



**GAMBARAN HISTOPATOLOGI KORNEA PADA TIKUS
Rattus norvegicus GALUR WISTAR YANG DIPAJAN
BIOINSEKTISIDA *Bacillus thuringiensis kurstaki***

SKRIPSI

Oleh

**Aldi Nawaf Nurul Amin
NIM 162010101105**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**GAMBARAN HISTOPATOLOGI KORNEA PADA TIKUS
Rattus novergicus GALUR WISTAR YANG DIPAJAN
BIOINSEKTISIDA *Bacillus thuringiensis kurstaki***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

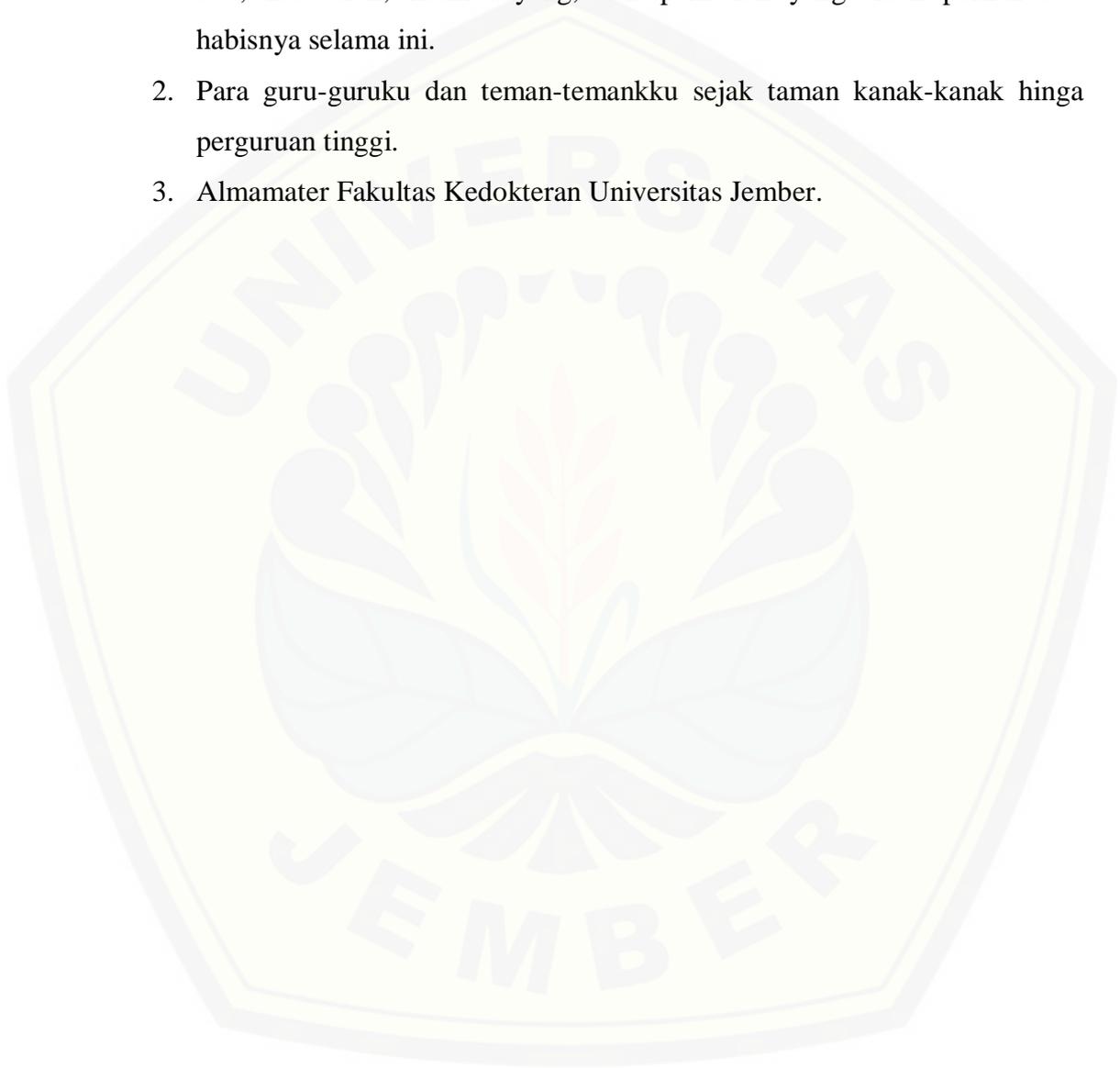
Oleh
Aldi Nawaf Nurul Amin
NIM 162010101105

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk.

1. Ayahanda Muslimin dan Ibunda Nurul Hidayah tercinta, terima kasih atas doa, kesabaran, kasih sayang, dan perhatian yang tidak pernah ada habisnya selama ini.
2. Para guru-guruku dan teman-temanku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi.
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



MOTO

“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”

(Al Insyirah, 94: 5)



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. Al Qur'an dan Terjemahannya. Jakarta: Magfirah Pustaka

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Aldi Nawaf Nurul Amin

NIM : 162010101105

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Gambaran Histopatologi Kornea pada Tikus *Rattus novergicus* Galur Wistar yang Dipajan Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis kurstaki*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar

Jember, 22 april 2020

Yang menyatakan

Aldi Nawaf Nurul Amin

NIM 162010101105

SKRIPSI

**GAMBARAN HISTOPATOLOGI KORNEA PADA TIKUS
Rattus novergicus GALUR WISTAR YANG DIPAJAN
BIOINSEKTISIDA *Bacillus thuringiensis kurstaki***

Oleh

Aldi Nawaf Nurul Amin
NIM 162010101105

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Cicah Komariah, Sp.M

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Septa Surya Wahyudi, Sp.U

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Gambaran Histopatologi Kornea pada Tikus *Rattus Novergicus* Galur Wistar yang Dipajan Bioinsektisida *Bacillus Thuringiensis Kurstaki*” telah disetujui pada:

hari, tanggal :

tempat :

Tim Penguji,

Ketua,

Anggota I,

dr. Rena Normasari, M. Biomed
NIP. 198305122008122002

dr. Yudha Nurdian, M.Kes
NIP. 197002141999031001

Anggota II,

Anggota III,

dr. Cicih Komariah, Sp.M
NIP. 197409282005012001

dr. Septa Surya Wahyudi, Sp.U
NIP. 197809222005011002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Supangat, M. Kes, Ph.D, Sp. BA
NIP. 198409162008012003

RINGKASAN

Gambaran histopatologi kornea pada tikus *Rattus norvegicus* galur wistar yang dipajan bioinsektisida *Bacillus thuringiensis kurstaki*; Aldi Nawaf Nurul Amin, 162010101105; 2020; 67 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Bioinsektisida merupakan salah satu jenis pestisida yang menggunakan mikroorganisme sebagai agen pengendali hama dan patogen. Penggunaan bioinsektisida bersifat ramah lingkungan sehingga penggunaan bioinsektisida terus meningkat. Bioinsektisida merupakan insektisida generasi baru dan sangat dianjurkan untuk digunakan dalam pengendalian hama tanaman. Mikroorganisme yang banyak digunakan dalam bioinsektisida adalah *Bacillus thuringiensis* (Bt) dengan presentasi 90-95% dari bioinsektisida yang dikomersialkan. *Bacillus thuringiensis kurstaki* (Btk) merupakan Bt yang telah digunakan secara luas untuk melindungi tanaman dari serangga Lepidoptera.

Bioinsektisida Btk dapat menyebabkan terjadinya inflamasi karena terdapat kandungan δ endotoksin dan spora dalam bioinsektisida Btk. Selain itu bioinsektisida Btk termasuk dalam bahan kimia yang berdasarkan pada pHnya yang asam sehingga dapat menyebabkan terjadinya trauma pada mata. Inflamasi kornea yang ditimbulkan akan menginduksi mediator-mediator sitokin pro-inflamasi yang berupa *Interleukin 1* (IL-1) dan *Tumor Necrosis Factor α* (TNF α). IL-1 dan TNF α akan menyebabkan pelepasan enzim proteolitik dari sel mesenkim yang akan menyebabkan perubahan struktur kornea secara histologi.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental design*. Rancangan penelitian ini ialah *post test only control group design*. Tujuan penelitian ini yaitu menganalisis gambaran histopatologi kornea tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar yang dipajan oleh bioinsektisida Btk. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 24 ekor yang dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan. Variabel bebas dalam penelitian ini ialah bioinsektisida Btk. Variabel terikat pada penelitian ini ialah gambaran histopatologi yang berupa ketebalan epitel dan deskuamasi epitel.

Adaptasi tikus dilakukan selama satu minggu. Tikus *Rattus novergicus* diinduksi larutan bioinsektisida Btk dengan konsentrasi 8g/l, 10g/l, dan 12g/l. Kelompok kontrol diinduksi normal salin. Semua kelompok tikus *Rattus novergicus* diberikan larutan sebanyak 3cc selama 2 menit. Setelah diinduksi, mata ditutup dengan plester hipafix selama 30 menit. Perlakuan dilakukan 1 kali per hari selama satu minggu. Tikus yang telah diterminasi kemudian dienukleasi untuk mendapatkan bola mata. Spesimen dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi RSD Dr. Soebandi untuk dijadikan preparat dengan pewarnaan hematoksin-eosin (HE). Pembacaan preparat dilakukan oleh dua pengamat yang telah dilatih oleh ahli patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk menghitung ketebalan epitel kornea dan deskuamasi epitel. Pengamatan preparat menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX53M dengan perbesaran 400x. Data yang diperoleh dimasukkan kedalam komputer untuk dianalisis.

Hasil pengukuran ketebalan epitel secara berurutan dari yang terendah hingga tertinggi yaitu kontrol negatif (diberikan normal saline), P1 (bioinsektisida Btk konsentrasi 8 mg/L), P2 (bioinsektisida Btk konsentrasi 10 mg/L), dan P3 (bioinsektisida Btk konsentrasi 12 mg/L). Pada kelompok perlakuan terdapat peningkatan ketebalan epitel kornea dibandingkan kelompok kontrol. Uji normalitas dengan menggunakan Saphiro-Wilk didapatkan hasil distribusi normal. Analisis data kemudian dilanjutkan dengan uji *One Way Annova* karena distribusi normal. Hasil uji *One Way Annova* didapatkan nilai $p= 0,713$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna atau signifikan ketebalan epitel kornea antar kelompoknya. Kesimpulan dari penelitian ini ialah terdapat peningkatan ketebalan epitel pada kornea mata tikus *Rattus novergicus* galur Wistar yang dipajan oleh bioinsektisida *Bacillus thuringiensis kurstaki*.

Hasil pengamatan deskuamasi epitel kornea tikus *Rattus novergicus* galur Wistar menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif terdapat 2 sampel mengalami deskuamasi epitel, kelompok P1 terdapat 4 sampel mengalami deskuamasi epitel, kelompok P2 terdapat 5 sampel mengalami deskuamasi epitel, dan kelompok P3 terdapat 5 sampel mengalami deskuamasi epitel. Hasil pengamatan deskuamasi epitel kornea menunjukkan bahwa kelompok perlakuan

yang diberikan bioinsektisida Btk mengalami rerata deskuamasi epitel kornea lebih banyak pada kelompoknya. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu terjadi deskuamasi epitel kornea yang telah dipajan oleh bioinsektisida Btk.



PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT karena atas berkat rahmat dan kuasa-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Gambaran Histopatologi Kornea pada Tikus *Rattus norvegicus* Galur Wistar yang Dipajan Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis kurstaki*”. Skripsi ini diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan mencapai gelar sarjana (S1) kedokteran.

Selesainya skripsi ini tidak lepas dari dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua Orangtua saya, Ayahanda Muslimin dan Ibunda Nurul Hidayah yang selalu memberikan dukungan, doa, sabar dan tidak pernah lelah mengingatkan kepada penulis;
2. dr. Supangat, M. Kes, Ph. D, Sp. BA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
3. dr. Cicih Komariah, Sp.M selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr.Septa Surya Wahyudi, Sp. U selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu dan memberikan bimbingan serta dengan ikhlas membantu disegala aspek dalam proses pengerjaan skripsi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini;
4. dr. Rena Normasari, M. Biomed dan dr Yudha Nurdian, M.Kes selaku Dosen Penguji Utama yang telah memberikan kritik dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini serta dukungan dan bimbingan dalam melakukan penelitian;
5. dr. Ali Shodikin dan dr. Ulfa Elfiah, M. Kes, Sp. BP-RE (K) selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan memberikan dukungan selama penulis menjadi mahasiswa;

6. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas bimbingan dan pengarahan selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember serta para analis dan civitas yang membantu pelaksanaan penelitian serta administrasi untuk skripsi;
7. Teman seperjuangan dalam penelitian, Ahmad Asrori Al-kamal, Fatimah Ulil Albab, Hashinatul Hurriyah, dan Siti Aminah Daeng Ndiko;
8. Para sahabat Dhiemas Trisyuananda, Adiz Dwi Putra, Shiwi Linggarjati, Virginia Viola, Nidya Husna Kholidah, Chivalery Adita Afwiliana, Bella Rizki Dayanti, Nurul Indah Saffanah, Mus'hab, Ajeng Eka Putri Widianti, Ihdhar Nur Shidqi, Erdhiansyah Adami, Prasideha Putra Hendharta, Muhammad Iqbal Fauzi, I Made Wira Putra Negara, dan Anang Dwi Atmoko yang mendukung, memberi semangat, dan membantu menyelesaikan skripsi ini;
9. Saudara-saudara TBM Vertex terutama Alfian Zulkifli, Lailatis Shofia, M Elvinsyah Zidane, Madha Q T, Nita Alfianti, Afita Novira Tsania, Ridhotullah Istaz, Syamia Banin, Laily Nurhayati dan Handayani Fatika Sri Laraswati yang mendukung, memberi semangat, dan membantu menyelesaikan skripsi ini;
10. Rekan-rekan LIGAMEN FK 2016 yang selalu memberikan semangat dan dukungan kepada penulis;
11. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis merasa penyusunan skripsi ini belum sempurna, sehingga kritik dan saran diharapkan demi kesempurnaan skripsi. Semoga skripsi yang saya susun dapat memebrikan manfaat bagi semua pihak yang membacanya.

Jember, Maret 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Anatomi Mata	4
2.2 Kornea	6
2.2.1 Anatomi Kornea	6
2.2.2 Histologi Kornea.....	6
2.2.2 Fisiologi.....	10
2.3 Bioinsektisida Bacillus thuringiensis	11
2.3.1 Definisi Bioinsektisida Bt	11
2.3.2 Morfologi	11
2.3.3 Cara Kerja Bioinsektisida Bt.....	12

2.3.4 Karakteristik Toksin	13
2.3.5 Pencegahan Kecelakaan Kerja	14
2.4 Trauma Kimia	14
2.4.1 Definisi	14
2.4.2 Epidemiologi	15
2.4.3 Etiologi	15
2.4.4 Klasifikasi	16
2.4.5 Patofisiologi	17
2.4.6 Terapi	18
2.4.7 Komplikasi	18
2.5 Histopatologi Kornea	19
2.6 Kerangka Konseptual	21
2.7 Hipotesis	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	23
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	24
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	24
3.3.1 Populasi	24
3.3.2 Sampel	24
3.3.3 Besar sampel	24
3.4 Variabel	25
3.4.1 Variabel Utama	25
3.4.2 Variabel Terkendali	25
3.5 Definisi Operasional	25
3.5.1 Bioinsektisida <i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i>	25
3.5.2 Histopatologi kornea	26
3.5.3 Tikus <i>Rattus novergicus</i> galur Wistar	26
3.6 Alat dan Bahan	26
3.6.1 Alat	26
3.6.2 Bahan	27
3.7 Prosedur Penelitian	27

3.7.1 Uji Kelayakan Etik.....	27
3.7.2 Adaptasi Hewan Coba.....	27
3.7.3 Pemilihan dan Pembagian Hewan Coba	28
3.7.4 Pembuatan Bionsektisida <i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i>	28
3.7.5 Anestesi Hewan Coba	29
3.7.6 Penginduksian Bioinsektisida Btk	29
3.7.7 Terminasi Hewan Coba.....	29
3.7.8 Pembuatan Sediaan Histopatologi Kornea.....	30
3.7.9 Pengamatan Histopatologi Kornea	30
3.8 Analisis Data	30
3.9 Alur Penelitian.....	31
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Hasil Penelitian dan Analisis Data	32
4.1.1 Hasil Pengamatan Deskuamasi Epitel Kornea	32
4.1.2 Hasil pengukuran Ketebalan Epitel Kornea	33
4.1.3 Analisis Data Statistik Deskuamasi Epitel Kornea.....	35
4.1.4 Analisis Data Statistik Ketebalan Epitel Kornea.....	36
4.2 Pembahasan	37
4.2.1 Deskuamasi Epitel Kornea	37
4.2.2 Ketebalan Epitel Kornea	39
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Pembagian kelompok tikus <i>Rattus novergicus</i> galur Wistar	28



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Anatomi Mata	4
2.2 Histologi Epitel Kornea.....	7
2.3 Histologi Membran Bowman	8
2.4 Histologi Stroma	9
2.5 Morfologi bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i>	12
2.6 Mekanisme kerja <i>Bacillus thuringiensis</i>	13
2.7 Ulkus Kornea Kelinci.....	20
2.8 Kerangka Konseptual	21
3.1 Skema Rancangan Penelitian.....	23
3.2 Alur Penelitian	31
4.1 Gambaran mikroskopis deskuamasi epitel	33
4.2 Hasil pengamatan deskuamasi lapisan epitel kornea	33
4.3 Gambaran mikroskopis lapisan epitel kornea.....	34
4.4 Hasil rerata ketebalan epitel kornea tikus <i>Rattus novergicus</i> galur wistar.	35
4.5 Hasil analisis data deskuamasi epitel kornea.....	36
4.6 Hasil analisis data ketebalan epitel kornea.....	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Pemeliharaan Hewan Uji Coba	48
3.2 Prosedur Pengindukisan Bioinsektisida Btk.....	51
3.3 Prosedur Anestesi Tikus	52
3.4 SOP Induksi Bioinsektisida Btk	54
3.5 Terminasi.....	55
3.6 pengambilan Jaringan Kornea	56
3.7 SOP Pewarnaan H&E	57
3.8 SOP Pembacaan Preparat	58
3.9 Persetujuan Etik	59
3.10 Dokumentasi Penelitian.....	61
3.11 Rekomendasi Bebas Plagiasi	63
4.1 Hasil Pengamatan Preparat.....	64
4.2 Hasil Analisis Data.....	66

BAB. 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bioinsektisida merupakan salah satu jenis pestisida yang menggunakan mikroorganisme sebagai agen pengendali hama dan patogen (Untung, 2004). Penggunaan bioinsektisida bersifat ramah lingkungan sehingga penggunaan bioinsektisida terus meningkat. Bioinsektisida merupakan insektisida generasi baru dan sangat dianjurkan untuk digunakan dalam pengendalian hama tanaman (Djojsumarto, 2008). Penggunaan selain bioinsektisida seperti pestisida kimia dapat menyebabkan resistensi terhadap hama dan merusak lingkungan karena kandungan timbal (Pb) pada tanah yang telah diberikan pestisida kimia meningkat mencapai 43.000 mg Pb/ha yang dapat mencemari tanah (Sumartini, 2016). Mikroorganisme yang banyak digunakan dalam bioinsektisida adalah *Bacillus thuringiensis* (Bt) dengan presentasi 90-95% dari bioinsektisida yang dikomersialkan (Bahagiawati, 2002). Bt merupakan bakteri gram positif berbentuk batang yang dapat menghasilkan kristal protein bersifat insektisidal karena dalam kristal tersebut mengandung protein δ endotoksin yang bersifat letal apabila dimakan oleh serangga (Bahagiawati, 2002). *Bacillus thuringiensis kurstaki* (Btk) merupakan Bt yang telah digunakan secara luas untuk melindungi tanaman dari serangga Lepidoptera. Pada tahun 1992 di Kanada melalui penelitian Noble, didapatkan dua-pertiga petani yang menggunakan bioinsektisida Bt mengalami keluhan iritatif pada mata, hidung, dan kerongkongan (Rubio-Infante dan Moreno-Fierros, 2016). Bioinsektisida Bt juga dapat menyebabkan terjadinya periorbital cellulitis dan *recurrent* konjungtivitis (Borgman, 2018; Peker *et al.*, 2010). Petani berusia 18 tahun mengalami ulkus kornea disebabkan oleh Bt dengan merk dipel (Samples dan Buettner, 1983).

Bioinsektisida Btk dapat menyebabkan terjadinya inflamasi karena terdapat kandungan δ endotoksin dan spora dalam bioinsektisida Btk. Selain itu bioinsektisida Btk termasuk dalam bahan kimia yang berdasarkan pada pHnya yang asam sehingga dapat menyebabkan terjadinya trauma pada mata. Trauma kimia pada mata merupakan salah satu kegawatdarutan medis karena dapat

menyebabkan destruksi epitel kornea hingga rusaknya mata secara menyeluruh. Trauma mata di Amerika Serikat terdapat 2.4 juta kasusnya setiap tahunnya dan seperlima dari kasus tersebut mengalami kebutaan. 7% dari trauma mata di rumah sakit Amerika Serikat disebabkan oleh trauma kimia (Novityari *et al.*, 2019).

Trauma kimia pada kornea dapat menyebabkan terjadinya inflamasi, hilangnya epitel, fibrosis stroma, edema, vaskularisasi dan kekeruhan kornea akibat enzim proteolitik (Choi *et al.*, 2017). Inflamasi kornea yang ditimbulkan akan menginduksi mediator-mediator sitokin pro-inflamasi yang berupa *Interleukin 1* (IL-1) dan *Tumor Necrosis Factor α* (TNF α). IL-1 dan TNF α akan menyebabkan pelepasan enzim proteolitik dari sel mesenkim yang akan menyebabkan perubahan struktur kornea secara histologi (Robbins *et al.*, 2007). Sejauh ini belum ada penelitian mengenai efek paparan bioinsektisida Btk pada mata secara mikroskopis terutama terhadap gambaran histopatologi berupa ketebalan epitel dan deskuamasi epitel. Oleh karena itu, peneliti melalui penelitian ini ingin mengetahui gambaran histopatologi kornea tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar yang dipajan oleh bioinsektisida Btk.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti merumuskan masalah permasalahan penelitian sebagai berikut.

1. Bagaimanakah gambaran histopatologi ketebalan epitel kornea dan deskuamasi epitel kornea mata tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar yang dipajan oleh bioinsektisida Btk?
2. Bagaimanakah peningkatan konsentrasi bioinsektisida Btk terhadap gambaran histopatologi ketebalan epitel kornea dan deskuamasi epitel kornea mata tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, beberapa tujuan penelitian ini antara lain.

1. Mengetahui gambaran histopatologi ketebalan epitel dan deskuamasi epitel kornea mata tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar yang dipajan oleh bioinsektisida Btk.
2. Mengetahui peningkatan konsentrasi bioinsektisida Btk terhadap gambaran histopatologi ketebalan epitel kornea dan deskuamasi epitel kornea mata tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar

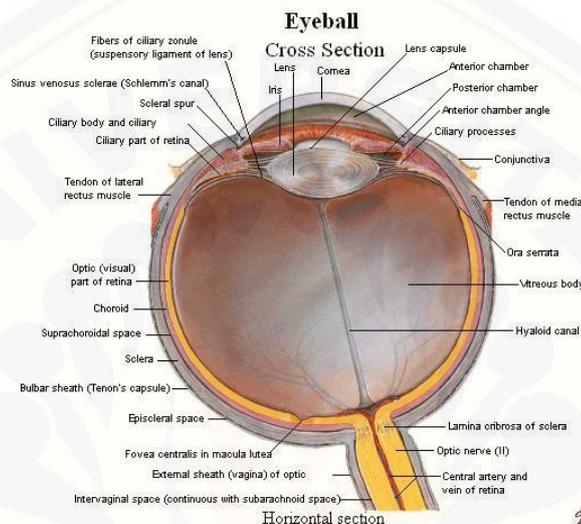
1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan penjelasan diatas, manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah memberikan informasi kepada masyarakat dan juga peneliti bagaimana gambaran histopatologi ketebalan epitel dan deskuamasi epitel kornea yang dipajan oleh bioinsektisida Btk. Sebagai bahan referensi untuk penelitian selanjutnya untuk penggunaan bioinsektisida Btk. Selain itu dapat digunakan untuk penyuluhan mengenai kesehatan dan keselamatan kerja petani.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anatomi Mata

Mata merupakan organ yang digunakan untuk mendapatkan gambaran visual. Anatomi mata dapat dilihat pada gambar 2.1. Mata memiliki struktur anatomi sebagai berikut (Riordan-Eva *et al.*, 2007).



Gambar 2.1 Anatomi mata (sumber Netter, 2017)

a. Sklera

Sklera merupakan jaringan ikat dan memberikan bentuk pada mata. Sklera adalah bagian terluar dari mata.

b. Konjungtiva

Konjungtiva merupakan membran mukosa yang transparan dan tipis. Konjungtiva terdiri atas konjungtiva bulbaris dan konjungtiva palpebralis.

c. Kornea

Kornea merupakan jaringan transparan dan avaskuler pada anterior mata dengan diameter kurang lebih 11 mm. Kornea mempunyai ketebalan 550 μm dan terdiri atas beberapa serabut saraf.

d. Pupil

Pupil berfungsi untuk menentukan seberapa banyak cahaya yang masuk ke dalam mata. Pupil terletak di antara iris pada bagian yang berwarna hitam.

Fungsi mengecil dan membesarnya pupil untuk mengatur fokus dalam penglihatan.

e. Iris

Iris dilapisi oleh pigmen sehingga membuat gambaran warna mata menjadi bervariasi. Otot pada iris berbentuk sirkuler yang berfungsi untuk mengatur jumlah cahaya yang masuk ke dalam mata dengan cara membesar dan mengecilkan pupil.

f. Lensa

Lensa memiliki bentuk bikonveks, avaskuler, tidak berwarna dan terletak antara aqueous humor dan vitreous humor. Lensa mata normal bersifat jernih dan transparan yang berfungsi sebagai media penglihatan.

g. Retina

Retina atau yang disebut dengan selaput jala berfungsi sebagai reseptor yang menerima rangsangan cahaya. Pada umumnya retina berwarna jingga. Retina memiliki beberapa lapisan yaitu lapisan fotoreseptor, membran limitan eksternal, lapisan nukleus luar, lapisan pleksiform luar, lapisan nukleus dalam, lapisan pleksiform dalam, lapisan sel ganglion, lapisan serabut saraf, dan membran limitan interna. Di dalam retina terdapat pembuluh darah percabangan dari arteri oftalmika dan arteri retina sentral yang memberikan nutrisi pada retina bagian dalam, lapisan luar retina mendapatkan nutrisi dari koroid.

h. Saraf optikus

Saraf optikus merupakan kumpulan dari serat saraf yang membawa pesan visual menuju ke otak. Saraf optikus yang berasal dari polus posterior memiliki dua jenis serabut saraf yaitu saraf penglihatan dan serabut pupilomotor.

i. *Humor aqueous*

Humor aqueous diproduksi oleh badan siliar yang berisi cairan encer dan jernih. Cairan tersebut berfungsi sebagai nutrisi untuk kornea dan lensa. *Humor aqueous* melewati pupil dan masuk ke bilik mata anterior.

j. *Humor vitreus*

Humor vitreus merupakan badan gelatin yang avaskuler dan jernih. *Humor vitreus* mengandung 99% air dan 1% kolagen dan asam hialuronat, komponen tersebut mengisi dua pertiga volume dan berat mata.

k. Limbus

Limbus merupakan pertemuan antara kornea dan sklera. Limbus memiliki mikrovaskular beserta *Humor aqueous* pada bilik anterior yang berfungsi untuk menyediakan metabolitnya sel kornea melalui difusi.

2.2 Kornea

2.2.1 Anatomi Kornea

Kornea merupakan jaringan ikat avaskuler dan transparan yang bertindak sebagai barrier mata terhadap infeksi primer. Pada orang dewasa rata-rata kornea memiliki diameter horizontal 11.5-12 mm dan 1 mm lebih besar pada diameter vertikal. Ketebalan sentral kornea yaitu 0.5 mm dan bertambah besar menuju ke arah perifer. Bentuk dan lengkungan kornea diatur oleh struktur biomekanik intrinsik dan lingkungan ekstrinsik. Rigiditas dari stroma kornea anterior menjadi bagian yang penting untuk mempertahankan kelengkungan kornea (Bergmanson, 2019).

Persarafan dari kornea berasal dari nervus trigeminus dengan saraf sensorik yang berasal dari nervus siliaris longus. Sumber nutrisi kornea berasal dari pembuluh darah limbus, aqueous humor, dan air mata. Sumber nutrisi yang didapatkan berupa oksigen dan glukosa (Delmonte dan Kim, 2011)

2.2.2 Histologi Kornea

Secara mikroskopis kornea manusia terdiri dari 5 layer yaitu 3 selluler yaitu lapisan epitel, stroma, dan lapisan endotel dan 2 *interface* yaitu membran bowman dan membran descemet (Delmonte dan Kim, 2011).

a. Lapisan epitel

Lapisan epitel kornea merupakan barrier pertama untuk lingkungan luar. Secara embriologis epitel kornea terbentuk dari ektoderm

pada usia kehamilan 5-6 minggu. Gambaran histologi lapisan epitel dapat dilihat pada gambar 2.2.. Lapisan epitel terdiri dari 5-6 lapisan sel yaitu 1-2 lapis skuamosa, 2-3 lapis *wing cells* dan satu lapis basal kolumnar. Ketebalan dari lapisan epitel yaitu 40-50 μm dan merupakan 5-10% dari ketebalan kornea. Sel epitel kornea rata-rata memiliki umur sekitar 7-10 hari, setelah melewati usianya sel epitel akan mengalami apoptosis. Sel yang mengalami apoptosis akan diganti dengan sel yang lebih dalam (Delmonte dan Kim, 2011; Sitorius, 2018).

Sel epitel kornea terdiri dari satu lapis sel basal, sel poligonal dan sel gepeng. Sel basal sering mengalami mitosis sehingga menyebabkan sel muda semakin maju kedepan menjadi sel gepeng. Sel basal berikatan dengan sel basal lainnya dan sel poligonal sebagai barrier sehingga menyebabkan terhambatnya aliran air, elektrolit dan glukosa (Ilyas, 2008).

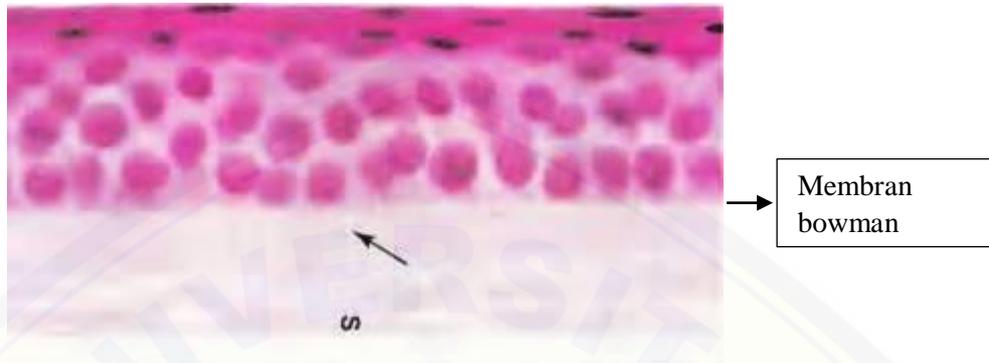


Gambar 2.2 Histologi epitel kornea (sumber: Mescher, 2011)

b. Membran Bowman

Membran bowman merupakan lapisan kedua dari kornea. Lapisan ini memiliki ketebalan 15 μm dan merupakan lapisan transisi antara lapisan epitel dan stroma. Gambaran histologi membran bowman dapat dilihat pada Gambar 2.3. Membran bowman memiliki susunan yang padat dan tersusun dari serat kolagen secara acak sehingga berfungsi membantu kornea untuk menjaga bentuknya. Membran bowman tidak memiliki sifat regenerasi seperti lapisan epitel sehingga apabila terjadi trauma akan menimbulkan scar atau jaringan parut. Walaupun tidak memiliki sifat regenerasi, membran bowman tahan terhadap kerusakan akibat infeksi dan penetrasi benda. Membran bowman bersifat aseluler dan tersusun dari serat kolagen sehingga membran bowman mencegah lapisan

keratosit stroma kornea terpapar *growth factor* yang dikeluarkan oleh sel epitel (Delmonte dan Kim, 2011; Komai dan Ushiki, 1991; Remington, 2012).



Gambar 2.3 Histologi membran bowman berada di antara lapisan epitel dan stroma (sumber: Mescher, 2011)

c. Stroma

Stroma merupakan lapisan ketiga dari kornea dan memiliki ketebalan yang paling besar yaitu 80-90% dari ketebalan kornea seperti pada Gambar 2.4. Ketebalan dari stroma yaitu 500 μ m. Pembentukan stroma kornea terjadi pada minggu ketujuh kehamilan setelah pembentukan endotel. Stroma terdiri dari matriks ekstraseluler, keratosit dan jaringan saraf. Serat kolagen memiliki diameter 25-35nm dan susunannya paralel membentuk ikatan yang disebut dengan lamela. Stroma kornea tersusun dari 200-250 lapisan lamela yang berbeda. Pada permukaan, kolagen terlihat seperti anyaman yang teratur dan bagian perifer serat kolagen memiliki bentuk cabang. Kolagen terbanyak stroma adalah kolagen tipe III. Regenerasi serat kolagen pada kornea membutuhkan waktu sekitar 15 bulan. Stroma memiliki proteinase inhibitor yang berperan dalam mencegah kerusakan kornea saat inflamasi, ulkus, dan penyembuhan luka. Keratosit merupakan fibroblas yang berada di antara lamela. Keratosit mengekspresikan matriks metaloprotease (MMP), kolagen, glikosaminoglikan (GAG), dan kristalin yang penting dalam proses homeostatis dan penyembuhan luka pada stroma. (Delmonte dan Kim, 2011; Remington, 2012; Müller *et al.*, 2001).



Gambar 2.4 Histologi stroma (Sumber: Mescher, 2011)

d. Membran Descemet

Membran descemet merupakan membran yang aseluler dan memiliki sifat yang elastik. Membran descemet memiliki ketebalan 40 μm dan berkembang seumur hidup. Membran descemet memiliki resistensi yang tinggi terhadap trauma dan proses patologik lainnya dibandingkan dengan bagian-bagian kornea yang lain, tipis dan lentur. Membran descemet terdiri dari kolagen tipe IV. Membran descemet terdiri dari 2 lamina yaitu lamina anterior dan lamina posterior. Pada Lamina anterior memiliki ketebalan 3 μm yang memiliki bentuk pita dan merupakan serat kolagen yang dihasilkan selama perkembangan embrio. Sedangkan lamina posterior tidak berbentuk pita dan sifatnya lebih homogen. Lamina posterior merupakan bagian yang dikeluarkan oleh lapisan endotel sepanjang hidup (Ilyas, 2008; Johnson *et al.*, 1982)

e. Lapisan endotel

Lapisan endotel merupakan lapisan terakhir dari kornea yang berbentuk heksagonal dan terdiri dari sel poligonal yang memiliki diameter 20 μm . Lapisan endotel memiliki fungsi yaitu mempertahankan kejernihan dari kornea dan sebagai barier permeabilitas antara *humor aqueous* dan stroma. Selain itu endotel berfungsi sebagai pompa untuk mempertahankan kornea dalam keadaan dehidrasi relatif (deturgens) dengan adanya tekanan hidrostatik negatif dipertahankan oleh pompa

bikarbonat. Sumber oksigen yang berfungsi untuk mempertahankan fungsi pompa berasal dari *humor aqueous*. Endotel berasal dari mesotelium dan memiliki monolayer yang berbentuk seperti sarang lebah dari posterior. Lapisan endotel tidak dapat melakukan mitosis atau regenerasi tetapi memiliki kepadatan sel yang padat yaitu sekitar 3500 sel/mm² saat lahir. Jumlah sel dari lapisan endotel akan terus menurun seiring bertambahnya usia yaitu sekitar 0.6 % pertahunnya. Selain faktor usia, jumlah sel akan terus berkurang jika mengalami inflamasi, trauma, dan penyakit lainnya. Walaupun sel endotel tidak dapat melakukan regenerasi atau mitosis, sel endotel memiliki kemampuan untuk meregang yang akan mengisi sel endotel yang telah mengalami degenerasi. Seiringnya berkurangnya jumlah sel, hal ini akan memberikan dampak pada regulasi cairan pada lapisan endotel (Delmonte dan Kim, 2011; Remington, 2012).

2.2.3 Fisiologi

Kornea merupakan selaput bening mata yang tembus cahaya dan pelindung untuk iris, lensa dan bagian mata lainnya yang berada lebih dalam. Kornea dapat ditembus cahaya karena strukturnya yang uniform, avaskuler, dan deturgesens. Kornea terdiri dari 5 lapisan yaitu lapisan epitel, stroma, lapisan endotel, membran bowman, dan membran descemet. Lapisan epitel dilapisi oleh *tear film* yang berfungsi untuk melindungi dari invasi mikroba, zat kimia, zat toksik, dan benda asing yang merusak (Delmonte dan Kim, 2011).

Stroma kornea memiliki struktur kolagen yang transparan yang tersusun dari serat-serat stroma dan matriks ekstraseluller. Pada matriks ekstraseluller banyak ditemukan keratosit yang merupakan sel terbanyak di kornea. Keratosit berperan dalam menjaga homeostasis stroma melalui sintesis maktriks metalloprotease (Delmonte dan Kim, 2011).

Lapisan endotel berfungsi untuk menjaga kejernihan kornea dengan menjaga keadaan deturgensi relative. Terdapat banyak pompa Na⁺, K⁺ ATP ase pada lapisan endotel untuk menjaga keadaan tersebut. Keadaan dehidrasi diperantarai oleh adanya pompa sebagai jalan keluarnya cairan dari stroma kornea

melewati gradient osmotik dari hipoosmotik stroma melewati hipertonic *aqueous humor*. Kerusakan lapisan endotel menyebabkan kerusakan yang lebih berat daripada lapisan epitel karena pada kerusakan endotel mengakibatkan terjadinya edema dan hilangnya sifat transparan dari kornea. Sebaliknya, pada kerusakan epitel hanya menyebabkan edema stroma kornea lokal sesaat yang akan meghilang bila sel-sel epitel telah beregenerasi (Delmonte dan Kim, 2011).

Penetrasi obat menuju ke dalam kornea bersifat bifasik. Substansi yang larut dalam lemak dapat melalui epitel dan substansi yang larut dalam air dapat melalui stroma. Untuk dapat melalui kornea maka substansi tersebut harus larut dalam lemak dan air.

2.3 Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis kurstaki*

2.3.1 Definisi Bioinsektisida Bt

Bacillus thuringiensis memiliki bentuk batang dan gram positif. Bt merupakan bakteri yang dapat menghasilkan kristal protein ketika mengalami sporulasi. δ endotoksin merupakan kristal protein yang dihasilkan oleh Bt yang bersifat insektisidal. δ endotoksin yang dihasilkan dapat membunuh serangga dari golongan Lepidoptera, Diptera dan Koleoptera (Schnepf *et al.*, 1998). Btk merupakan subspecies yang banyak digunakan dan dikomersialkan dari bioinsektisida Bt.

Bioinsektisida Bt sangat banyak digunakan di berbagai negara dan dikomersialkan pada tahun 1995/1996. Penggunaan Bioinsektisida Bt meningkat dari tahun ke tahun. Penggunaan bioinsektisida Bt pada tanaman kapas tahun 1996 di USA yaitu 0.73 ha. Pada tahun 1996-2003 penggunaan bioinsektisida meningkat menjadi 23.3 juta ha. Bioinsektida Bt sudah digunakan di kawasan asia termasuk Indonesia (Bahagiawati, 2002).

2.3.2 Morfologi

Bacillus thuringiensis adalah bakteri gram positif, berbentuk batang, dan memiliki flagel. Spora Bt memiliki bentuk oval, berwarna terang dan memiliki

dimensi 1.0 – 1.3 μm . gambar morfologi *Bacillus thuringiensis* dapat dilihat pada Gambar 2.5. Btk memiliki taksonomi yaitu (Ibrahim *et al.*, 2010).

Kingdom	<i>eubacteria</i>
Divisi	<i>bakteria</i>
Kelas	<i>schizomycetes</i>
Ordo	<i>eubacteriales</i>
Family	<i>bacillaceae</i>
Genus	<i>Bacillus</i>
Spesies	<i>Bacillus thuringiensis.</i>
Subspesies	<i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i>

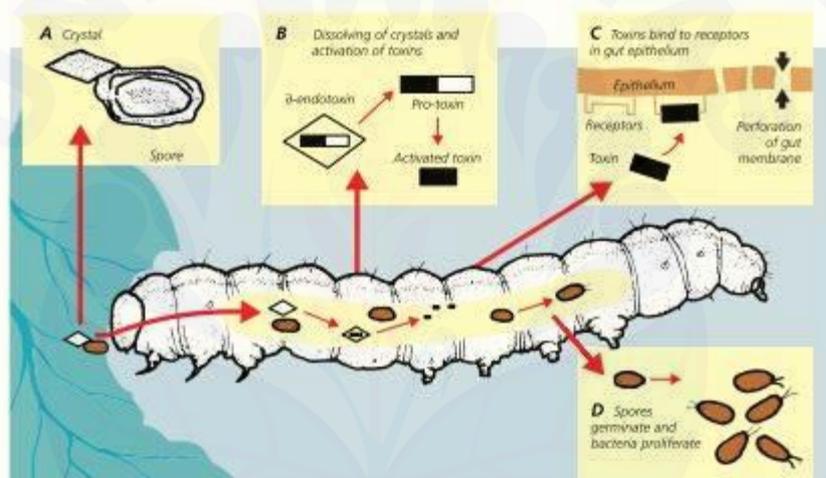


Gambar 2.5 Morfologi bakteri *Bacillus thuringiensis* (Holt, *et al.*, 1994)

2.3.3 Cara kerja Bioinsektisida Bt

Bioinsektisida Bt merupakan bioinsektisida yang telah banyak digunakan dengan presentasi 90-95% bioinsektisida yang telah dikomersialkan. Bioinsektisida Bt yang telah dilarutkan memiliki pH asam yaitu 4. Kandungan dalam bioinsektisida Bt terdiri dari spora, δ endotoksin dan bahan pembawa lainnya. Bioinsektisida Bt memiliki kristal protein yang berupa δ -endotoksin dan kristal protein ini memiliki sifat letal untuk serangga tertentu. Gambar mekanisme kerja dari bioinsektisida Bt dapat dilihat pada Gambar 2.6. Kristal protein bekerja dalam keadaan pH basa. Ketika kristal protein bioinsektisida Bt yang merupakan

toksin dimakan oleh serangga dan masuk ke dalam usus. kristal protein berubah menjadi polipeptida yang lebih pendek (27-149 kd) yang bersifat insektisidal. Faktor utama yang menyebabkan Kristal potein aktif yaitu terdapat perbedaan pH di *midgut* karena pH dalam *midgut* serangga memiliki pH basa. Kristal protein yang telah masuk kedalam sistem pencernaan serangga berinteraksi dengan sel-sel lapisan epitel di *midgut* serangga yang menyebabkan terbentuknya lubang kecil di membran saluran pencernaan. Terbentuknya lubang di membran saluran pencernaan mengganggu keseimbangan osmotik dari sel-sel tersebut. Sel-sel yang mengalami gangguan keseimbangan osmotik menjadi edema dan menyebabkan serangga menjadi mati (Bahagiawati, 2002; Wibowo, 2017. Melo *et al.*, 2014).



Gambar 2.6 Mekanisme kerja *Bacillus thuringiensis* (World Health Organization, 1999)

2.3.4 Karakteristik Toksin

Efektifitas dari toksin Bt dipengaruhi oleh kelarutan, afinitas terhadap reseptor yang ada, serta pemecahan proteolitik ke dalam toksin. Selain itu faktor spesifikasi dari mikroorganisme dan kerentanan dari serangga sasaran juga diperhitungkan. Gen Cry (Crystal) merupakan gen yang mengkode kristal protein yang dihasilkan oleh bakteri Bt. Gen Cry adalah paraspora yang mengandung kristal protein dari Bt yang bersifat toksik terhadap organisme sasaran. Gen Cry terbagi menjadi 4 kelompok yaitu Cry I, Cry II, Cry III dan Cry IV yang terbagi berdasarkan kesamaan struktur asam amino dan aktifitas insektisidanya. Masing-

masing jenis gen tersebut dapat menentukan sifat toksik kristal protein yang spesifik terhadap larva (Bahagiawati *et al.*, 2002).

2.3.5 Pencegahan Kecelakaan Kerja

Pengendalian pokok dalam pencegahan kecelakaan kerja terdiri dari 5 yaitu (Tarwaka, 2008).

a. Alat Pelindung diri

Penggunaan APD merupakan upaya pengendalian terakhir yang berfungsi untuk melindungi tenaga kerja dari potensi bahaya.

b. Pengendalian administrasi

Pengendalian administrasi merupakan cara pencegahan dengan mengurangi kandungan bahaya dengan memenuhi tata cara dan instruksi. Hal ini tergantung pada perilaku manusia untuk mencapai keberhasilan.

c. Pengendalian rekayasa

Pengendalian rekayasa merupakan perubahan struktural lingkungan kerja untuk menghambat atau bahkan menutup jalannya transisi antara bahaya dan pekerja.

d. Substitusi

Substitusi merupakan upaya menggantikan bahan, material atau proses yang berisiko tinggi dengan bahan, material, atau proses yang berisiko lebih rendah.

e. Eliminasi

Eliminasi merupakan upaya yang memiliki untuk menghilangkan bahaya secara keseluruhan

2.4 Trauma Kimia

2.4.1 Definisi

Trauma kimia pada mata merupakan trauma yang disebabkan oleh bahan yang memiliki pH basa atau asam. Bahan yang memiliki pH basa yaitu bahan yang memiliki pH >7 sedangkan pH asam yaitu bahan memiliki pH <7 . Trauma

kimia pada mata merupakan kegawatdaruratan medis yang dapat menyebabkan destruksi epitel hingga rusaknya mata secara menyeluruh (Lubis, 2014).

2.4.2 Epidemiologi

Insidensi trauma mata di seluruh dunia terdapat 55 juta kasus yang diantaranya 1.6 juta mengalami kebutaan, 2.3 juta mengalami penurunan visus bilateral dan 19 juta penurunan pada unilateral. Kejadian trauma kimia pada mata mencapai 11.5-22.1 % dari seluruh kejadian trauma mata. Trauma kimia mata dapat terjadi karena kecelakaan akibat pabrik, penggunaan bahan rumah tangga di rumah, tindakan kriminal dan penggunaan pestisida (Sharma, 2017; Novityari *et al.*, 2019).

2.4.3 Etiologi

Berdasarkan sifat dari bahan kimia yang menyebabkan terjadinya trauma kimia. Maka dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok yaitu (Lubis, 2014).

a. Alkali/basa

Bahan alkali yang dapat menyebabkan trauma kimia adalah:

1. amonia (NH_3), substansi ini dapat ditemukan pada bahan pembersih rumah tangga, zat pendingin, dan pupuk,
2. NaOH merupakan basa kuat,
3. potassium hydroxide (KOH),
4. magnesium Hydroxide ($\text{Mg}(\text{OH})_2$), substansi dapat ditemukan pada kembang api, dan
5. $\text{Ca}(\text{OH})_2$, seperti pada perekat, mortar, semen dan kapur.

b. Asam/acid

Bahan asam yang dapat menyebabkan trauma adalah:

1. asam sulfat (H_2SO_4), dapat ditemukan pada aki mobil dan bahan pembersih,
2. asam sulfit (H_2SO_3), contohnya pada pengawet sayur dan buah,

3. *hydrofluoric acid* (HF), memiliki efek seperti trauma alkali. Zat ini dapat ditemukan pada pembersih karat, pengilat aluminium, dan penggosok kaca,
4. asam asetat (CH_3COOH), contohnya seperti asam cuka, dan
5. *hydrochloric acid* (HCl) merupakan asam kuat dan ditemukan pada 31-38%. Zat ini sering ditemukan pada zat pembersih.

Bioinsektisida Btk memiliki pH 4,5 dan 8 (Valent BioSciences, 2010). Hal tersebut menyebabkan bioinsektisida Btk termasuk dalam trauma kimia asam dan basa pada mata.

2.4.4 Klasifikasi

Trauma kimia mata diklasifikasikan berdasarkan derajat keparahan yang ditimbulkan akibat bahan kimia. Klasifikasi bertujuan untuk menentukan terapi yang sesuai dengan kerusakan yang muncul serta indikasi penentuan prognosis. Klasifikasi ditetapkan berdasarkan tingkat kejernihan kornea dan keparahan iskemik limbus. Klasifikasi yang biasa digunakan untuk menilai gejala klinis dan prognosis adalah (Ilyas, 2008).

1. Klasifikasi Hughes
 - a. Ringan: Erosi epitel kornea, kornea sedikit kabur, tidak ada nekrosis iskemik konjungtiva atau sklera.
 - b. Sedang: Opasitas kornea mengaburkan detail iris, nekrosis iskemik yang minimal di konjungtiva dan sklera.
 - c. Berat: Garis pupil kabur, iskemik nekrosis konjungtiva atau sklera yang signifikan.
2. Klasifikasi Thoft
 - a. Grade 1: Kerusakan epitel kornea, tidak ada iskemik.
 - b. Grade 2: Kornea kabur, tapi iris masih bias terlihat, iskemik kecil dari 1/3 limbus.
 - c. Grade 3: Epitel kornea hilang total, stroma kabur sehingga iris juga terlihat kabur, iskemik sepertiga sampai setengah limbus.
 - d. Grade 4: Kornea opak, iskemik lebih dari setengah limbus.

2.4.5 Patofisiologi

a. Trauma basa

Trauma basa disebabkan oleh substansi yang memiliki pH di atas 7. Substansi basa lipofilik sehingga penetrasi pada mata akan lebih cepat. Trauma basa akan berdisosiasi dengan ion hidroksil (OH⁻) dan kation. Ion hidroksil bekerja dengan mensaponifikasikan komponen asam lemak dari membran sel dengan merusak sel tersebut. Sel yang rusak akan mensekresikan enzim proteolitik sebagai respon dari inflamasi. Hal ini menyebabkan kersakan yang lebih yang disebut dengan *liquefactive necrosis*. Kation akan berinteraksi dengan kolagen stroma dan glikosaminoglikan. Hidrasi kolagen menyebabkan distorsi dan pemendekan pada fibril sehingga meningkatkan tekanan intraokular. Hidrasi dari glikosaminoglikans menyebabkan berkurangnya kejernihan dari kornea. Sehingga trauma basa merupakan suatu kegawatdaruratan pada mata yang dapat menimbulkan kebutaan (James, 2003).

b. Trauma asam

Trauma asam disebabkan oleh substansi yang memiliki pH di bawah 7. Trauma asam akan berdisosiasi dengan ion hidrogen dan anion dalam kornea. Ion hidrogen bekerja dengan merusak permukaan okular dengan cara mengubah pH dan anion bekerja dengan cara denaturasi protein, presipitasi dan koagulasi. Trauma asam ditemukan bentukan *ground glass apperance* pada stroma karena terjadi koagulasi protein untuk mencegah penetrasi yang lebih dalam dari trauma asam. Trauma asam memiliki efek yang lebih ringan daripada trauma basa. Kecuali pada asam hidroklorida memiliki kemampuan penetrasi lebih kuat pada stroma dibandingkan substansi asam lainnya sehingga menyebabkan disrupsi ekstensif pada anterior segmen bola mata. Trauma yang ditimbulkan sama seperti dengan trauma basa (Lubis, 2014; Bates dan Zanabobi, 2019).

c. Trauma Bioinsektisida Btk

Bioinsektisida Bt merupakan bioinsektisida yang banyak digunakan dengan presentasi 90-95% yang telah dikomersialkan. Terdapat

banyak subspecies dari Bt dan salah satu dari subspecies yang banyak digunakan adalah Btk. Bioinsektisida Btk yang sudah dilarutkan dengan air memiliki pH 4,5 dan 8 (Valent BioSciences, 2010). PH 4 yang merupakan pH asam dapat menimbulkan terjadinya trauma kimia asam pada mata. Trauma kimia asam yang disebabkan oleh Btk akan berdisosiasi dengan ion hidrogen dan ion anion. Ion hidrogen bekerja dengan merusak permukaan okular dengan cara mengubah pH sedangkan anion bekerja dengan cara denaturasi protein, presipitasi dan koagulasi. Karena anion menyebabkan terjadinya koagulasi protein, peneterasi yang lebih dalam dari trauma asam tidak terjadi. Sehingga trauma kimia asam bioinsektisida Btk hanya akan menyebabkan kerusakan pada lapisan epitel kornea.

2.4.6 Terapi

Setelah mata terpapar akibat trauma bahan kimia, mata harus segera diterapi sebagai kedaruratan mata. Terapi awal dari bahan kimia dengan dilakukan irigasi menggunakan normal saline isotonik pada permukaan kornea termasuk forniks konjungtiva. Irigasi dilakukan hingga mencapai pH fisiologis mata. pH permukaan mata diperiksa dengan menggunakan kertas indikator di forniks, apabila pH tidak mencapai antara 7.3 dan 7.7 maka dilakukan irigasi kembali. Analgesik, anestesi topikal dan siklopegik dapat diberikan ketika melakukan irigasi. Untuk mengeluarkan benda asing dari forniks dapat menggunakan aplikator berujung kapas yang basah. Setelah mata mencapai pH fisiologis dapat diberikan salep antibiotik dan pembalut tekan (Vaughan *et al.*, 1995).

2.4.7 Komplikasi

Komplikasi yang dapat terjadi pada kasus trauma kimia pada mata bergantung pada jenis dan berat ringannya trauma antara lain (Drake *et al.*, 2012).

- a. Simblefaron merupakan adhesi yang terjadi antara konjungtiva palpebra dan konjungtiva bulbi. Gejala yang terjadi yaitu gerak mata terganggu, diplopia, lagofthalmus, sehingga kornea dan penglihatan terganggu.

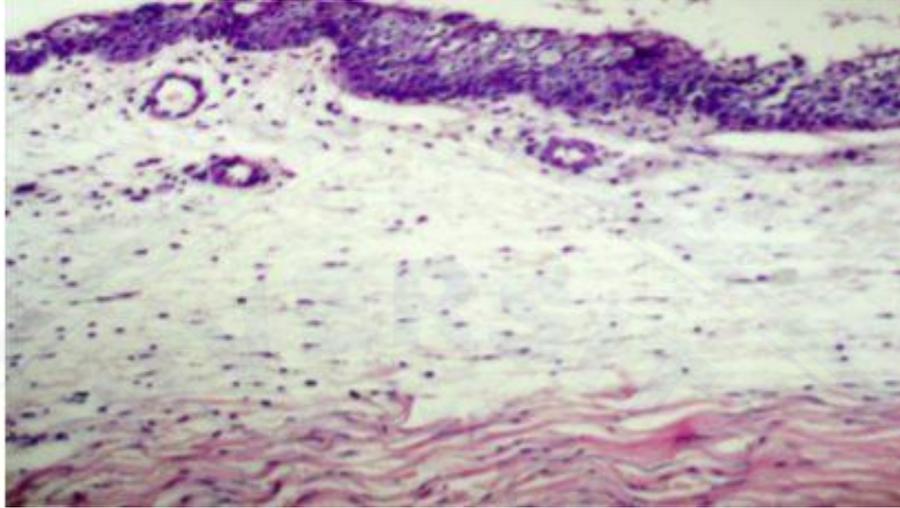
- b. Edema, kornea keruh, neovaskularisasi akibat adanya denaturasi protein dan kerusakan pada struktur kornea akibat zat kimia.
- c. *Dry eye syndrome*.
- d. Katarak traumatik, trauma basa dapat menyebabkan terjadinya katarak karena trauma basa menyebabkan terjadinya saponifikasi dan penetrasi yang dalam. Sedangkan trauma kimia asam lebih sulit untuk masuk ke bagian dalam mata maka jarang terjadi katarak traumatik.
- e. Glaukoma sudut tertutup.
- f. Entropion dan phthisis bulbi. Keadaan ini terjadi akibat paparan jangka panjang pada trauma kimia.

2.5 Histopatologi Kornea

Inflamasi pada kornea dapat terjadi karena infeksi, terdapat bahan asing, trauma fisik dan trauma kimia. Ketika inflamasi terjadi maka akan menginduksi mediator inflamasi seperti TNF α dan IL-1. TNF α dan IL-1 memiliki peran yang penting dalam patofisiologi dari trauma kimia (Gupta, 2013). Produksi IL-1 dan TNF α secara berlebihan dapat menyebabkan kerusakan jaringan pada kornea secara histologi. TNF α yang diproduksi dalam jangka panjang dapat mengakibatkan rusaknya jaringan. TNF α juga merupakan salah satu faktor angiogenesis yang menyebabkan pembentukan pembuluh darah baru dan bisa berfungsi sebagai faktor pertumbuhan fibroblas (FGF) yang mengakibatkan pembentukan jaringan ikat.

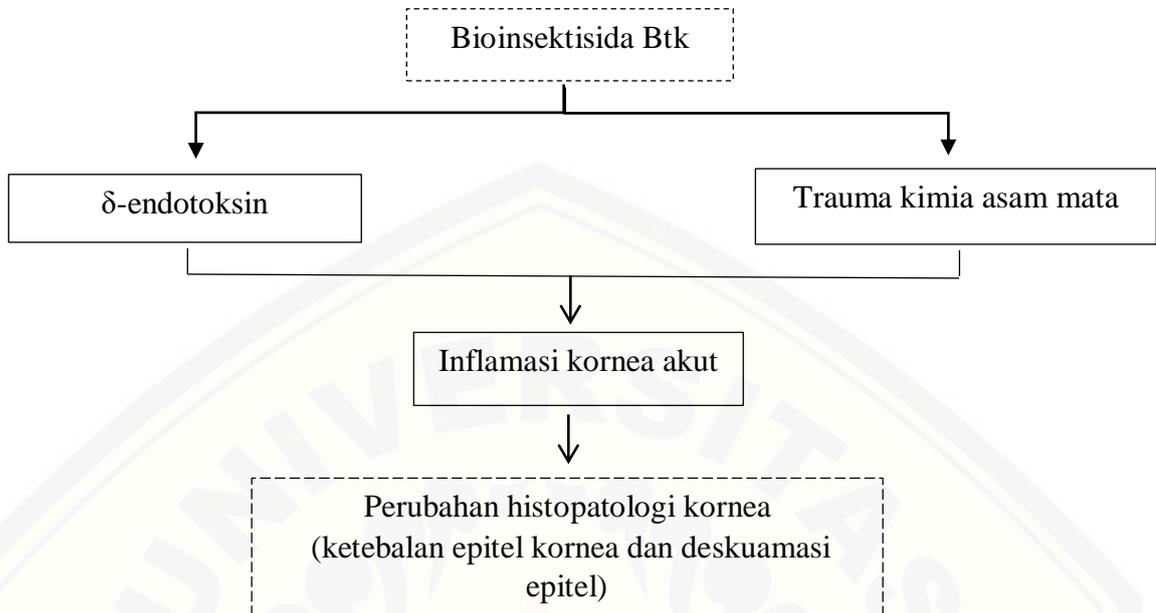
Pada penelitian Aldebasi (2012), perbandingan kondisi patologis pada kornea untuk mengetahui efek penyembuhan antimikroba secara natural dan buatan pada ulkus kornea mata kelinci dilakukan dengan cara pengamatan secara histopatologi dengan pewarnaan hematoxilin dan eosin (HE). Pada penelitian tersebut, kondisi patologis yang dapat ditemukan pada mata kelinci yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* ialah degenerasi vakuola pada epitel kornea. Pada jaringan sub epitel dan stroma menunjukkan edema, kongesti, dan sel leukosit polimorfonuklear (PMN). Gambaran histopatologi Ulkus kornea kelinci

akibat infeksi oleh *Staphylococcus aureus* yang pada jaringan dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Ulkus kornea kelinci akibat infeksi oleh *Staphylococcus aureus* yang Pada jaringan sub epitel dan stroma menunjukkan edema, kongesti, dan sel leukosit polimorfonuklear (PMN). Perbesaran 100x (Aldebasi *et al.*, 2012).

2.6 Kerangka Konseptual



Gambar 2.8 Kerangka konseptual

Keterangan:

- : Variabel yang tidak diteliti
 : Variabel yang diteliti
 → : Memicu

Bioinsektisida Btk memiliki kandungan spora dan δ -endotoksin yang dapat menyebabkan terjadinya inflamasi. Bioinsektisida Btk yang telah dilarutkan memiliki pH asam yaitu 4 yang dapat menyebabkan terjadinya trauma kimia pada kornea. Trauma kimia asam bekerja dengan berdisosiasi pada ion hidrogen dan anion. Hal tersebut akan menyebabkan terjadinya inflamasi hanya pada lapisan epitel kornea karena koagulasi yang disebabkan anion sehingga trauma kimia asam tidak dapat menembus lebih dalam. Secara histologi, Kornea memiliki 5 lapisan yaitu lapisan epitel, membran bowman, stroma, membran desceme, dan lapisan endotel. Trauma kimia asam dan δ -endotoksin bioinsektisida Btk mengakibatkan terjadinya inflamasi kornea akut dan menginduksi mediator-mediator inflamasi seperti IL-1 dan $\text{TNF}\alpha$. IL-1 dan $\text{TNF}\alpha$ akan menyebabkan pelepasan enzim proteolitik dari sel mesenkim yang akan menyebabkan

perubahan struktur kornea secara histologi yaitu peningkatan ketebalan epitel kornea dan deskuamasi epitel.

2.7 Hipotesis

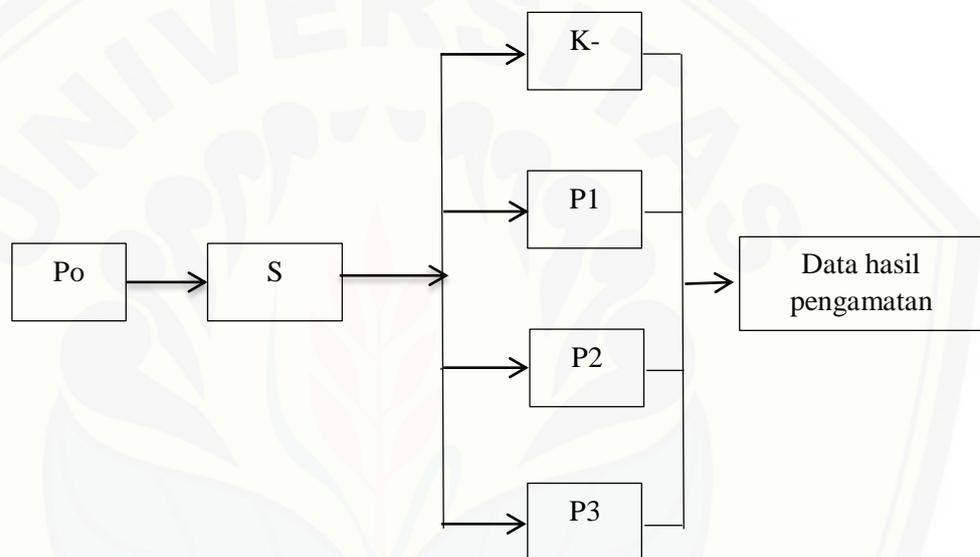
Berdasarkan rumusan masalah maka hipotesis pada penelitian ini yaitu.

1. Terjadi perubahan gambaran histopatologi kornea berupa peningkatan ketebalan epitel kornea dan deskuamasi epitel kornea mata tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar akibat pajanan oleh bioinsektisida Btk.
2. Semakin tinggi konsentrasi bioinsektisida Btk memberikan gambaran histopatologi berupa peningkatan ketebalan epitel dan deskuamasi epitel kornea mata tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental design*. Rancangan penelitian ini ialah *post test only control group design*. Secara skematis rancangan penelitian ini dapat digambarkan pada Gambar 3.1 sebagai berikut:



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

- Po : Populasi Tikus *Rattus novergicus* galur Wistar
 S : Tikus *Rattus novergicus* galur Wistar, usia 2-3 bulan, berat badan 150-250 gram, dan sehat (bergerak aktif)
 K- : Kontrol negatif (Diberikan Normal Saline selama 7 hari)
 P1 : Perlakuan 1 (Pemberian bioinsektisida Btk dengan konsentrasi 8gr/L selama 7 hari)
 P2 : Perlakuan 2 (Pemberian bioinsektisida Btk dengan konsentrasi 10gr/L selama 7 hari)
 P3 : Perlakuan 3 (Pemberian bioinsektisida Btk dengan konsentrasi 12gr/L selama 7 hari)

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas kedokteran Universitas Jember, Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember dan Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Soebandi untuk pemeliharaan, perlakuan dan pengamatan tikus *Rattus novergicus* galur Wistar. Waktu pelaksanaan penelitian adalah Januari 2020 hingga Februari 2020.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini ialah tikus *Rattus novergicus* galur Wistar sebagai hewan coba. Sampel yang digunakan yaitu tikus jantan berusia 2-3 bulan dengan berat badan 150-250 gram. Jumlah populasi yang akan digunakan berjumlah 24 ekor.

3.3.2 Sampel

Sampel dipilih dengan menggunakan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut.

Kriteria inklusi:

- a. tikus *Rattus novergicus* galur Wistar jantan,
- b. usia 2-3 bulan,
- c. berat badan 150-250 gram,
- d. sehat (bergerak aktif), dan
- e. mata sehat

Kriteria eksklusi:

- a. tikus yang mati selama perlakuan

3.3.3 Besar Sampel

Besar sampel dalam penelitian ini menggunakan *simple random sampling* yang kemudian dibagi menjadi 4 kelompok. Pengulangan atau besar sampel dalam penelitian ini dapat dihitung melalui rumus Federer sebagai berikut.

$$(T-1)(N-1) \geq 15$$

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

$$3N-3 \geq 15$$

$$N \geq 6$$

Berdasarkan hasil perhitungan rumus Federer, penelitian ini membutuhkan sebanyak 6 tikus pada masing-masing kelompoknya. Pada penelitian ini membutuhkan sebanyak 24 tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok dengan rincian 6 tikus dalam kelompoknya.

3.4 Variabel

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

3.4.1 Variabel Utama

a. Variabel Bebas (Independen)

Variabel bebas (Independen) dalam penelitian ini adalah konsentrasi bioinsektisida Btk.

b. Variabel Terikat (Dependen)

Variabel terikat (Dependen) dalam penelitian ini adalah histopatologi kornea yaitu ketebalan epitel kornea dan deskuamasi epitel kornea.

3.4.2 Variabel Terkendali

- a. Hewan coba : tikus *Rattus novergicus* galur Wistar jantan
- b. Berat badan : 150-250 gram
- c. Umur : 2-3 bulan
- d. Kondisi hewan coba : sehat

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis kurstaki*

Bioinsektisida Btk memiliki merk Dipel dari PT Nufarm Indonesia yang memiliki kadar bahan bakteri *Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki strain* ABTS-351: 54%. Konsentrasi yang dipakai dalam penelitian ini yaitu 8gr/L, 10gr/L, dan 12 gr/L. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian berdasarkan

pada uji studi pendahuluan yang telah dilakukan pada tikus *Rattus novergicus* galur Wistar. Penginduksian bioinsektisida Btk dilakukan dengan meneteskan bioinsektisida Btk sebanyak 3 mL selama 120 detik. Penetesan bioinsektisida Btk menggunakan spuit 3mL dengan konsentrasi yang telah ditentukan pada sentral kornea mata kanan tikus *Rattus novergicus* galur Wistar. Penginduksian ini dilakukan selama 7 hari.

3.5.2 Histopatologi Kornea

Histopatologi kornea merupakan gambaran lapisan epitel yang telah diinduksi oleh bioinsektisida Btk. Histopatologi kornea dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400X pada kornea tikus *Rattus novergicus* galur Wistar yang telah dilakukan pewarnaan HE di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Data histopatologi kornea yang didapatkan yaitu ketebalan lapisan epitel kornea dinyatakan dengan μm dan deskuasasi epitel kornea. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop Olympus BX53M. Data yang didapatkan dimasukkan dalam komputer dan diamati. Data ketebalan epitel kornea yang digunakan dalam penelitian ini merupakan data rasio dan data deskuasasi epitel berupa data nominal.

3.5.3 Tikus *Rattus novergicus* galur wistar

Hewan percobaan dalam penelitian yaitu tikus *Rattus novergicus* galur Wistar. Tikus (*Rattus norvegicus*) memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm. Tikus *Rattus novergicus* galur Wistar dalam penelitian ini memiliki kriteria inklusi yaitu jantan, berat 150-250 gram, usia 2-3 bulan, dan sehat. Sedangkan kriteria eksklusi yaitu tidak mati selama perlakuan dan tidak mengalami infeksi sebelum perlakuan.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu.

- a. Alat untuk perlakuan mencit adalah kandang mencit, penutup kawat, botol minum, tempat makanan, dan label makanan
- b. Alat untuk penginduksi adalah cawan petri dan gunting
- c. Alat untuk anestesi adalah spuit
- d. Alat untuk pembuatan preparat dan pengukuran adalah alat bedah (*minor set*), wadah jaringan, pewarnaan Hematoxilin-eosin (HE), rak pengecatan, pipet pastour, tisu, kasa, *cover glass*, *object glass*, *staining jar*, Mikroskop BX53M.

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu.

- a. Bahan untuk perlakuan mencit adalah pellet standart, air minum dan sekam.
- b. Bahan dalam penginduksi adalah kertas saring dan bioinsektisida *Bacillus thuringiensis kurstaki*.
- c. Bahan yang digunakan dalam anestesi dan terminasi adalah *ketamine* dengan dosis 75-100 mg/KgBB.
- d. Bahan dalam pengecatan Hematoksilin-eosin yaitu xylol, alkohol, *aquadest*, cat hematoksilin, larutan HCl, cat eosin, litium karbonat 0.5%.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Uji Kelayakan Etik

Subjek dalam penelitian ini adalah tikus *Rattus novergicus* galur Wistar yang dalam pelaksanaannya telah mendapatkan sertifikasi kelayakan etik dari Komisi Etik Fakultas kedokteran Universitas Jember. Prosedur ini dilakukan untuk menjamin keamanan bagi peneliti dan hewan coba selama dalam penelitian.

3.7.2 Adaptasi Hewan Coba

Tikus *Rattus novergicus* galur Wistar diadaptasikan selama 7 hari di kandang untuk mengurangi resiko stress dan kematian tikus. Selama masa adaptasi tikus diberikan pakan berupa pellet yang diberikan setiap hari dan air

yang diganti dan dibersihkan setiap dua hari sekali. Satu kandang tikus didapatkan 5-6 tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar.

3.7.3 Pemilihan dan Pembagian Hewan Coba

Jumlah hewan coba yang digunakan ialah 24 ekor tikus *Rattus norvegicus* yang kemudian dibagi menjadi 4 kelompok secara randomisasi sederhana sesuai kriteria inklusi dan eksklusi. Tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kriteria sehat, berumur 10-12 minggu bulan, dan memiliki berat badan 150-250 gram. Tikus yang berumur kurang lebih 3 bulan memiliki fisiologis yang dapat disetarakan dengan kondisi orang dewasa. Tikus dalam penelitian ini berjenis kelamin jantan karena tidak dipengaruhi hormonal, tidak terganggu kehamilan dan relatif lebih kuat.

Tabel 3.1 Pembagian kelompok mencit

Nama Kelompok	Perlakuan yang diberikan
Kontrol negatif (K(-))	Diberikan normal saline selama 7 hari
Perlakuan 1 (P1)	Pemberian bioinsektisida Bt dengan konsentrasi 8gr/L selama 7 hari
Perlakuan 2 (P2)	Pemberian bioinsektisida Bt dengan konsentrasi 10gr/L selama 7 hari
Perlakuan 3 (P3)	Pemberian bioinsektisida Bt dengan konsentrasi 12gr/L selama 7 hari

3.7.4 Pembuatan Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis kurstaki*

Bioinsektisida Btk dilarutkan dengan air dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Bioinsektisida yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bioinsektisida Btk. Larutan bioinsektisida Btk dibuat di Laboratorium farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pembuatan larutan bioinsektisida Btk dilarutkan dalam konsentrasi yang berbeda yaitu 8 gr/L dengan mencampurkan 0.16 mg bioinsektisida Btk dalam 20 mL air, 10gr/L dengan mencampurkan 0.2 mg bioinsektisida Btk dalam 20 mL air dan mencampurkan 0.24 mg dalam 20 mL air untuk mendapatkan konsentrasi 12 gr/L. Setelah larutan yang dibuat dengan konsentrasi yang telah ditentukan, larutan dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*.

3.7.5 Anestesi Hewan Coba

Tikus dianestesi dengan ketamine secara intraperitoneal dengan dosis 75-100 mg/Kg BB hingga mencapai stage operasi. Pada stage operasi terjadi hilangnya rasa nyeri.

3.7.6 Penginduksian Bioinsektisida Btk

Tikus *Rattus novergicus* galur Wistar yang telah diadaptasi dan dianestesi, Penginduksian bioinsektisida Btk dilakukan dengan meneteskan bioinsektisida Btk sebanyak 3 mL selama 120 detik. Penetasan bioinsektisida Btk menggunakan spuit 3 ml dengan konsentrasi yang telah ditentukan pada sentral kornea mata kanan tikus *Rattus novergicus* galur Wistar. Setelah bioinsektisida Btk diteteskan pada sentral mata, mata tikus ditutup menggunakan plester hipafix selama 30 menit. Penginduksian dilakukan 1 kali perhari selama 7 hari.

3.7.7 Terminasi Hewan Coba

Setelah penginduksian bioinsektisida Btk, dilakukan terminasi pada hewan coba yang telah diberikan perlakuan. Terminasi tersebut dilakukan pada hari ke 7 setelah perlakuan. Tikus diterminasi dengan menggunakan metode *cervical dislocation*. Metode ini dilakukan dengan cara ibu jari dan jari telunjuk ditempatkan di kedua sisi leher di dasar tengkorak, sedangkan tangan lainnya menarik pangkal ekor atau kaki belakang sehingga menyebabkan pemisahan antar tulang leher dan tengkorak (Leary, 2013). Setelah diterminasi, mata tikus dienukleasi dan diambil jaringan korneanya dengan melakukan sayatan melingkari palpebra dimulai dari tepi kantung lateralis. Sayatan melingkar dilanjutkan dengan menyayat *M. Orbicularis oculi* yang memiliki serabut melingkari palpebra superior dan inferior. Selanjutnya, peneliti menusuk bagian limbus dan menyayat melingkar. Setelah itu, jaringan dibersihkan hingga didapatkan jaringan kornea berupa selaput bening.

3.7.8 Pembuatan Sediaan Histopatologi Kornea

Jaringan kornea tikus *Rattus novergicus* galur Wistar diambil dan difiksasi dalam 10% *buffer normal saline*. Jaringan kornea yang telah difiksasi dibawa menuju Laboratorium Patologi Anatomi, RS Dr Soebandi, Jember. Pewarnaan Hematoksilin-eosin (HE) dilakukan terhadap jaringan kornea yang akan dijadikan preparat histologi.

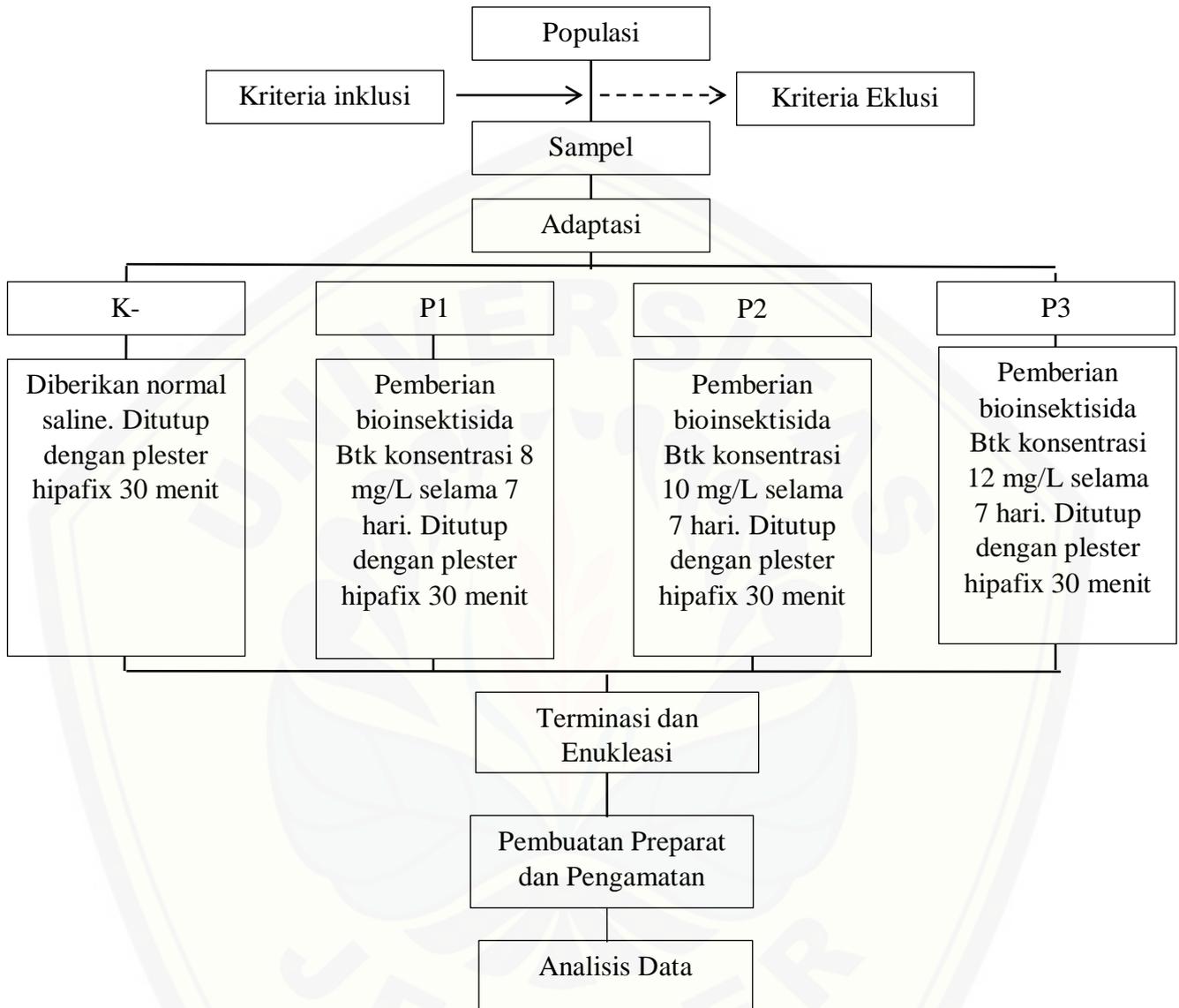
3.7.9 Pengamatan Histopatologi Kornea

Pengamatan kornea dilakukan menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX53M pada perbesaran 400x. Data yang diambil dari mikroskop cahaya Olympus BX53M di masukan dalam komputer dan diamati ketebalan epitel kornea dan deskuamasi epitel. Pengamatan deskuamasi epitel kornea menggunakan metode *double blending*. Gambar jaringan kornea yang telah didapatkan dianalisa di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran dan Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk diamati perubahan ketebalan lapisan epitel kornea dan deskuamasi epitel kornea.

3.8 Analisis Data

Data ketebalan epitel yang terkumpul dianalisis untuk mengetahui hubungan antara variabel dengan aplikasi statistik SPSS 24. Untuk menguji data dalam penelitian ini terdistribusi normal atau tidak digunakan uji normalitas dengan uji *Saphiro wilk* karena jumlah sampel dalam penelitian ini $n < 50$. Jika hasil data yang diperoleh memiliki distribusi normal yaitu $p > 0.05$ maka dilanjutkan dengan uji One Way Anova. Uji Kruskal Wallis jika distribusi data tidak normal. Sedangkan untuk data deskuamasi epitel kornea dianalisis menggunakan *Chi Square*.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian yaitu.

1. Terjadi perubahan histopatologi kornea berupa peningkatan ketebalan epitel kornea dan deskuamasi epitel pada tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar yang dipajan oleh Bioinsektisida Btk.
2. Semakin tinggi konsentrasi bioinsektisida Btk memberikan gambaran histopatologi berupa peningkatan ketebalan epitel dan deskuamasi epitel kornea mata tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan peneliti dari penelitian antara lain sebagai berikut.

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui tentang bahan aktif, bahan adjuvan, dan komponen lainnya pada produk bioinsektisida Btk. Selain itu, dapat juga dilakukan penelitian dengan bioinsektisida lain yang lebih jelas komposisinya.
2. Dilakukan penelitian dengan metode induksi yang sama dengan memperpanjang lama, frekuensi paparan, dan meningkatkan konsentrasi bioinsektisida Btk. Penelitian lanjutan dengan metode yang berbeda juga diperlukan untuk memperoleh reaksi inflamasi yang lebih optimal seperti penggunaan dosis berpangkat (1 g/L, 10 g/L, 100 g/L, dan seterusnya). Selain itu dapat menggunakan hewan uji yang lainnya agar mendapatkan preparat yang lebih baik.
3. Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang gambaran histopatologi kornea pada seluruh lapisan kornea untuk mengetahui efek pajanan secara menyeluruh.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal VB, Tsai RJ. 2003. *Corneal epithelial wound healing*. Indian J Ophthalmol. 51: 5-15.
- Aldebasi, Y. H., Nouh W. G., Atti N. M. A., Salem-Bekhti M. M., Qureshi M. A., dan Aly S. M. 2012. Comparative Pathological Studies on the Healing Effect of Natural (*Terfezia claveryi*) and Synthetic (Vigamox) Antimicrobials on Corneal Ulcers in Rabbit. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2(6): 66-77.
- American Academy of Ophthalmology. 2013. *Corneal Edema and Opacification*. San Frasisco: American Academy of Ophthalmology.
- Bahagiawati. 2002. Penggunaan Bacillus Thuringiensis Sebagai Bioinsektisida. *Buletin Agrobio*. 5(1): 21-28.
- Bahagiawati. Satyawan, D dan Sutrisno. 2002. Metode PCR Sederhana Untuk Menapis Isolat Bacillus thuringiensis yang Membawa Gen Cry V. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 7(2): 35-38.
- Bates, A. dan Zanaboni, A. 2019. Ocular Burns. *Statpearls*. 57(5):303-311
- Bergmanson, J. P. G. 2018. *Anatomy and Physiology of the Cornea and Related Structures*. Amsterdam: Elsevier.
- Borgman, C. J. 2017. Recurrent Conjunctivitis Secondary to Gram-positive Bacillus , Bacillus thuringiensis. *Clinical and Experimental Optometry*. 101(4):594-595
- Choi, H., C. Phillips, J. Y. Oh, E. M. Stock, D. K. Kim, J. K. Won, dan S. Fulcher. 2017. Comprehensive Modeling of Corneal Alkali Injury in the Rat Eye. *Current Eye Research*. 42(10) : 1348-1357.
- Dahlan, M. S. 2013. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan; Deskriptif, Bivariat, Dan Multivariat*. Jakarta: Salemba Medika.
- DelMonte, D. W. dan Kim, T. 2011. Anatomy and physiology of the cornea. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 37(3):588-598.
- Djojosumarto, P. 2008. *Pestisida dan Aplikasinya*. Yogyakarta: Agromedia Pustaka.
- Drake, B., R. Paterson, G. Tabin, F. K. Butler, dan T, Cushing. 2012. Wilderness Medical Society Practice Guidelines for Treatment of Eye Injuries and Illness in the Wilderness. *Wilderness & Enviromental Medicine*. 23(4): 325-336.
- Effendi, Ian., dan Restu Pasaribu. 2014. *Edema Patofisiologi dan Penanganan. dalam Ilmu Penyakit Jilid II*. Edisi 6. Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam.

- Glaso, M. Sandvig, K. U. Dan haaskjold. E. 1993. *Apoptosis in the rat corneal epithelium during regeneration*. APMIS. 101: 914-922.
- Gupta, A. R., Dey, S., Saini, M., dan Swarup, D. 2013. Protective effect of tamarindus indica fruit pulp extract on collagen content and oxidative stress induced by sodium fluoride in the live and kidney of rats. *Toxicological and Environmental Chemistry*. 95(9): 1611-1623.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath P.H.A., Stately, J.T., dan Williams, S.t. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Edisi 9. USA: Lippincot Williams and Wilkins.
- Ibrahim, M. A. Griko, N. Junker, M.dan Bulla, L. A. 2010. Bacillus thuringiensis A genomics and proteomics perspective. *Bioengineered Bugs*. 1(1): 31-50
- Ilyas, S. 2008. *Penuntun Ilmu Penyakit Mata*. Edisi Ketiga. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- James, B. 2003. Lecture notes on opthalmogy. *Blackwell scientific*. Edisi 9. 1(16):194-195.
- Johnson, D.H., W.M. Bourne, R.J. Campbell. 1982. The ultrastructure of Descemet's membran: I. Changes with age in normal corneas. *Arch Ophthalmol*. 100:1942.
- Komai, Y., dan T. Ushiki. 1991. The three-dimensional organization of collagen fibrils in the human cornea dan sclera. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 32:2244.
- Kumar, Vinay. Abbas, A. K. Dan Aster, J. C. 2013. Buku Ajar Patologi Robbins. Edisi 9. Indonesia; EGC.
- Leary, S. Underwood, W. Anthony, R. Cartner, S. Corey, D. Grandlin, T. Greencre, C. Gwaltney-Brant, S. McCrackin, M. A. Meyer, R. Miller, D. Shearer, J. dan Yanong, R. 2013. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Editio. *American Veterinary Medical Association*.
- Levin, L. A. dan Albert, D. M. 2010. *Ocular diseases: mechanisms and management*. Amsterdam: Elsevier.
- Lubis, R. R., 2014. Trauma Kimia. *Naskah Publikasi Departmen Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara*.
- Maranata, R., I. Chahaya, dan D.N. Santi. 2014. Perilaku petani dalam penggunaan pestisida dan alat pelindung diri (APD) serta keluhan kesehatan petani di Desa Suka Julu Kecamatan Barus Jahe Kabupaten Karo tahun 2014. *Naskah Publikasi USU*.
- Melo, A. L. d. A.Soccol, V. T. dan Soccol, C. R. 2014. Bacillus thuringiensis: mechanism of action, resistance, and new applications: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*. 1-10.

- Müller, L.J., E. Pels, dan G.F. Vrensen. 2001. The specific architecture of the anterior stroma accounts for maintenance of corneal curvature. *Br J Ophthalmol*. 85:437.
- Netter, F. H. 2017. *Atlas of Human Anatomy*. Edisi keenam. Amsterdam: Elsevier.
- Novityari, K. Ilahi, F. dan Ariani, N. 2019. Analisis Karakteristik Pasien Trauma Mata di RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 8(1).
- Peker, E. Cagan, E. Dogan, M. Kilic, A. Caksen, H. dan Yesilmen, O. 2010. Periorbital cellulitis caused by *Bacillus thuringiensis*. *Eur J Ophthalmol*. 20 (1): 243-245
- Peterson, D. C., dan R. N. Hamel RN. 2019. Corneal Reflex. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534247/>.
- Price, S. dan Wilson, L. M. 2006. *patofisiologi*. edisi vi. Jakarta: EGC.
- Remington, L. A. 2012. *Clinical Anatomy dan Physiology of the Visual System*. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier.
- Robbins, S. L. Kumar, V. dan Cotran, R. S. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7. Indonesia: EGC.
- Rubio-Infante, N. dan L. Moreno-Fierros. 2016. An overview of the safety and biological effects of *bacillus thuringiensis* cry toxins in mammals. *Journal of Applied Toxicology: JAT*. 36(5):630–648.
- Samples, J. R., dan H. Buettner. 1983. Corneal Ulcer Caused by a Biologic Insecticide (*Bacillus thuringiensis*). *American Journal of Ophthalmology*. 95(2): 258-260.
- Schnepf, E., Crickmore, N., Rie, J. V., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D. R. Dan Dean, D. H. 1998. *Bacillus thuringiensis* and Its Pesticidal Crystal Proteins. *Microbiol Mol Biol Rev*. 62(3): 775–806.
- Sharma, N. Kaur, M. Agarwal, T. Sangwan, V.S. dan Vajpayee, R.B, 2017. Treatment of Acute Ocular Chemical Burns. *Survey of Ophthalmology*.
- Sitorius, R. S. 2018. *Buku Ajar Oftalmologi*. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Smith HA, TC Jones, dan RD Hunt. 1974. *Veterinary Pathology*. Edisi keempat. Philadelphia: Lea & Febiger.
- Sumartini. 2016. Biopestisida untuk Pengendalian Hama dan Penyakit Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. *Iptek Tanaman Pangan*. 11(2);159-166.
- Tarwaka. 2008. *Keselamatan dan Kesehatan Kerja*. Surakarta: Harapan Press.

- Untung, K. 2004. Dampak Pengendalian Hama Terpadu Terhadap Pendaftaran dan Penggunaan Pestisida di Indonesia. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 10(1): 1-7.
- Urrego-Díaz JA, Frías-Ordoñez JS, Figueroa-Echandía G, Durán-Silva G. 2017. Acute corneal edema without epithelium compromise. A case report and literature review. *Rev. Fac. Med.* 65(3):513-9.
- Valen BioScience. 2010. Dipel Mixing Guidelines Technical Bulletin.
- Vaughan, D., Cook, R., dan Asbury, T. 1962. *General Ophtalmogy*. Edisi ketiga. San Fransisco: Lange Medical Publication.
- Wibowo, C. I. 2017. Efektivitas *Bacillus thuringiensis* dalam Pengendalian Larva Nyamuk *Anopheles* sp. *Biosfera*. 34(1): 39-46.
- Willcox, MDP. Ashby BD, dan Garrett Q. 2014. Corneal Injuries and Wound Healing – Review of Processes and Therapies. *Austin J Clin Ophthalmol*. 1(4): 1017.
- World Health Organization*. 1999. Microbial Pest Control Agent *Bacillus thuringiensis*. Geneva.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Pemeliharaan Hewan Uji Coba

Pemeliharaan uji coba dilakukan dengan:

1. Pemberian Makan Hewan Uji:
 - a. Pakan hewan uji disiapkan berupa pellet.
 - b. 1 cup takaran pakan diambil dan tidak tercecer di ruangan.
 - c. Pakan dituangkan di atas permukaan kawat strimin penutup kandang *box*. kandang dipastikan dalam keadaan kering sehingga pakan tidak rusak.
 - d. Pakan diberikan setiap hari. Hewan uji dipastikan sudah diberi pakan setiap harinya, kecuali untuk tujuan pembedahaan, hewan uji sebelumnya dipuaskan terlebih dahulu selama 24 jam.
2. Penggantian dan pencucian Botol Minum:
 - a. Botol minuman diambil yang isinya akan diganti. Air di dalam botol tersebut dibuang. Ketebalan sekam pada kandang dipastikan tidak terlalu tinggi dan tidak terlalu rendah.
 - b. Permukaan luar dan dalam botol dibersihkan maupun penutup dan ujungnya dengan menggunakan air, sabun, dan sikat. Kemudian dibilas dengan air mengalir sehingga tidak ada sisa kotoran pada permukaan luar dan dalam botol dan penutupnya serta tidak ada sisa sabun di botol penutupnya.
 - c. Air diisikan ke dalam botol hingga penuh. Pastikan ada sedikit ruang udara di dalam botol kemudian ditutup rapat dengan penutupnya. tutup boyol dipastikan tidak lepas pada saat botol dikembalikan.
 - d. Botol minuman yang telah diisi diletakan ke dalam kandang melalui lubang pada kawat strimin. Tutup botol dipastikan tidak bocor dan tidak membasahi kandang.

3. Sanitasi Kandang:
 - a. Sekam dituangkan ke dalam kandang baru sampai ketinggian sekam sekitar 1,5 cm. Ketebalan sekam pada kandang dipastikan tidak terlalu tinggi dan tidak terlalu rendah.
 - b. Hewan uji dipindahkan satu persatu ke dalam kandang baru kemudian kandang ditutup rapat dengan penutup kawat setelah semua hewan uji dipindahkan. Penandaan yang tertera pada kandang baru dipastikan sudah benar. Hewan uji dipindahkan ke kandang baru dengan tutup kawat tidak dibuka lebar agar tidak ada hewan uji yang lepas dari kandangnya.
 - c. Hewan uji diletakkan pada kandang baru pada rak pemeliharanya.
 - d. Kotoran hewan di kandang lama dibuang ke dalam karung plastik untuk wadah pembuangan. karung pembuangan dipastikan selalu tertutup dan berada dalam kondisi kering.
 - e. Kandang kotor dicuci dengan air mengalir menggunakan sikat dan sabun hingga tidak ada sisa kotoran yang menempel. Kemudian dikeringkan dan diletakkan di tempat penyimpanan kandang yang sudah tersanitasi.
4. Sanitasi Kawat Strimin Penutup Kandang.
 - a. Kawat strimin diambil dan dibersihkan dengan sikat pembersih kawat strimin hingga tidak ada sisa kotoran dan sisa tempat hidup serangga.
 - b. Jika kotoran sulit dihilangkan dengan sikat, pencucian dilakukan menggunakan sikat, air, dan sabun. Kawat strimin dipastikan sudah benar-benar bersih dan kering sebelum dipakai atau disimpan.
 - c. Sanitasi dilakukan setiap minggu atau jika kondisi kawat sudah kotor.
5. Sanitasi Ruang Kandang.
 - a. Peralatan sanitasi disiapkan berupa sapu, lap pel, sabun pel. Tempat sampah, dan alkohol.
 - b. Barang sampah yang terpapar karsinogen dipisahkan dengan sampah lain. Sampah karsinogen dipisahkan dan dibuang sendiri.

- c. Area kandang dibersihkan dari kotoran sisa perlakuan hewan uji menggunakan sapu. Sisa kotoran hewan uji dibuang pada kantong kotoran. Sampah lain dibuang pada tempat sampah.
- d. Lantai dan area penimbangan dibersihkan dengan kain pel dan sabun pel. Alkohol 70% disemprotkan pada area yang terpapar karsinogen setelah dibersihkan dengan sabun pel.
- e. Peralatan sanitasi dibersihkan dan diletakkan kembali pada tempatnya.



Lampiran 3.2 Prosedur Penginduksian Bioinsektisida Btk

Penginduksian bioinsektisida Btk diawali dengan melakukan perhitungan konsentrasi bioinsektisida Btk yaitu konsentrasi 8mg/L, 10 mg/L dan 12 mg/L yaitu:

$$\begin{aligned} 8\text{g/L} &= 8\text{mg}/100\text{mL} \\ &= 0.16\text{mg}/20\text{mL} \end{aligned}$$

$M \times V$	$= M \times V$
$M \times 20\text{mL}$	$= 8\text{mg} \times 100\text{ml}$
M	$= 0.16\text{mg}/20\text{mL}$

$$\begin{aligned} 10\text{g/L} &= 10\text{mg}/100\text{mL} \\ &= 0.2\text{mg}/20\text{ml} \end{aligned}$$

$M \times V$	$= M \times V$
$M \times 20\text{mL}$	$= 10\text{mg} \times 100\text{ml}$
M	$= 0.2\text{mg}/20\text{mL}$

$$\begin{aligned} 12\text{g/L} &= 12\text{mg}/100\text{mL} \\ &= 0.24\text{mg}/20\text{mL} \end{aligned}$$

$M \times V$	$= M \times V$
$M \times 20\text{mL}$	$= 12\text{mg} \times 100\text{ml}$
M	$= 0.24\text{mg}/20\text{mL}$

Pembuatan larutan bioinsektisida Btk dengan konsentrasi 8 mg/L, 10 mg/L dan 12 mg/L sebagai berikut:

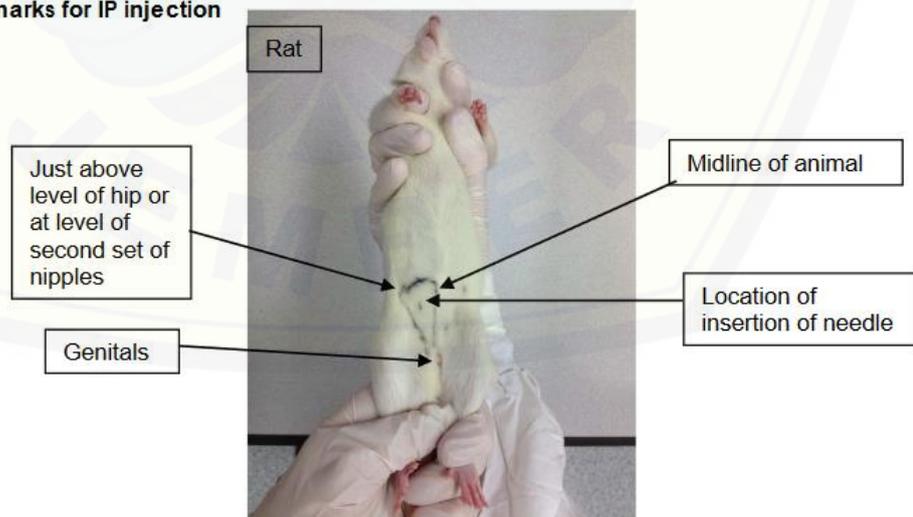
1. Bioinsektisida Btk diambil sebanyak 0.16 mg, 0.2 mg dan 0.24 mg ditimbang menggunakan neraca ukur ohaus.
2. Setelah ditimbang, bioinsektisida Btk diletakan di beaker glass 100 mL dengan diberi label sesuai dengan konsentrasi.
3. Aquabidest 20 mL diberikan pada setiap konsentrasi di beaker glass.
4. Larutan bioinsektisida Btk yang telah diberikan dengan aquabidest 20 mL dipindahkan di beaker glass 500 mL untuk dihomogenkan dengan magnetic stirrer kecepatan 200 rpm selama 1 menit.
5. Setelah dihomogenkan, larutan diletakan kembali di beaker glass 100ml sesuai dengan label konsentrasi yang telah diberikan.

Lampiran 3.3 Prosedur Anestesi Tikus

Tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar dianestesi dengan menggunakan ketamin hydrochloride hingga mencapai efek stage anestesi. Prosedur anestesi yang dilakukan sebagai berikut:

1. Anestesi yang digunakan berupa *Ketamine* dengan dosis 80 mg/kgBB (dosis terapi 75-100 mg/kgBB). Sebelumnya, dilakukan pengenceran dengan langkah sebagai berikut:
 - a. *Ketamine* diambil sebanyak 8 mL
 - b. Aquabides diambil sebanyak 2 mL
 - c. Kedua larutan dicampurkan sehingga terbentuk larutan *ketamine* dengan dosis 80 mg/mL
2. Larutan diambil menggunakan spuit 30 G sebanyak 1 mL.
3. Tikus diletakkan dengan cara jari telunjuk dan jari tengah tangan kanan menjepit leher tikus, jari jempol, jari manis, dan jari kelingking tangan kanan memegang badan tikus, dan tangan kiri memegang kedua kaki tikus.
4. Setelah tikus dipegang dilakukan injeksi dengan jarum menghadap ke atas dan menusukkan pada *lower right quadrant* pada abdomen tikus dengan sudut 30-40°

Landmarks for IP injection



5. Setelah 5 menit injeksi, dilakukan evaluasi anestesi menggunakan refleks pedal dengan mencubit regio metacarpal pada kaki belakang di antara jari telunjuk dan jari jempol tikus.
6. Apabila tikus tidak memberikan respon, penginduksian bioinsektisida Btk dapat dilakukan karena telah mencapai stage anestesi.



Lampiran 3.4 SOP Induksi Bioinsektisida Btk

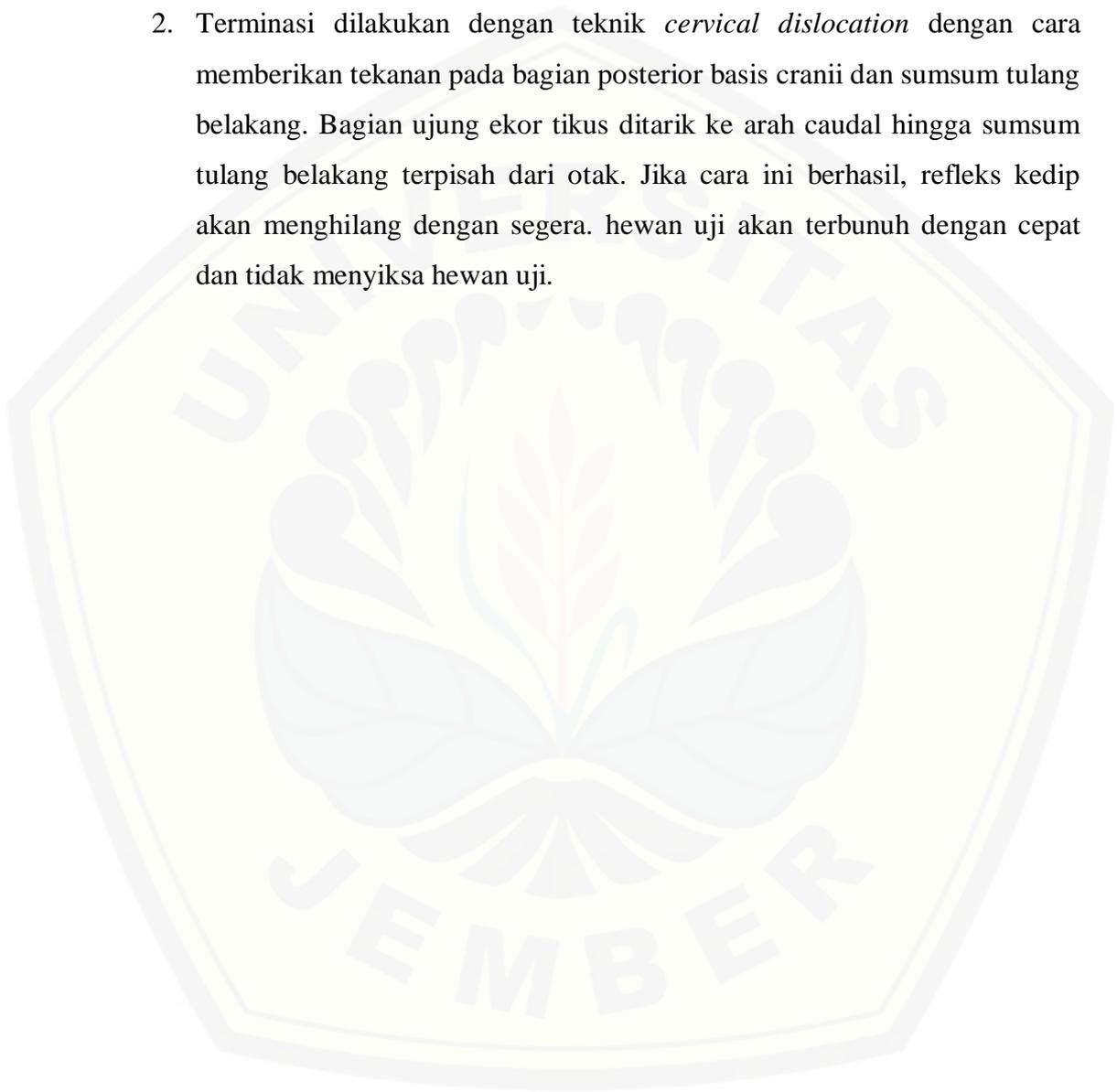
Penginduksian bioinsektisida Btk dilakukan dengan cara, yaitu:

1. tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar telah dianestesi sesuai Standar Operasional Prosedur yang telah ada.
2. Setelah efek anestesi tercapai, dilakukan pemaparan larutan bioinsektisida Btk PT Nufarm Indonesia pada sentral kornea mata kanan tikus.
3. Diteteskan larutan bioinsektisida sesuai konsentrasi yang telah ditentukan sebanyak 3 mL selama 120 detik pada mata kanan bagian tengah mata tikus.
4. Setelah mata diteteskan bioinsektisida Btk, mata ditutup dengan plester hipafix selama 30 menit.
5. Hewan uji yang telah diinduksi dikembalikan ke dalam kandang perlakuan.
6. Perlakuan diulang 1 kali per hari selama 7 hari.

Lampiran 3.5 Terminasi

Terminasi pada tikus *Rattus novergicus* dilakukan dengan cara:

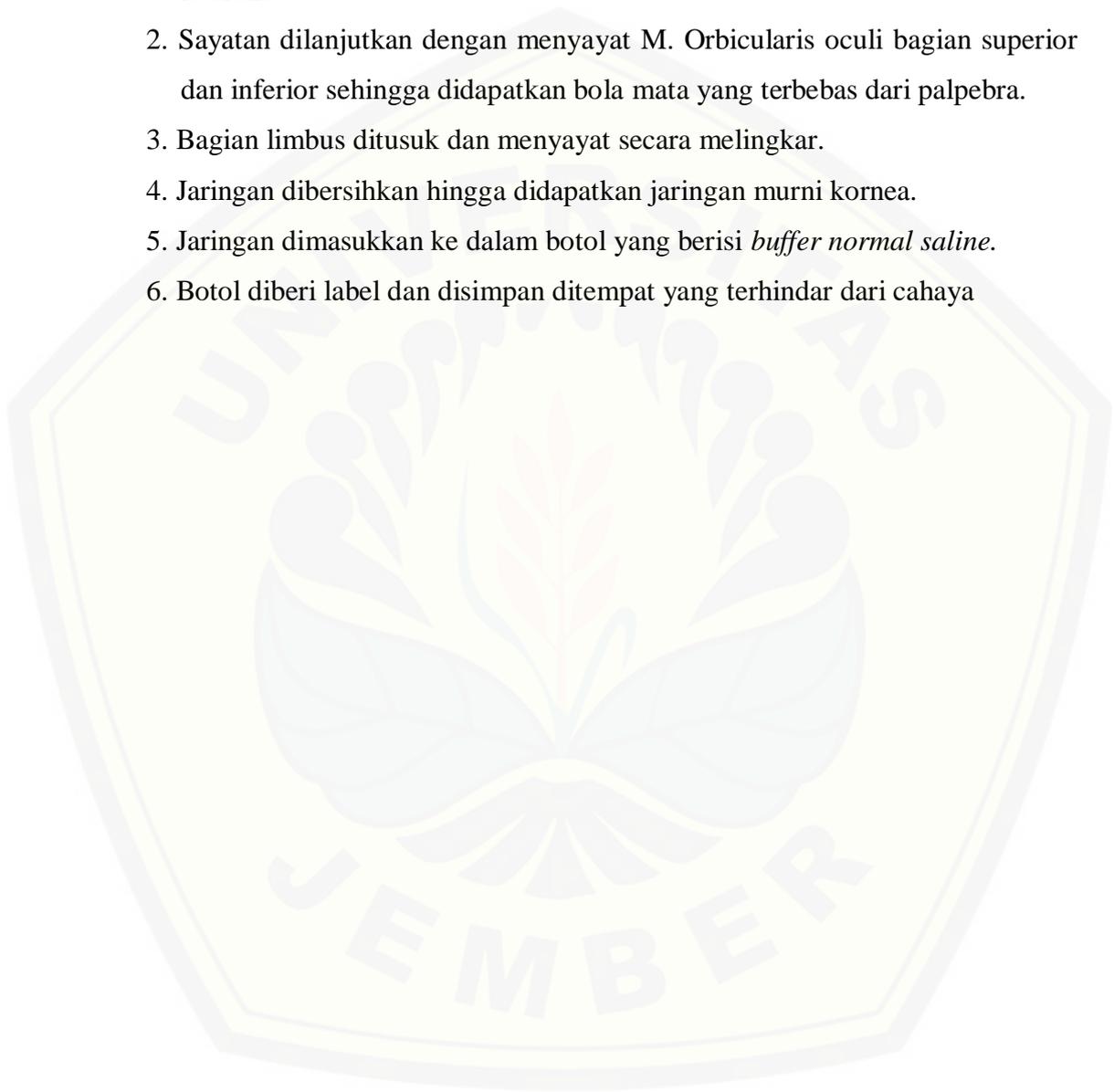
1. Anestesi diberikan dengan ketamine secara intraperitoneal hingga mencapai stage anestesi.
2. Terminasi dilakukan dengan teknik *cervical dislocation* dengan cara memberikan tekanan pada bagian posterior basis cranii dan sumsum tulang belakang. Bagian ujung ekor tikus ditarik ke arah caudal hingga sumsum tulang belakang terpisah dari otak. Jika cara ini berhasil, refleks kedip akan menghilang dengan segera. hewan uji akan terbunuh dengan cepat dan tidak menyiksa hewan uji.



Lampiran 3.6 pengambilan Jaringan Kornea

Pengambilan jaringan kornea pada tikus dilakukan dengan cara:

1. Dilakukan sayatan melingkar pada palpebra tikus dimulai dari tepi kantus lateralis
2. Sayatan dilanjutkan dengan menyayat M. Orbicularis oculi bagian superior dan inferior sehingga didapatkan bola mata yang terbebas dari palpebra.
3. Bagian limbus ditusuk dan menyayat secara melingkar.
4. Jaringan dibersihkan hingga didapatkan jaringan murni kornea.
5. Jaringan dimasukkan ke dalam botol yang berisi *buffer normal saline*.
6. Botol diberi label dan disimpan ditempat yang terhindar dari cahaya



Lampiran 3.7 SOP Pewarnaan H&E

Prosedur Pewarnaan H&E yaitu:

1. Jaringan kornea difiksasi ke dalam *buffer normalis saline* selama 24 jam
2. Jaringan kornea direndam pada air selama 15 menit dan dilanjutkan perendaman pada alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, dan 100% dengan masing-masing selama 3x10 menit (dehidrasi).
3. Perendaman pada alkohol toluene dan toluene murni dilakukan selama 13 menit dan 16 menit (penjernihan).
4. Jaringan direndam pada parafin cair bersuhu 60°C I, II, dan II masing-masing selama 5 menit (infiltrasi parafin).
5. Jaringan diblok pada parafin cair bersuhu 60°C sampai membeku.
6. Jaringan dipotong menggunakan mikrotom geser setebal 5µm.
7. Dilanjutkan dengan perendaman pada Xilol I, II, dan III masing-masing selama 10 menit. Dilanjutkan irigasi dengan air mengalir selama 3 menit.
8. Jaringan direndam pada alkohol 100%, 100%, 90%, 80%, dan 70% dengan masing-masing selama 1 menit.
9. Jaringan direndam pada larutan hematoksilin selama 2 menit, *acid alcohol* 1 x pencelupan, dan diirigasi air selama 2 menit.
10. Dilakukan perendaman pada larutan eosin selama 1 menit dilanjutkan alkohol 70%, 80%, 90% 100%, dan 100% dengan masing-masing selama 30 detik.
11. Dilanjutkan dengan perendaman dengan xilol I, II, dan II masing-masing selama 5 menit.
12. Jaringan ditutup dengan pemberian entellen/DPX (perekat) sebanyak 2 tetes pada *object glass* dan ditutupi dengan *cover glass*
13. Dilanjutkan dengan pengamatan di bawah mikroskop

Lampiran 3.8 SOP Pembacaan Preparat

Prosedur pembacaan ketebalan epitel kornea:

1. Preparat diberikan kode secara acak pada agar pembaca tidak mengetahui perlakuan pada preparat yang sedang dibaca. Kode dicatat oleh peneliti agar tidak salah dalam memasukkan data.
2. Preparat yang telah diterima diletakkan dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.
3. Dilakukan penyesuaian titik fokus mikroskop sampai preparat terlihat dengan jelas.
4. Dilanjutkan dengan mengatur posisi preparat dan menghitung ketebalan epitel kornea yang tertinggi dan terendah.
5. Gambaran mikroskop diambil dan dicatat nama file sesuai kode preparat.
6. Hasil perhitungan ketebalan epitel dimasukkan ke dalam laporan pencatatan data. Data ketebalan epitel yang didapatkan diambil rerata dari ketebalan epitel tertinggi dan terendah.
7. Setelah didapatkan hasil pembacaan ketebalan epitel, preparat diganti dengan preparat lain dan melakukan pembacaan sesuai langkah 1-6.

Prosedur pembacaan deskuamasi epitel:

1. Preparat diberikan kode secara acak pada agar pembaca tidak mengetahui perlakuan pada preparat yang sedang dibaca. Kode dicatat oleh peneliti agar tidak salah dalam memasukkan data.
2. Preparat yang telah diterima diletakkan dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.
3. Dilakukan penyesuaian titik fokus mikroskop sampai preparat terlihat dengan jelas.
4. Dilanjutkan dengan mengatur posisi preparat dan mencari deskuamasi epitel pada prepreparat.
5. Gambaran deskuamasi diambil dan dicatat nama file sesuai kode preparat.
6. Setelah didapatkan hasil pembacaan ketebalan epitel, preparat diganti dengan preparat lain dan melakukan pembacaan sesuai langkah 1-6.

Lampiran 3.9 Persetujuan Etik

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
KOMITE ETIK PENELITIAN
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember
68121 – Email : fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA
Nomor : 1-374 /H25.1.11/KE/2020

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

GAMBARAN HISTOPATOLOGI KORNEA PADA TIKUS *Rattus norvegicus* GALUR WISTAR YANG DIPAJAN BIOINSEKTISIDA *Bacillus thuringiensis kurstaki*

Nama Peneliti Utama : Aldi Nawaf Nurul Amin.
Name of the principal investigator

NIM : 162010101105

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 22 Januari 2020
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Rini Rizanti, Sp.PK


Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

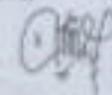
1. Perlakuan terhadap hewan coba memegang prinsip 3R (*Replacement, Reduce, Refinement*).
2. Mohon diperhatikan penyimpanan biosektisida *Bacillus thuringiensis (Bt)* ke tali sesuai dan ditempat yang aman.
3. Mohon diperhatikan peneliti, saat perlakuan dengan biosektisida dilakukan dilabococicum yang sesuai dan menggunakan alat pelindung diri.
4. Pembacaan preparat histopatologi dilakukan oleh tenaga kompeten minimal oleh 2 orang menggunakan metode blinding.
5. Mohon diperhatikan oleh peneliti, pembuangan limbah medis dan B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui
Anggota Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 22 Januari 2020
Reviewer



dr. Ayu Munawati Ariz, M.Biomed

3.10 Dokumentasi Penelitian



Pembuatan Bioinsektisida Btk



Proses homogenisasi larutan



Anestesi hewan coba



Induksi bioinsektisida Btk



Penutupan mata hewan coba dengan plester hipafix



Termiasi hewan coba



Proses enukleasi hewan coba



Mikroskop cahaya Bx53M

Lampiran 3.11 Rekomendasi Bebas Plagiasi


KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN
 Alamat : Jalan Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Bojo, Kotak Pos Jember 68121
 Telp/Fax. (0331) 337877, 324496, Faksimil (0331) 337877
 E-mail : fe@unej.ac.id/Laman/www.unej.ac.id

SURAT REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI

Nomor : **1138** /UN25.1.11/PT/2020

Komisi Bimbingan KTI dan Publikasi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya peningkatan kualitas dan originalitas karya tulis ilmiah mahasiswa berupa skripsi, telah melakukan pemeriksaan plagiiasi atas skripsi mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember di bawah ini:

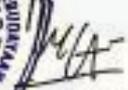
Nama : Aldi Nawaf
 NIM. : 162010101105
 Angkatan : 2016

Judul Skripsi : **Gambaran Histopatologi Kornea Tikus *Rattus norvegicus* Galur Wistar yang Dipajan oleh Bioinsektisida Btk**

Bersama ini kami merekomendasikan dan menyatakan “ Bebas Plagiasi ”

Demikian surat rekomendasi ini, atas perhatian saudara kami mengucapkan terima kasih.


08 APR 2020
 Komisi Bimbingan KTI & Publikasi
 Ketua,
Dr. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes
 NIP. 19740604 200112 2 002


 Mengetahui,
 Dekan I
Dr. dr. Anisah Caesarina Novi M. Ph.D
 NIP. 19820309 200812 2 002

Lampiran 4.1 Hasil Pengamatan Preparat

Hasil pengamatan ketebalan epitel

No	Kelompok	Keterangan			Rerata Kelompok
		Ketebalan 1	Ketebalan 2	Rerata ketebalan	
1	1 (Kontrol Negatif)	5,42	6,79	6,105	5,58
2	2 (Kontrol Negatif)	6,43	8,07	7,25	
3	3(Kontrol Negatif)	2,42	2,14	2,28	
4	4(Kontrol Negatif)	4,76	5,41	5,085	
5	5(Kontrol Negatif)	7,07	6,17	6,62	
6	6(Kontrol Negatif)	6,14	6,17	6,155	
7	1 (P1)	2,06	2,24	2,15	6,09
8	2 (P1)	8,804	7,547	8,1755	
9	3 (P1)	5,88	6,82	6,35	
10	4 (P1)	5,61	5,34	5,475	
11	5 (P1)	7,96	8,65	8,305	
12	6 (P1)	6,884	5,262	6,073	
13	1 (P2)	3,65	2,02	2,835	6,72
14	2 (P2)	5,117	4,439	4,778	
15	3 (P2)	6,503	7,472	6,9875	
16	4 (P2)	7,78	6,567	7,1735	
17	5 (P2)	4,368	4,434	4,401	
18	6 (P2)	13,18	15,13	14,155	
19	1 (P3)	16,5	20,97	18,735	8,06
20	2 (P3)	2,97	1,66	2,315	
21	3 (P3)	10,35	9,41	9,88	
22	4 (P3)	3,016	3,362	3,189	
23	5 (P3)	5,57	6,35	5,96	
24	6 (P3)	8,025	8,539	8,282	

Hasil pengamatan deskuamasi epitel

No	Deskuamasi Epitel		Kelompok
	Pengamat 1	Pengamat 2	
1	0	0	K-
2	0	0	K-
3	0	0	K-
4	1	1	K-
5	1	1	K-
6	0	0	K-
7	1	1	P1
8	0	0	P1
9	1	1	P1
10	1	1	P1
11	1	1	P1
12	0	0	P1
13	0	0	P2
14	1	1	P2
15	1	1	P2
16	1	1	P2
17	1	1	P2
18	1	1	P2
19	1	1	P3
20	1	1	P3
21	1	1	P3
22	0	0	P3
23	1	1	P3
24	1	1	P3

keterangan 0= tidak ada deskuamasi 1= terdapat deskuamasi

Lampiran 4.2 Hasil Analisis Data

Analisis Data Ketebalan Epitel

1. Hasil Uji Normalitas Ketebalan Epitel Kornea

Tests of Normality							
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
KetebalanEpitel	K-	.283	6	.145	.844	6	.142
	P1	.226	6	.200*	.891	6	.322
	P2	.288	6	.131	.853	6	.166
	P3	.214	6	.200*	.895	6	.347

*. This is a lower bound of the true significance.
a. Lilliefors Significance Correction

2. Hasil Uji *One Way Anova* Ketebalan Epitel Kornea

Test of Homogeneity of Variances					
KetebalanEpitel		Levene	df1	df2	Sig.
		Statistic			
KetebalanEpitel	Based on Mean	1.792	3	20	.181
	Based on Median	1.736	3	20	.192
	Based on Median and with adjusted df	1.736	3	12.443	.211
	Based on trimmed mean	1.797	3	20	.180

ANOVA

KetebalanEpitel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20.658	3	6.886	.460	.713
Within Groups	299.127	20	14.956		
Total	319.784	23			

Analisis Data Deskuamasi Epitel Kornea

1. Hasil Uji *Chi Square* Tabel 4x2

kelompok * deskuamasi Crosstabulation

Count

		deskuamasi		
		Tidak Ada	Ada	Total
kelompok	K-	4	2	6
	P1	2	4	6
	P2	1	5	6
	P3	1	5	6
Total		8	16	24

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	4.500 ^a	3	.212
Likelihood Ratio	4.463	3	.216
Linear-by-Linear Association	3.594	1	.058
N of Valid Cases	24		

a. 8 cells (100.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.00.

2. Hasil Uji *Fisher's Exact* Tabel 2x2

Kelompok * Deskuamasi Crosstabulation

Count

		Deskuamasi		
		tidak ada	ada	Total
Kelompok	kontrol	4	2	6
	perlakuan	6	12	18
Total		10	14	24

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2.057 ^a	1	.151		
Continuity Correction ^b	.914	1	.339		
Likelihood Ratio	2.049	1	.152		
Fisher's Exact Test				.192	.170
Linear-by-Linear Association	1.971	1	.160		
N of Valid Cases	24				

a. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.50.

b. Computed only for a 2x2 table