712-23.
9. Resch ZT, Fautsch MP. Glaucoma-Associated Myocilin: a Better Understanding but much more to Learn. Exp Eye Res. 2009;88(4):704-12.
10. Goel M, Picciani RG, Lee RK, Bhattacharya SK. Aqueous Humor Dynamics: A Review. The Open Ophthalmology Journal. 2010;4:52-9.
11. Suresh PK, Dewangan D. Ophthalmic Delivery System for Dexamethasone: An Overview. International Journal of Innovative Pharmaceutical Research. 2011;2(4):161-5.
12. Khan SU, Ashraf M, Salam A, Ali Z, Rahman MU, Shah A. Steroid Induced Ocular Hypertension: an Animal Model. Gomal J Med Sci. 2014;12:115-7.
12. Awan MA, Agarwal PK, Watson DG, JMcghee CN, Dutton GN. Penetration of Topical and Subconjunctival Corticosteroids into Human Aqueous Humour and Its Therapeutic Significance. British Journal of Ophthalmology. 2010;93:708-13.

13. Sawaguchi K, Nakamura Y, Sakai H, Sawaguchi S. Myocilin Gene Expression in the Trabecular Meshwork of Rats in a Steroid-Induced Ocular Hypertension Model. *Ophthalmic Res.* 2005;37(5):235-42.
14. Kartika A. Pengaruh Pemberian Betametason Topikal terhadap Peningkatan Tekanan Intraokuli (TIO) dan Perubahan Morfologi Trabekular Meshwork pada Tikus Strain Wistar (*Rattus norvegicus*). Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya; 2017. p. 1-58.
15. Zhao J, Zhang Q. Ultrastructural Changes of The Trabecular Meshwork in Glucocorticoid Induced Glaucoma. *NCBI.* 2010;25(2):119-24.
16. Pazosa M, Yanga H, Gardinerb SK, Cepurnac WO, Johnsonc EC, Morrisonc JC, et al. Rat Optic Nerve Head Anatomy within 3D Histomorphometric Reconstructions of Normal Control Eyes. *Exp Eye Res.* 2015;139:1-12.
17. Razeghinejad MR, Katz LJ. Steroid-Induced Iatrogenic Glaucoma. *Ophthalmic Res.* 2012;47:66-80.
18. Kuehn MH, Fingert JH, Kwon YH. Retinal Ganglion Cell Death in Glaucoma: Mechanisms and Neuroprotective Strategies. *Ophthalmol Clin N Am.* 2005;18 383-95.
19. Díaz JIJ, Cordero GB, López DCF, Castro MCD, López MF, Berciano MF. Diurnal Variability of Intraocular Pressure. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2017;82:675-80.
20. Shen X, Ying H, Yue BYJT. Wnt Activation by Wild Type and Mutant Myocilin in Cultured Human Trabecular Meshwork Cells. *Plos One.* 2012;7(9):1-10.
21. Quigley HA. Understanding Glaucomatous Optic Neuropathy: The Synergy Between Clinical Observation and Investigation. *Annu Rev Vis Sci.* 2016;2:235-54.
22. Mukhtar SA, Jamil AZ, Ali Z. Estimation of Range of Intraocular Pressure in Normal Individuals by Air Puff Tonometer. *Pak J Ophthalmol.* 2014;30(3):129-32.
23. Stamper RL, Lieberman MF, Drake MV. Intraocular pressure. *Becker-Shaffer's Diagnosis and Therapy of the Glaucomas.* UK: Elsevier Inc; 2009. p. 47-67.
23. Barton K, Hitchings RA. *Medical Management of Glaucoma.* London: Springer Healthcare; 2013. p. 33-48.

24. Avila MY, Seidler RW, Stone RA, Civan MM. Inhibitors of NHE-1 Na/H Exchange Reduce Mouse Intraocular Pressure. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2002;43(6):1897-902.
25. Knepper PA, Yue BY. Abnormal Trabecular Meshwork Outflow. In: Levin LA, Albert DM, editors. *Ocular Disease: Mechanisms and Management*. USA: Elsevier Inc; 2010. p. 171-7.
26. Dolowy M, Pyka A. Evaluation of Lipophilic Properties of Betamethasone and Related Compounds. *Acta Poloniae Pharmaceutica and Drug Research*. 2015;72(4):671-81.
27. Shafie MAA, Fayek HHM. Formulation and Evaluation of Betamethasone Sodium Phosphate Loaded Nanoparticles for Ophthalmic Delivery. *J Clin Exp Ophthalmol*. 2013;4(2):273.
28. Garg A. *Anti-inflammatory Therapy. Ocular Therapeutics*. 3rded. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2013. p. 155-69.
29. Watson D, McGhee C, Midgley J. Penetration of topically applied betamethasone sodium phosphate into human aqueous humour. *Eye*. 1990;4:603-6.
30. Razeghinejad MR, Katz LJ. Steroid-Induced Iatrogenic Glaucoma. *Ophthalmic Res*. 2012;47:66-80.
31. Melena J, Santafé J, Segarra J. Betamethasone-Induced Ocular Hypertension in Rabbits. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 1997 8:553-8.
32. Bartlett JD, Jaanus SD. *Anti-Inflammatory Drugs. Clinical Ocular Pharmacology*. 5 ed. USA: Elsevier Inc; 2008. p. 163-82.
33. Alaani H, Alnukkary Y. Stability-Indicating HPLC Method for Simultaneous Determination of Chloramphenicol, Dexamethasone Sodium Phosphate and Tetrahydrozoline Hydrochloride in Ophthalmic Solution. *Adv Pharm Bull*. 2016;6(1):137-41.
34. Akingbehin A. Comparative Study of the Intraocular Pressure Effects of Fluorometholone 0.1% Versus Dexamethasone 0.1%. *Br J Ophthalmol*. 1983;67.
35. Weijtens O, Feron E, Schoemaker R, Cohen A, Lentjes E, Romijn F, et al. High Concentration of Dexamethasone in Aqueous and Vitreous after Subconjunctival Injection. *Am J Ophthalmol*. 1999;128(2):192-7.

36. Maggs DJ. Ocular Pharmacology and Therapeutics. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. Philadelphia: Elsevier Inc; 2009. p. 1-30.
37. Affandi ES. Data Concerning Primary Angle Closure Glaucoma in Indonesia. Jakarta: Majalah Kedokteran Nusantara; 2006. p. 141-146.
38. Mineoka RT, Yasuoka N, Ueta M, Katoh N. Influence of Topical Steroids on Intraocular Pressure in Patients With Atopic Dermatitis. *Journal Allergy International*. 2018;1-4.
39. Overby DR, Bertrand J, Tektas O-Y, Boussoimmier-Calleja A, Schicht M, Ethier CR, et al. Ultrastructural Changes Associated With Dexamethasone-Induced Ocular Hypertension in Mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:4922-33.
40. Pattabiraman PP, Rao PV. Hic-5 Regulates Actin Cytoskeletal Reorganization and Expression of Fibrogenic Markers and Myocilin in Trabecular Meshwork Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(9):5656-69.
41. Yue BYJT. Cellular Mechanisms in the Trabecular Meshwork Affecting the Aqueous Humor Outflow Pathway. *Albert & Jakobiec's Principles & Practice of Ophthalmology*. 3 ed. Philadelphia: Elsevier - Health Sciences Division; 2008. p. 5502.
42. Filla MS, Schwinn MK, Nosie AK, Clark RW, Peters DM. Dexamethasone-Associated Cross-Linked Actin Network Formation in Human Trabecular Meshwork Cells Involves B3 Integrin Signaling. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2011;52(6):2952-9.
43. Candia OA, Gerometta R, Millar JC, Podos SM. Suppression of Corticosteroid-Induced Ocular Hypertension in Sheep by Anecortave. *Arch Ophthalmol*. 2010;128(3):338-43.
44. Weijtens O, Schoemaker R, Romijn F, Cohen A, Lentjes E, Meurs Jv. Intraocular Penetration and Systemic Absorption after Topical Application of Dexamethasone Disodium Phosphate. *Ophthalmology*. 2002;109(10):1887-91.
45. Clark AF, Wilson K, McCartney MD, Miggans ST, Kunkle M, Howe W. Glucocorticoid-Induced Formation of Cross-Linked Actin Networks in Cultured Human Trabecular Meshwork Cells. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 1994;35(1):281-94.

46. Yan X, Li M, Chen Z, Zhu Y, Song Y, Zhang H. Schlemm's Canal and Trabecular Meshwork in Eyes with Primary Open Angle Glaucoma: A Comparative Study Using High-Frequency Ultrasound Biomicroscopy. PLOS ONE. 2016;11(1):e0145824.
47. Razali N, Agarwal R, Agarwal P, Kumar S, Tripathy M, Vasudevan SKR, et al. Role of Adenosine Receptors in Resveratrol-Induced Intraocular Pressure Lowering in Rats with Steroid-Induced Ocular Hypertension. Clin Exp Ophthalmol. 2015;43(1):54-66.
48. Tektas O-Yk, Hammer CM, Danias J, Candia O, Gerometta R, Podos SM, et al. Morphologic Changes in the Outflow Pathways of Bovine Eyes Treated with Corticosteroids. Investigative Ophthalmology and Visual Science. 2010;51(8):4060-66.
49. Qin Y, Lam S, Yam GHF, Choy KW, Liu DTL, Chiu TYH, et al. A Rabbit Model of Age-Dependant Ocular Hypertensive Response to Topical Corticosteroids. Acta Ophthalmol. 2012;90:559-63.



Lampiran 1. Persetujuan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA
 FAKULTAS KEDOKTERAN
 KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
 Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
 http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
 ("ETHICAL CLEARANCE")

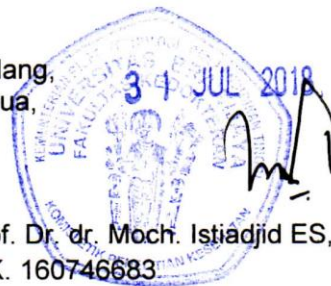
No. 174 / EC / KEPK – PPDS / 07 / 2018

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

- JUDUL** : Pengaruh Pemberian Kombinasi Tetes Mata Betametason dan Injeksi Deksametason Subkonjungtiva terhadap Peningkatan Tekanan Intraokuli dan Morfologi Trabekular Meshwork Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar.
- PENELITI UTAMA** : dr. Dessira Rizka Tri Ariany
- UNIT / LEMBAGA** : PPDS I Ilmu Kesehatan Mata - Fakultas Kedokteran - Universitas Brawijaya Malang.
- TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Farmakologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang,
 Ketua,



Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr.H.
 NIK. 160746683

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Hasil Pelaksanaan Penelitian Wajib Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 2. Analisis Statistik Diameter Kanalis Schlemm dan Ketebalan Trabekular Meshwork

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation
Diameter Kanalis	Kelompok 1	4	199.5350	20.83757
	Kelompok 2	4	171.7725	23.20528
	Kelompok 3	4	143.8000	10.77193
	Kelompok 4	4	152.6875	13.79581
	Kelompok 5	4	121.7150	25.77531
	Total	20	157.9020	32.17981
Ketebalan Trabekular	Kelompok 1	4	31.4850	7.87466
	Kelompok 2	4	35.2125	5.70319
	Kelompok 3	4	49.2750	12.54771
	Kelompok 4	4	35.5400	7.62058
	Kelompok 5	4	55.4775	9.10661
	Total	20	41.3980	12.36176

Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
	Lower Bound	Upper Bound		
10.41878	166.3778	232.6922	175.78	226.07
11.60264	134.8477	208.6973	147.40	194.35
5.38596	126.6595	160.9405	128.24	153.00
6.89790	130.7353	174.6397	139.93	169.96
12.88766	80.7007	162.7293	96.40	157.40
7.19562	142.8414	172.9626	96.40	226.07
3.93733	18.9547	44.0153	23.10	40.59
2.85159	26.1375	44.2875	28.84	42.46
6.27385	29.3088	69.2412	34.20	64.09
3.81029	23.4140	47.6660	30.29	46.83
4.55331	40.9868	69.9682	47.47	66.28
2.76417	35.6125	47.1835	23.10	66.28

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter Kanalis	Ketebalan Trabekular
N		20	20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	157.9020	41.3980
	Std. Deviation	32.17981	12.36176
Most Extreme Differences	Absolute	.155	.163
	Positive	.155	.163
	Negative	-.088	-.081
Kolmogorov-Smirnov Z		.694	.729
Asymp. Sig. (2-tailed)		.722	.663

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Kanalis	.999	4	15	.439
Ketebalan Trabekular	.902	4	15	.487



Oneway

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Diameter Kanalis	Between Groups	13845.015	4	3461.254	8.905	.001
	Within Groups	5830.244	15	388.683		
	Total	19675.259	19			
Ketebalan Trabekular	Between Groups	1724.494	4	431.124	5.485	.006
	Within Groups	1178.956	15	78.597		
	Total	2903.450	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
Diameter Kanalis	Kelompok 1	Kelompok 2	27.76250*	13.94064	.316	-15.2851	70.8101	
		Kelompok 3	55.73500*	13.94064	.009	12.6874	98.7826	
		Kelompok 4	46.84750*	13.94064	.030	3.7999	89.8951	
		Kelompok 5	77.82000*	13.94064	.000	34.7724	120.8676	
		Kelompok 2	Kelompok 1	-27.76250	13.94064	.316	-70.8101	15.2851
	Kelompok 2	Kelompok 3	27.97250	13.94064	.309	-15.0751	71.0201	
		Kelompok 4	19.08500	13.94064	.655	-23.9626	62.1326	
		Kelompok 5	50.05750*	13.94064	.019	7.0099	93.1051	
		Kelompok 3	Kelompok 1	-55.73500*	13.94064	.009	-98.7826	-12.6874
		Kelompok 2	-27.97250	13.94064	.309	-71.0201	15.0751	
	Kelompok 3	Kelompok 4	-8.88750	13.94064	.966	-51.9351	34.1601	
		Kelompok 5	22.08500	13.94064	.528	-20.9626	65.1326	
		Kelompok 4	Kelompok 1	-46.84750*	13.94064	.030	-89.8951	-3.7999
		Kelompok 2	-19.08500	13.94064	.655	-62.1326	23.9626	
		Kelompok 3	8.88750	13.94064	.966	-34.1601	51.9351	
	Kelompok 4	Kelompok 5	30.97250	13.94064	.224	-12.0751	74.0201	
		Kelompok 1	-77.82000*	13.94064	.000	-120.8676	-34.7724	
		Kelompok 2	-50.05750*	13.94064	.019	-93.1051	-7.0099	
		Kelompok 3	-22.08500	13.94064	.528	-65.1326	20.9626	
		Kelompok 4	-30.97250	13.94064	.224	-74.0201	12.0751	
Ketebalan Trabekular	Kelompok 1	Kelompok 2	-3.72750	6.26885	.974	-23.0852	15.6302	
		Kelompok 3	-17.79000	6.26885	.079	-37.1477	1.5677	
		Kelompok 4	-4.05500	6.26885	.965	-23.4127	15.3027	
		Kelompok 5	-23.99250*	6.26885	.012	-43.3502	-4.6348	
		Kelompok 2	Kelompok 1	3.72750	6.26885	.974	-15.6302	23.0852
	Kelompok 2	Kelompok 3	-14.06250	6.26885	.217	-33.4202	5.2952	
		Kelompok 4	-.32750	6.26885	1.000	-19.6852	19.0302	
		Kelompok 5	-20.26500*	6.26885	.038	-39.6227	-.9073	
		Kelompok 3	Kelompok 1	17.79000	6.26885	.079	-1.5677	37.1477
		Kelompok 2	14.06250	6.26885	.217	-5.2952	33.4202	
	Kelompok 3	Kelompok 4	13.73500	6.26885	.235	-5.6227	33.0927	
		Kelompok 5	-6.20250	6.26885	.856	-25.5602	13.1552	
		Kelompok 4	Kelompok 1	4.05500	6.26885	.965	-15.3027	23.4127
		Kelompok 2	.32750	6.26885	1.000	-19.0302	19.6852	
		Kelompok 3	-13.73500	6.26885	.235	-33.0927	5.6227	
	Kelompok 4	Kelompok 5	-19.93750*	6.26885	.042	-39.2952	-.5798	
		Kelompok 1	23.99250*	6.26885	.012	4.6348	43.3502	
		Kelompok 2	20.26500*	6.26885	.038	.9073	39.6227	
		Kelompok 3	6.20250	6.26885	.856	-13.1552	25.5602	
		Kelompok 4	19.93750*	6.26885	.042	.5798	39.2952	

*. The mean difference is significant at the .05 level.



Homogeneous Subsets

Diameter Kanalis

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Kelompok 5	4	121.7150		
Kelompok 3	4	143.8000	143.8000	
Kelompok 4	4	152.6875	152.6875	
Kelompok 2	4		171.7725	171.7725
Kelompok 1	4			199.5350
Sig.		.224	.309	.316

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Ketebalan Trabekular

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Kelompok 1	4	31.4850	
Kelompok 2	4	35.2125	
Kelompok 4	4	35.5400	
Kelompok 3	4	49.2750	49.2750
Kelompok 5	4		55.4775
Sig.		.079	.856

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.



Lampiran 3. Analisis Statistik Tekanan Intraokuli

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Kelompok 1	4		
Kelompok 2	4	15.0500	2.57876	1.28938	10.9466	19.1534	12.10	17.50
Kelompok 3	4	23.6250	1.80069	.90035	20.7597	26.4903	22.40	26.30
Kelompok 4	4	15.5250	3.05328	1.52664	10.6666	20.3834	12.90	19.90
Kelompok 5	4	24.6750	3.05764	1.52882	19.8096	29.5404	22.40	29.10
Total	20	18.7800	5.06563	1.13271	16.4092	21.1508	12.10	29.10

Test of Homogeneity of Variances

Minggu Kedua				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
.407	4	15	.801	

ANOVA

Minggu Kedua					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	387.332	4	96.833	14.493	.000
Within Groups	100.220	15	6.681		
Total	487.552	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Minggu Kedua

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2	-.02500	1.82775	1.000	-5.6690	5.6190
	Kelompok 3	-8.60000*	1.82775	.002	-14.2440	-2.9560
	Kelompok 4	-.50000	1.82775	.999	-6.1440	5.1440
	Kelompok 5	-9.65000*	1.82775	.001	-15.2940	-4.0060
Kelompok 2	Kelompok 1	.02500	1.82775	1.000	-5.6190	5.6690
	Kelompok 3	-8.57500*	1.82775	.002	-14.2190	-2.9310
	Kelompok 4	-.47500	1.82775	.999	-6.1190	5.1690
	Kelompok 5	-9.62500*	1.82775	.001	-15.2690	-3.9810
Kelompok 3	Kelompok 1	8.60000*	1.82775	.002	2.9560	14.2440
	Kelompok 2	8.57500*	1.82775	.002	2.9310	14.2190
	Kelompok 4	8.10000*	1.82775	.004	2.4560	13.7440
	Kelompok 5	-1.05000	1.82775	.977	-6.6940	4.5940
Kelompok 4	Kelompok 1	.50000	1.82775	.999	-5.1440	6.1440
	Kelompok 2	.47500	1.82775	.999	-5.1690	6.1190
	Kelompok 3	-8.10000*	1.82775	.004	-13.7440	-2.4560
	Kelompok 5	-9.15000*	1.82775	.001	-14.7940	-3.5060
Kelompok 5	Kelompok 1	9.65000*	1.82775	.001	4.0060	15.2940
	Kelompok 2	9.62500*	1.82775	.001	3.9810	15.2690
	Kelompok 3	1.05000	1.82775	.977	-4.5940	6.6940
	Kelompok 4	9.15000*	1.82775	.001	3.5060	14.7940

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Minggu Kedua

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Kelompok 1	4	15.0250	
Kelompok 2	4	15.0500	
Kelompok 4	4	15.5250	
Kelompok 3	4		23.6250
Kelompok 5	4		24.6750
Sig.		.999	.977

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Oneway

Descriptives

Minggu Keempat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kelompok 1	4	15.2000	1.37840	.68920	13.0067	17.3933	13.30	16.60
Kelompok 4	4	20.3000	1.76635	.88318	17.4893	23.1107	18.10	22.30
Kelompok 5	4	28.6500	4.03526	2.01763	22.2290	35.0710	24.20	33.50
Total	12	21.3833	6.27228	1.81065	17.3981	25.3686	13.30	33.50

Test of Homogeneity of Variances

Minggu Keempat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.632	2	9	.070

ANOVA

Minggu Keempat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	368.847	2	184.423	25.971	.000
Within Groups	63.910	9	7.101		
Total	432.757	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Minggu Keempat

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 4	-5.10000	1.88429	.057	-10.3610	.1610
	Kelompok 5	-13.45000*	1.88429	.000	-18.7110	-8.1890
Kelompok 4	Kelompok 1	5.10000	1.88429	.057	-.1610	10.3610
	Kelompok 5	-8.35000*	1.88429	.004	-13.6110	-3.0890
Kelompok 5	Kelompok 1	13.45000*	1.88429	.000	8.1890	18.7110
	Kelompok 4	8.35000*	1.88429	.004	3.0890	13.6110

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Minggu Keempat

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Kelompok 1	4	15.2000	
Kelompok 4	4	20.3000	
Kelompok 5	4		28.6500
Sig.		.057	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

