



**EFEK PAPARAN BIOINSEKTISIDA *Bacillus thuringiensis* TERHADAP
DEFEK EPITEL KORNEA MATA TIKUS WISTAR**

SKRIPSI

Oleh
Fathiah Ulil Albab
NIM 162010101132

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**EFEK PAPARAN BIOINSEKTISIDA *Bacillus thuringiensis* TERHADAP
DEFEK EPITEL KORNEA MATA TIKUS WISTAR**

SKRIPSI

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

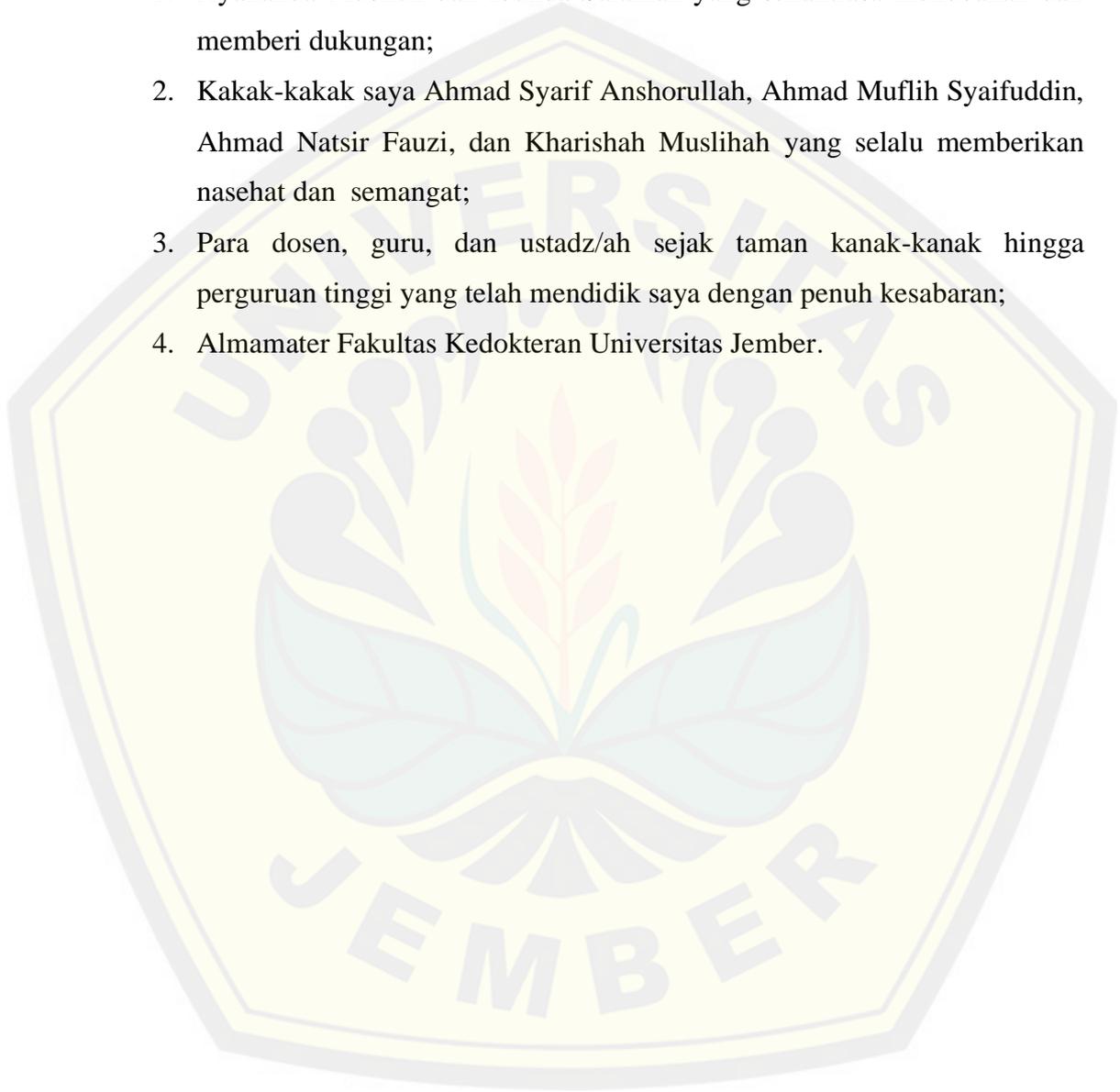
Oleh
Fathiah Ulil Albab
NIM 162010101132

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Muslich dan Ibunda Salamah yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan;
2. Kakak-kakak saya Ahmad Syarif Anshorullah, Ahmad Muflih Syaifuddin, Ahmad Natsir Fauzi, dan Kharishah Muslihah yang selalu memberikan nasehat dan semangat;
3. Para dosen, guru, dan ustadz/ah sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah mendidik saya dengan penuh kesabaran;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



MOTO

“Dan Dia mendapatimu sebagai seorang yang bingung, lalu Dia memberikan petunjuk”

(QS. Ad-dhuha : 7)*

“Dan tiadalah kehidupan dunia ini melainkan senda gurau dan main-main. Dan sesungguhnya akhirat itulah yang sebenarnya kehidupan, kalau mereka mengetahui”

(Al-Ankaboot : 64)*



*) Ringkasan Tafsir Ibnu Katsir. 2010. Al-Quran Terjemah dan Tafsir Per Kata. Bandung: Penerbit JABAL

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Fathiah Ulil Albab

NIM : 162010101132

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efek Paparan Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* terhadap Defek Epitel Kornea Mata Tikus Wistar” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya plagiasi. 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

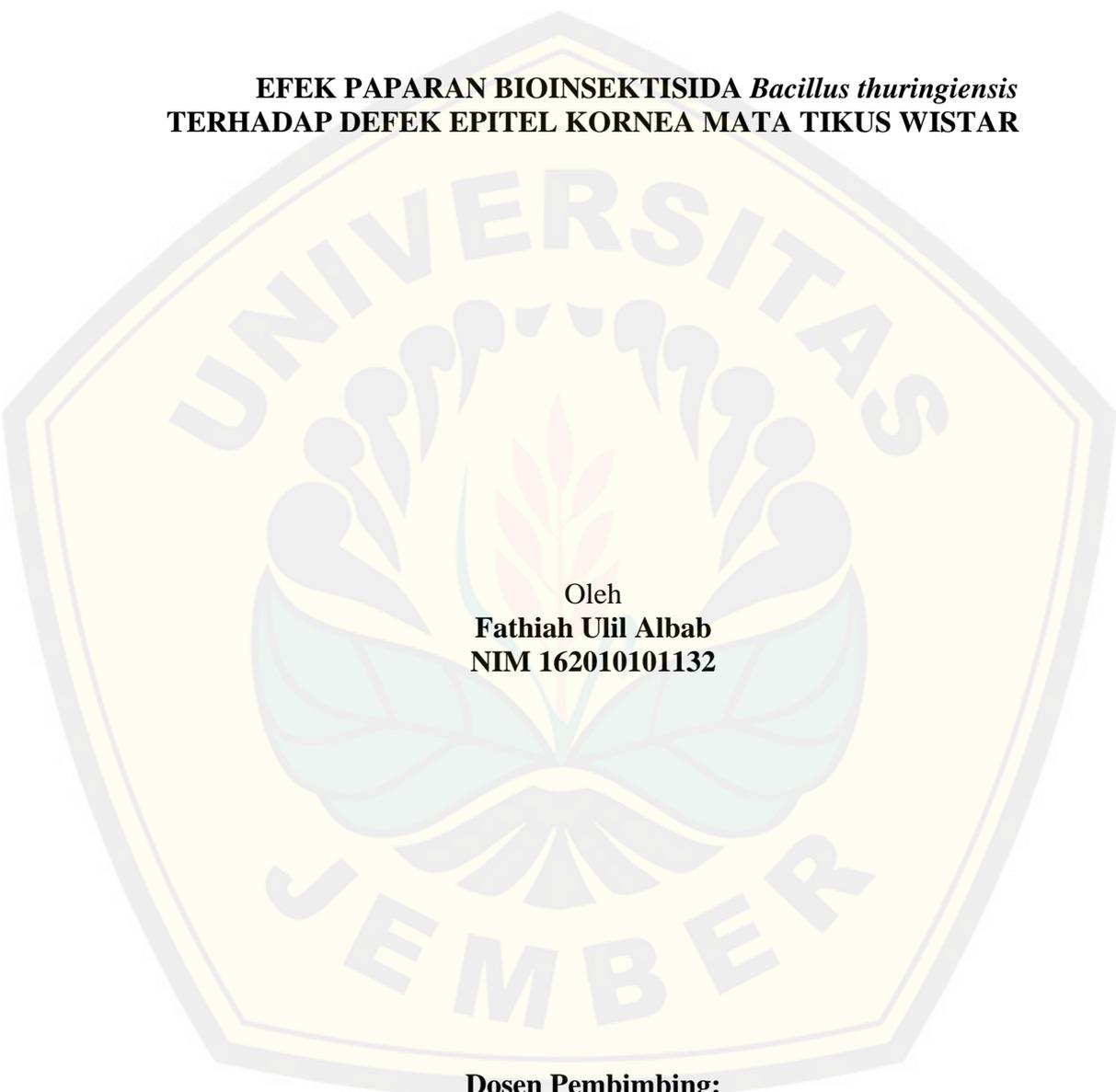
Jember, 23 Maret 2020

Yang menyatakan,

Fathiah Ulil Albab
NIM 162010101132

SKRIPSI

**EFEK PAPARAN BIOINSEKTISIDA *Bacillus thuringiensis*
TERHADAP DEFEK EPITEL KORNEA MATA TIKUS WISTAR**



Oleh
Fathiah Ulil Albab
NIM 162010101132

Dosen Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Heni Fatmawati, M.Kes., Sp.Rad

Dosen Pembimbing Pendamping : dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Paparan Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* terhadap Defek Epitel Kornea Mata Tikus Wistar” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Senin, 13 April 2020

tempat : Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

dr. Rosita Dewi, M.Biotek.
NIP 19840428 200912 2 003

dr. Nindya Shinta R., M.Ked., Sp.THT-KL
NIP 19780831 200501 2 001

Anggota II,

Anggota III,

dr. Heni Fatmawati, M.Kes., Sp.Rad
NIP 19760212 200501 2 001

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed
NIP 19821211 200812 2 002

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA
NIP 19730424 199903 1 002

RINGKASAN

Efek Paparan Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* terhadap Defek Epitel Kornea Mata Tikus Wistar; Fathiah Ulil Albab, 162010101132; 2020; 70 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Bioinsektisida merupakan salah satu jenis pestisida yang digunakan oleh petani dengan menggunakan mikroorganisme untuk mengendalikan hama berupa serangga. Bakteri *Bacillus thuringiensis* menjadi bioinsektisida yang paling berhasil dalam melawan hama dan digunakan secara luas karena bioinsektisida Bt memiliki spesifisitas target terhadap serangga. Pada tahun 1983, seorang petani ditemukan mengalami ulserasi kornea setelah terpapar Bioinsektisida Bt. Bioinsektisida Bt secara komposisi dimasukkan ke dalam produk kimia yang dapat menyebabkan trauma kimia mata. Trauma kimia pada mata dapat menyebabkan kerusakan luas pada epitel permukaan mata termasuk terjadinya defek epitel kornea. Defek epitel kornea merupakan hilangnya lapisan epitel permukaan kornea yang apabila terjadi komplikasi dapat mengakibatkan penurunan penglihatan hingga kebutaan permanen. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek paparan bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* terhadap defek epitel kornea mata tikus Wistar.

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *true experimental* jenis *post test only group control* dengan sampel tikus Wistar sebanyak 24 ekor. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok K- (paparan menggunakan akuabides), kelompok K1 (paparan menggunakan larutan bioinsektisida Bt 8 g/L), kelompok K2 (paparan menggunakan larutan bioinsektisida Bt 10 g/L), kelompok K3 (paparan menggunakan larutan bioinsektisida Bt 12 g/L) dengan pengelompokan sampel menggunakan teknik *simple random sampling*. Penelitian ini dilakukan selama 14 hari dimulai dari aklimatisasi, pemberian perlakuan berupa paparan larutan bioinsektisida Bt secara tetes pada kornea mata tikus selama 7 hari, pemeriksaan defek epitel kornea, dan terminasi tikus. Pemeriksaan defek epitel kornea dilakukan dengan memvisualisasikan kornea di bawah cahaya kobalt-biru setelah ditetesi larutan fluoresensi. Analisis data menggunakan uji *Fisher's Exact* ($p < 0,05$).

Secara berurutan dari kelompok dengan hasil positif defek kornea terbanyak yakni kelompok P3 menghasilkan defek epitel kornea sebanyak 2 sampel, diikuti dengan satu sampel positif defek pada kelompok P1, dan hasil negatif defek epitel pada kelompok P2 dan kelompok K-. Hasil uji analisis data menggunakan uji *Fisher's Exact* menunjukkan nilai kemaknaan $p = 0,546$ yang berarti tidak terdapat efek yang signifikan antara paparan bioinsektisida Bt terhadap defek epitel kornea mata tikus Wistar. Hal ini menunjukkan bahwa bioinsektisida Bt merupakan bioinsektisida yang tergolong aman terhadap mata.

PRAKATA

Segala puji bagi Allah SWT Tuhan semesta alam, atas rahmatnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Paparan Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* terhadap Defek Epitel Kornea Mata Tikus Wistar”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. Dosen Pembimbing Utama dr. Heni Fatmawati, M.Kes., Sp.Rad. dan Dosen Pembimbing Anggota dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed. yang telah meluangkan waktu dan pikiran dalam penulisan skripsi ini;
3. Dosen Penguji I dr. Rosita Dewi, M.Biotek. dan Dosen Penguji II dr. Nindya Shinta R., M.Ked., Sp.THT-KL yang telah meluangkan waktu dan pikiran dalam skripsi ini;
4. dr. Cicih Komariah, Sp.M. selaku dosen dalam tim penelitian yang telah membimbing dan meluangkan waktu serta pikiran dalam skripsi ini;
5. dr. Erfan Efendi, Sp.An selaku dosen pembimbing akademik;
6. Orang tua tersayang, Ibunda Ir. Salamah dan Ayahanda Muslich yang tidak pernah berhenti memberikan kasih sayang, doa, motivasi, dukungan, dan semangat;
7. Kakak tercinta Ahmad Syarif Anshorulloh, S.K.M, Ahmad Muflih Syaifuddin, S.Kom, Ahmad Natsir Fauzi, S.Kom dan Kharishah Muslihah, S.K.G yang dengan tulus memberikan doa serta dukungan;
8. Analis Laboratorium Farmakologi FK UNEJ;
9. Teman seperjuangan dalam penelitian: Hashinatul Hurriyyah, Siti Aminah Daeng, Aldi Nawaf, dan Ahmad Asrori;

10. Sahabat-sahabat satu kosam Indah Pratiwi, Selma Naf'an, Berlin istiqomah, Arista Nur Isnaini, Endang Pratiwi, Atina Robbiatul, Prisma Diandari, Endang Pratiwi, Rozi Reviana;
11. Sahabat melewati masa kuliah Niken Larasati dan Siti Marissa;
12. Seluruh teman-teman FK angkatan 2016 yang telah membantu dan memberi saran serta semangat dalam menempuh perkuliahan;
13. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebut satu per satu, terimakasih atas bantuannya.

Penulis juga menerima kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi. Akhir kata penulis berharap, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Jember, 8 April 2020
Penulis

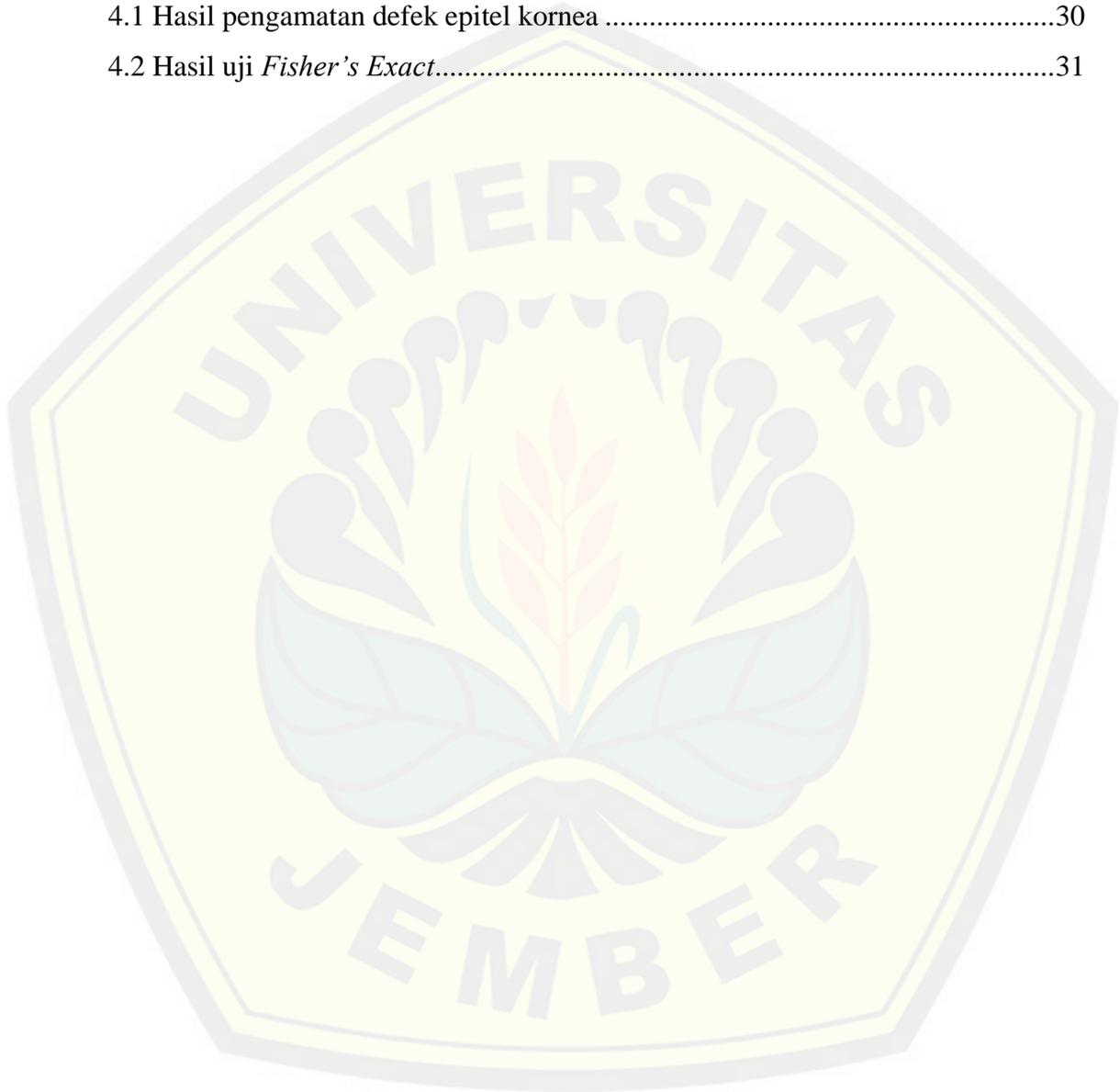
DAFTAR ISI

	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	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Bioinsektisida <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt)	4
2.1.1 Definisi dan Prevalensi Bioinsektisida Bt	4
2.1.2 Cara Kerja <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt) sebagai Bionsektisida ..	4
2.1.3 Karakteristik Toksin	5
2.2 Anatomi Mata	6
2.3 Kornea	7
2.3.1 Anatomi Kornea.....	7
2.3.2 Histologi Kornea.....	8
2.3.3 Fisiologi Kornea	11
2.4 Trauma Kimia Mata	11
2.4.1 Definisi Trauma Kimia	11
2.4.2 Patogenesis Trauma Kimia	12
2.4.3 Klasifikasi derajat keparahan	13
2.4.4 Diagnosis	14
2.4.5 Penatalaksanaan	14
2.4.6 Komplikasi.....	15
2.5 Defek Epitel Kornea	16
2.5.1 Definisi dan Prevalensi	16
2.5.3 Gejala	17
2.5.4 Patofisiologi Defek Epitel akibat Trauma Kimia.....	17

2.5.5	Diagnosis	18
2.5.6	Tatalaksana	19
2.5.7	Prognosis.....	19
2.5.8	Komplikasi.....	19
2.7	Kerangka Konseptual Penelitian.....	20
2.8	Hipotesis.....	21
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....	22
3.1	Rancangan Penelitian	22
3.2	Sampel Penelitian.....	23
3.2.1	Sampel	23
3.2.2	Jumlah Sampel	23
3.3	Tempat dan Waktu Penelitian.....	24
3.4	Variabel Penelitian.....	24
3.4.1	Variabel Bebas	24
3.4.2	Variabel Terikat	24
3.4.3	Variabel Terkendali	24
3.5	Definisi Operasional.....	24
3.5.1	Bioinsektisida <i>Bacillus thuringiensis</i>	24
3.5.2	Defek Epitel Kornea Mata	25
3.6	Alat dan Bahan.....	25
3.6.1	Alat.....	25
3.6.2	Bahan	25
3.7	Prosedur Penelitian.....	26
3.7.1	Uji Kelayakan Etik.....	26
3.7.2	Aklimatisasi dan Pemeliharaan Hewan Coba	26
3.7.3	Pemilihan dan Pembagian Hewan Coba	26
3.7.4	Pembuatan Larutan Bioinsektisida Bt.....	27
3.7.5	Anastesi Hewan Coba.....	27
3.7.6	Pemaparan Kornea Tikus oleh Bioinsektisida Bt	28
3.7.7	Pengecekan Defek Kornea Mata Tikus.....	28
3.8	Analisis Data.....	28
3.9	Alur Penelitian	29
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1	Hasil Penelitian.....	30
4.2	Pembahasan.....	32
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
5.1	Kesimpulan.....	36
5.2	Saran	36
DAFTAR PUSTAKA.....		37

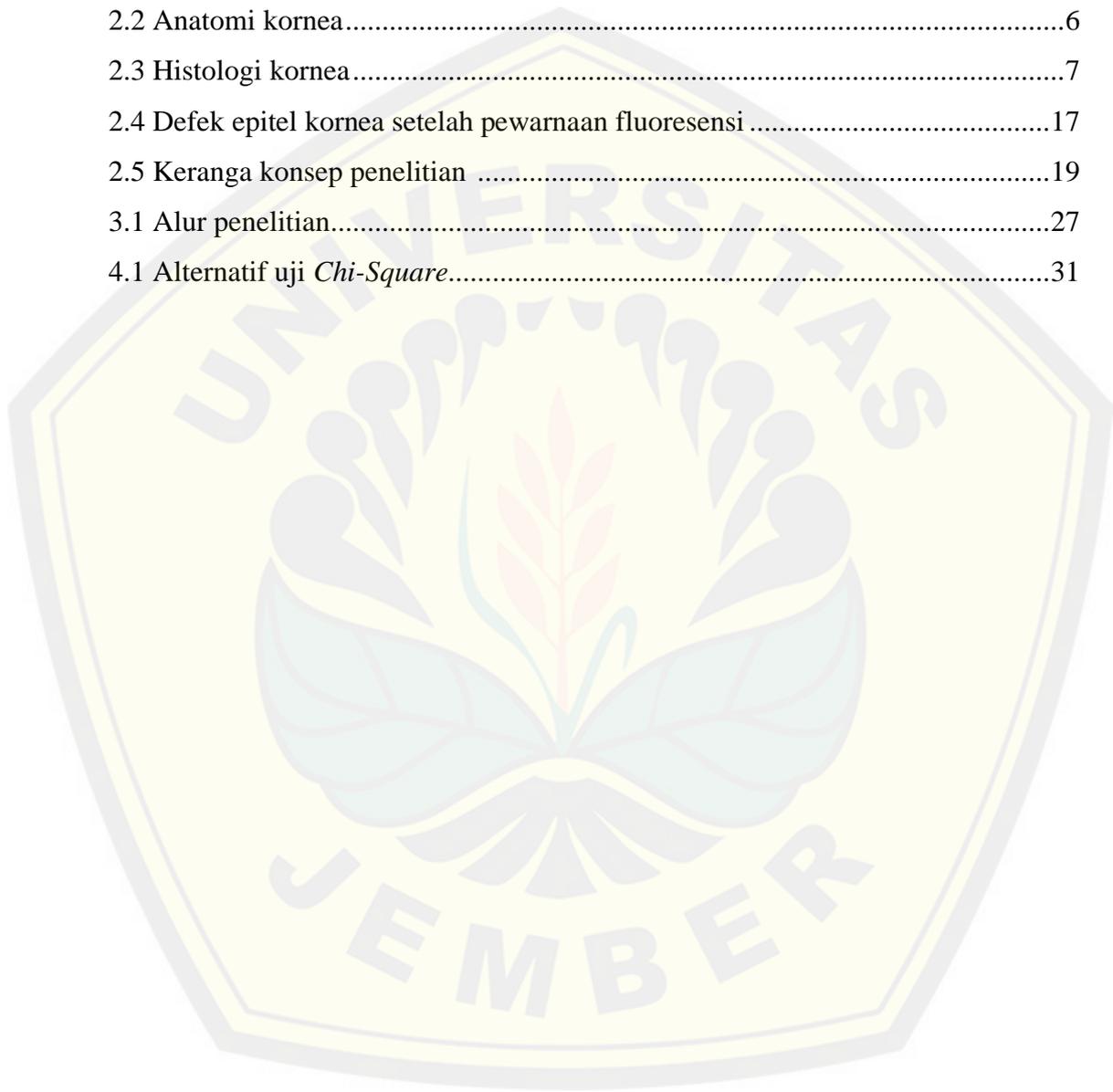
DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Pembagian perlakuan kelompok	27
4.1 Hasil pengamatan defek epitel kornea	30
4.2 Hasil uji <i>Fisher's Exact</i>	31



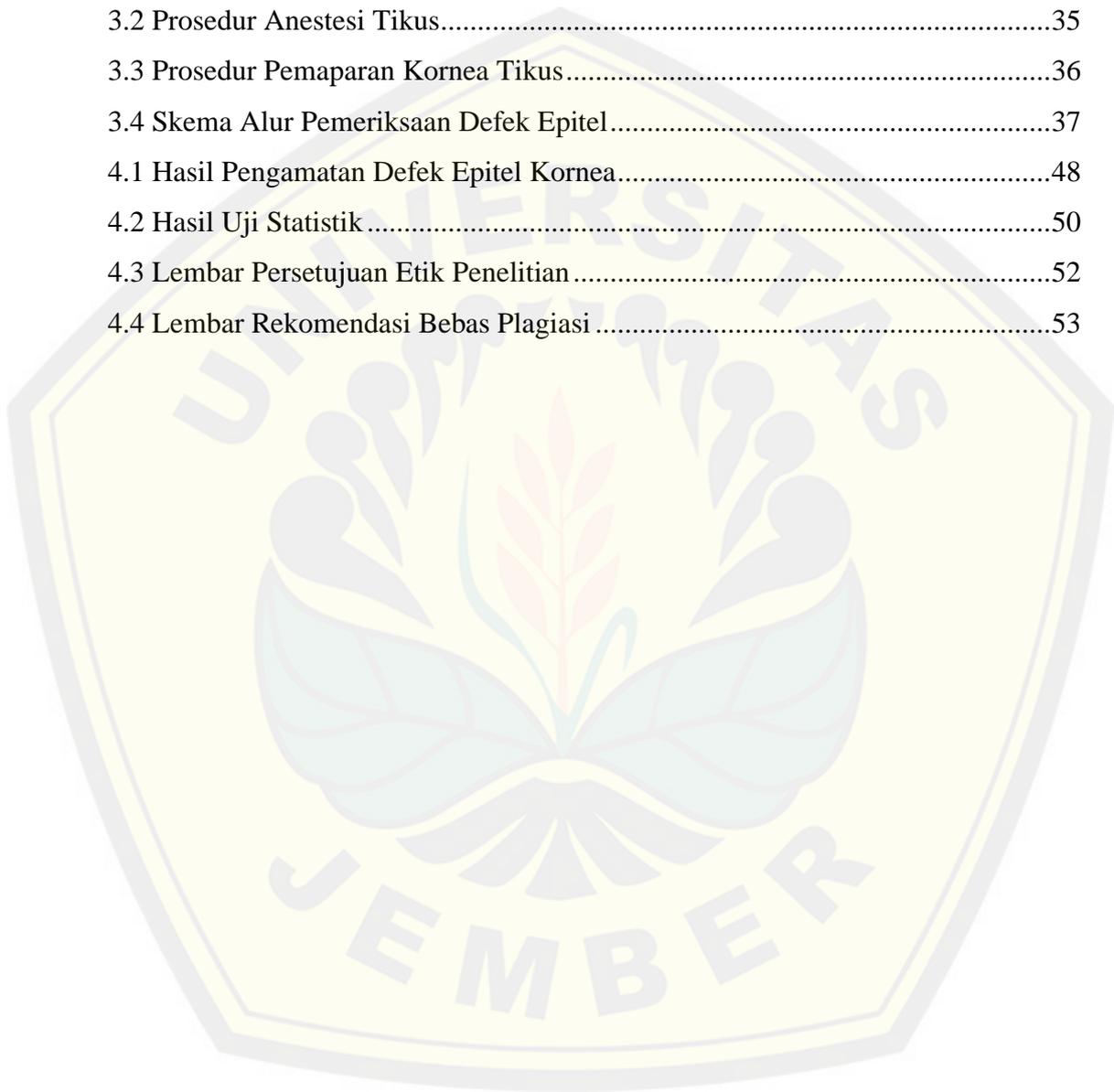
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Anatomi mata.....	5
2.2 Anatomi kornea.....	6
2.3 Histologi kornea.....	7
2.4 Defek epitel kornea setelah pewarnaan fluoresensi.....	17
2.5 Kerangka konsep penelitian.....	19
3.1 Alur penelitian.....	27
4.1 Alternatif uji <i>Chi-Square</i>	31



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Prosedur Pembuatan Larutan Bioinsektisida Bt.....	34
3.2 Prosedur Anestesi Tikus.....	35
3.3 Prosedur Pemaparan Kornea Tikus.....	36
3.4 Skema Alur Pemeriksaan Defek Epitel.....	37
4.1 Hasil Pengamatan Defek Epitel Kornea.....	48
4.2 Hasil Uji Statistik.....	50
4.3 Lembar Persetujuan Etik Penelitian.....	52
4.4 Lembar Rekomendasi Bebas Plagiasi.....	53



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan pestisida kimia sebagai pengendali hama menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan dan ekosistem (WHO, 2008). Pemakaian pestisida kimia dengan dosis dan frekuensi yang tinggi menjadikan serangga vektor penyakit menjadi resisten terhadap pestisida kimia sehingga dapat menyebabkan terganggunya keseimbangan ekosistem. Selain itu, pestisida secara signifikan menimbulkan dampak kesehatan akibat penggunaan pestisida yang sangat berbahaya dan perilaku penyemprotan yang berisiko tinggi menyebabkan terjadinya keracunan (Pawukir dan Mariyono, 2002).

Pengaruh negatif dari penggunaan pestisida kimia menyebabkan kekhawatiran dan meningkatkan perhatian masyarakat untuk mencari alternatif lain dalam menurunkan populasi hama yaitu dengan menggunakan bioinsektisida (Bahagiawati, 2002). Bioinsektisida merupakan salah satu jenis pestisida yang digunakan oleh petani dengan menggunakan mikroorganisme untuk mengendalikan hama berupa serangga (Kasumbugo Untung, 2004). Beberapa bakteri yang diketahui dapat digunakan sebagai bioinsektisida adalah genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan kelompok cendawan (*Trichoderma harzianum* dan *Gliocladium sp.*). Bakteri Bt menjadi bioinsektisida paling sukses melawan hama dan digunakan secara luas karena bioinsektisida Bt memiliki spesifisitas target terhadap serangga sehingga memperkecil dampak terhadap organisme non-target. Pemakaian Bt sebagai bahan bioinsektisida yakni sebesar 90-95% dari produk bioinsektisida yang dikomersialkan untuk dipakai oleh petani di berbagai daerah (Bahagiawati, 2002). Di Cina, 10 hingga 1000 ton formulasi bioinsektisida Bt telah diaplikasikan pada berbagai sawah dan hutan (Betz dkk., 2000).

Bacillus thuringiensis merupakan bakteri yang memproduksi protein di badan inklusi pada saat bersporulasi. Kristal protein ini bersifat membunuh serangga dan dikenal dengan δ -endotoksin atau protein *Cry* (Bahagiawati, 2002). Pada tahun 1983, seorang petani ditemukan mengalami ulserasi kornea setelah terpapar Bioinsektisida Bt (Samples dan Buettner, 1983). Laporan kasus oleh

Noble dkk. pada tahun 1992 di Kanada didapatkan hampir dua-pertiga petani penyemprot bioinsektisida Bt mengalami keluhan iritatif pada mata, hidung, dan kerongkongan (Rubio-Infante dan Moreno-Fierros, 2016).

Bioinsektisida Bt secara komposisi dimasukkan ke dalam produk kimia yang dapat menyebabkan trauma kimia mata. Trauma kimia pada mata dapat menyebabkan kerusakan luas pada epitel permukaan mata, kornea, dan segmen anterior yang mengakibatkan penurunan penglihatan hingga kebutaan permanen unilateral atau bilateral (Singh dkk., 2013). Zat kimia menyebabkan kerusakan komponen seluler, denaturasi, dan degradasi jaringan kolagen, serta pelepasan mediator inflamasi. Respons inflamasi akibat cedera menginduksi pengeluaran berbagai sitokin dan kemokin yang menyebabkan terjadinya proteolitik dari protein *tight junction* pada perbatasan sel-sel epitel kornea dan peningkatan deskuamasi epitel kornea (Meloni dkk., 2011; Kimura dkk., 2008)).

Belum adanya penelitian mengenai efek bioinsektisida Bt terhadap kornea mata membuat peneliti ingin melakukan penelitian mengenai efek paparan bioinsektisida Bt terhadap defek epitel kornea mata tikus wistar. Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi mengenai efek paparan bioinsektisida Bt terhadap kornea mata. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan untuk penelitian terkait selanjutnya.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat efek paparan bioinsektisida Bt terhadap defek epitel kornea mata tikus Wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek paparan bioinsektisida Bt terhadap defek epitel kornea mata tikus Wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

- a. Bagi insitisi pendidikan, memberikan informasi ilmiah mengenai efek paparan bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* terhadap defek epitel kornea tikus Wistar.
- b. Bagi masyarakat, meningkatkan kewaspadaan dengan selalu menggunakan APD (Alat Pelindung Diri) khususnya bagi para petani apabila terbukti bahwa bioinsektisida Bt memberikan efek terhadap defek epitel kornea kornea mata.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* (Bt)

2.1.1 Definisi dan Prevalensi Bioinsektisida Bt

Bioinsektisida merupakan salah satu jenis pestisida yang dibuat dari bahan-bahan alami seperti tanaman, bakteri, dan mineral tertentu yang dapat membunuh hama serangga tanaman. Dari seluruh pestisida yang digunakan di dunia, sekitar 2% merupakan produk biopestisida dengan 90% dari presentase tersebut merupakan bioinsektisida Bt (Sanchis dkk., 2007). Bioinsektisida memiliki peran penting dalam pengendalian hama pada daerah yang resisten terhadap pestisida dan lingkungan yang rentan terhadap pestisida berbahan dasar bahan kimia (Sharma dkk., 2012).

Bakteri Bt membentuk spora dorman yang memiliki satu atau lebih jenis kristal protein apabila persediaan makanannya menurun yaitu saat bakteri lisis pada masa fase *stationary*. Kristal ini mengandung protein yang disebut δ -endotoksin dan bersifat letal apabila dimakan oleh serangga yang peka. *Bacillus thuringiensis* digunakan sebagai produk bioinsektisida dalam bentuk spora yang membentuk badan inklusi. Potensi toksisitas bioinsektisida Bt lebih tinggi dibandingkan dengan pestisida, yaitu sebesar 300 kali apabila dibandingkan dengan pestisida sintetik *pyrethroid*. Penggunaan Bt secara umum yang terdapat dilapangan ialah dalam bentuk *microbial spray* (Bahagiawati, 2002).

2.1.2 Cara Kerja *Bacillus thuringiensis* (Bt) sebagai Bioinsektisida

Terdapat lebih dari 150 macam kristal protein bakteri Bt yang telah berhasil diidentifikasi. Pada umumnya kristal Bt di alam bersifat proto toksin dan akan menjadi toksin akibat adanya aktivitas proteolisis dalam sistem pencernaan serangga yang dapat mengubah kristal protein Bt menjadi polipeptida yang lebih pendek (27-149 kd). Toksin yang telah aktif berinteraksi dengan sel-sel epitelium di *midgut* serangga. Bukti-bukti telah menunjukkan bahwa toksin Bt ini menyebabkan terganggunya keseimbangan osmotik akibat terbentuknya pori-pori

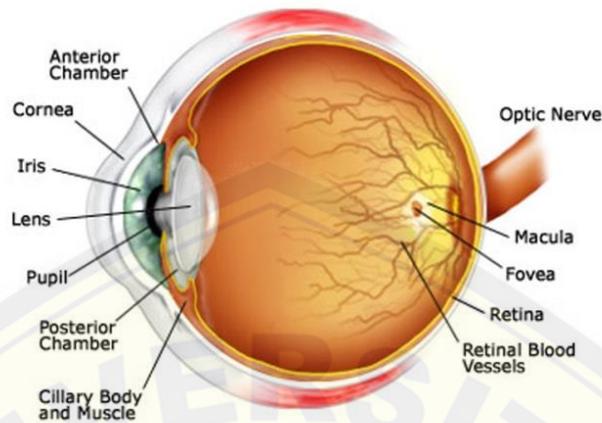
di membran saluran pencernaan serangga. Keseimbangan osmotik yang terganggu akibat toksin Bt menyebabkan sel menjadi bengkak dan pecah sehingga mengakibatkan matinya serangga. Perubahan mendasar yang terjadi pada sel-sel *midgut* serangga yang terkena toksin Bt yaitu adanya pembesaran inti, perubahan retikulum endoplasma menyerupai vakuola, serta terlepasnya mikrofili (Höfte dan Whiteley, 1989).

2.1.3 Karakteristik Toksin

Toksisitas kristal protein Bt dalam serangga bergantung pada beberapa hal diantaranya adalah kelarutan kristal protein, aktivitas proteolitik dalam pencernaan serangga untuk merubah toksin ke dalam ke bentuk aktif, dan afinitas toksin terhadap reseptor pada sel pencernaan serangga. Faktor lain yang menentukan toksisitas dari Bt ialah umur dari serangga dimana jentik serangga yang lebih muda lebih rentan apabila dibandingkan dengan jentik yang lebih tua (Swadener, 1994).

Gen *Cry* dikelompokkan menjadi 4 kelas yaitu *Cry I*, *Cry II*, *Cry III* dan *Cry IV*. Penggolongan tersebut didasarkan atas struktur asam amino dan aktifitas insektisidal yang dimiliki. Berbagai jenis gen tersebut berperan dalam menentukan sifat toksik kristal protein yang terbentuk (Bravo dkk., 2005). Protein *Cry* yang terbentuk terdiri dari tiga domain berbeda. Domain I (domain terminal-N) berisi tujuh domain alfa-heliks yang disusun dalam tiga pasang dan terlibat dalam penyisipan protein ke membran sel pencernaan serangga. Domain II terdiri atas 3 lembaran yang berbentuk simetris dan berperan dalam mengenali dan mengikat reseptor. Beberapa bukti menunjukkan bahwa beberapa protein *Cry* dapat mengikat lebih dari satu tempat pada permukaan sel serangga. Domain III terlibat dalam pengikatan dan pembentukan pori-pori pada saluran pencernaan serangga (Whalon dan Wingerd, 2003).

2.2 Anatomi Mata



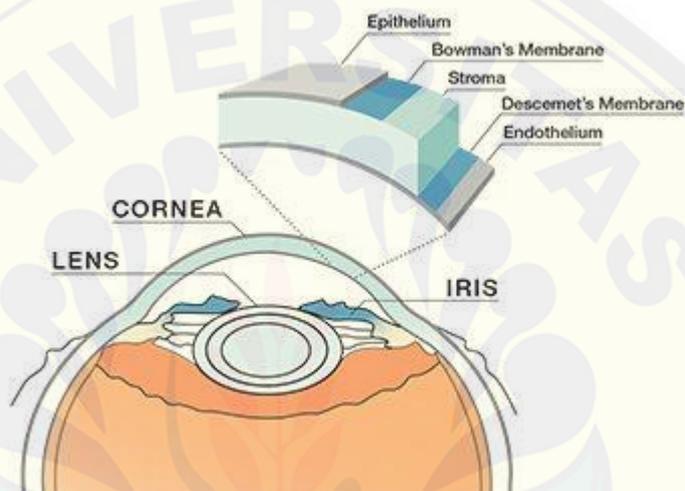
Gambar 2.1 Anatomi mata (Sumber: Djing, 2006)

Mata adalah salah satu sistem sensorik pada manusia dengan struktur anatomi terlihat pada Gambar 2.1. Mata manusia berbentuk bola dengan diameter antero-posterior sebesar 24 mm. Bagian depan mata terdiri dari kornea, iris, pupil, dan lensa. Pupil berfungsi sebagai diafragma untuk mengatur jumlah cahaya yang masuk ke mata. Baik iris dan pupil ditutupi oleh kornea yang transparan dan berfungsi sebagai komponen bias utama mata. Bersama dengan lensa, kornea bertanggung jawab atas pembentukan gambar optik pada retina. Lensa pada mata ditahan oleh ligamen suspensori atau zonula yang melekat pada otot siliaris. Kontraksi otot siliaris dapat menjadikan serat zonular mengencang sehingga menyediakan fungsi akomodasi lensa. Selain lensa dan kornea, *vitreous humor* dan *aquous humor* juga berkontribusi pada fungsi pembiasan mata sehingga daya bias keseluruhan menjadi 60 dioptri. Pada bagian belakang mata terdapat retina dimana cahaya yang masuk ke mata akan difokuskan dan disalurkan melalui saraf optikus menuju otak. Di luar retina terdapat koroid yakni lapisan yang terletak di antara retina dan sklera. Koroid ini terutama terdiri dari pleksus kapiler yang padat serta arteri dan vena kecil. Koroid memasok sebagian besar oksigen dan nutrisi yang diperlukan pada bagian belakang mata karena terdiri dari banyak pembuluh darah (Bjorn dkk., 2009).

2.3 Kornea

Kornea adalah jaringan transparan di bagian depan mata yang berfungsi untuk memantulkan cahaya kembali ke retina dan melindungi jaringan di bawahnya dari kerusakan. Epitel kornea berfungsi sebagai penghalang untuk melindungi mata dari agen eksternal seperti mikroba dan bahan kimia serta untuk menjaga transparansi kornea (Kimura dkk., 2013).

2.3.1 Anatomi Kornea



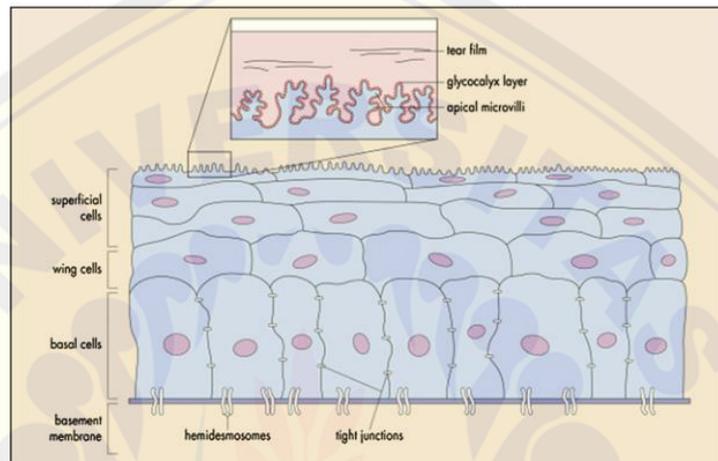
Gambar 2.2 Anatomi kornea (Sumber: Ludwig, 2019)

Kornea (latin *cornum*=seperti tanduk) merupakan lapisan transparan yang tembus cahaya dengan gambaran anatomi terlihat pada Gambar 2.2. Kornea berbentuk setengah lingkaran dengan diameter vertikal 10-11 mm, horizontal 11-12 mm, tebal 0,5-1 mm dan terdiri dari 5 lapis (Ilyas dan Yulianti, 2015). Kornea merupakan jaringan transparan dengan sifat avaskular di bagian tengahnya dan berfungsi menjadi organ refraksi kuat yang membelokkan sinar masuk ke dalam mata dengan jari-jari kelengkungan 7,8 mm. Kornea adalah salah satu dari beberapa jaringan avaskular di dalam tubuh. Kornea sehat yang normal tidak memiliki pembuluh darah (Ilyas dan Yulianti, 2015).

Secara makroskopis, area di pinggir kornea dapat dikenali sebagai limbus, yang merupakan daerah peralihan dari sklera ke kornea. Struktur limbus terdiri dari lapisan sel punca *pluripotent* yang berperan pada regenerasi epitel kornea.

Pada limbus terdapat arteri sirkulus limbus, pembuluh darah yang tumbuh secara radier, yang berperan memberikan nutrisi kepada kornea bagian perifer. Inflamasi pada kornea dan struktur mata di dalamnya ditandai dengan pelebaran pembuluh darah ini (Sharma dkk., 2008; Sitorius dkk., 2017).

2.3.2 Histologi Kornea



Gambar 2.3 Histologi kornea (Sumber: DelMonte dan Kim, 2011)

Secara mikroskopis, lapisan histologis kornea dapat dibagi menjadi 5 lapisan seperti yang terlihat pada Gambar 2.3, yaitu lapisan epitel, membran bowman, lapisan stroma, lapisan membran descemet dan lapisan endotel (Sitorius dkk., 2017).

a. Epitel Kornea

Permukaan epitel mata merupakan penghalang terdepan mata terhadap lingkungan luar dan berperan penting terhadap fungsi refraksi mata. Epitel kornea terdiri dari 5-7 lapis sel epitel skuamosa bertingkat tak berkeratin dengan ketebalan sekitar sekitar 50 μ . Epitel di permukaan yang berbentuk gepeng ditutupi oleh mikrovili yang memiliki peran penting dalam stabilitas lapisan air mata. Lapisan air mata memasok faktor imunologis dan pertumbuhan yang penting untuk kesehatan epitel, proliferasi, dan proses perbaikan epitel kornea.

Epitel berubah sekitar setiap 7 sampai 14 hari. Lapisan paling superfisial pada akhirnya akan mengalami apoptosis dan dilepas ke lapisan air mata. Lapisan epitel yang telah berdiferensiasi akan membentuk tautan antarsel yang kuat, yang

berperan penting dalam fungsi nutrisi, kejernihan, dan proteksi kornea. Sel epitel di bagian basal merupakan lapisan germinal epitel dan bermitosis saat proses regenerasi. Sel-sel ini akan berdiferensiasi serta bermigrasi ke arah permukaan. Membran basal (*basement membrane*) dari lapisan sel-sel epitel basal melekat kuat ke lapisan Bowman di bawahnya dan berperan menjaga keteraturan epitel kornea (Wilson dkk., 2012; Sitorius dkk., 2017).

Sel-sel epitel kornea dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori yakni sel skuamosa superfisial, sel *wing* di bagian tengah dan sel basal yang lebih dalam. Sel skuamosa superfisial membentuk 1-2 lapisan terluar sel epitel kornea yang. Mereka adalah sel-sel epitel yang mudah hancur sehingga sel tersebut akan disalurkan ke dalam film air mata oleh proses deskuamasi. Sel-sel ini memiliki proyeksi mikroskopis (*microvilli, reticulations, microplicae*) dan *glycocalyx fibrillar*. Sel-sel skuamosa superfisial ini terhubung satu sama lain dengan desmosom dan kompleks *junction*. Kompleks ini mengelilingi seluruh sel dan menahan aliran cairan melalui permukaan epitel. Lapisan tengah epitel kornea terdiri dari sel *wing* yang terdiri dari 2-3 lapisan sel yang kurang datar daripada sel skuamosa superfisial. Sel-sel yang berdekatan bergabung dengan desmosom dan *gap junction*. Sel-sel basal berbentuk kuboid ke bentuk kolumnar dan berdiameter 8 hingga 10 μm . Sel-sel basal melekat pada membran basal melalui sistem hemidesmosomal. Perlekatan kuat ini mencegah lapisan epitel memisahkan dari lapisan kornea yang mendasarinya. Sel-sel basal aktif membelah dan memiliki permeabilitas terhadap molekul kecil termasuk glukosa, natrium oksigen dan karbon dioksida (Sharma dkk., 2008).

b. Membran Bowman

Merupakan lapisan aselular berisi kolagen tipe 1 dan tipe 3, dengan tebal kurang lebih 12 μm . Membran ini memiliki banyak pori-pori untuk perjalanan saraf kornea ke dalam epitel. Struktur ini cukup resisten terhadap infeksi dan cedera, tetapi sekali mengalami kerusakan, tidak mampu beregenerasi. Setelah mengalami kerusakan, membran Bowman dapat membentuk sikatrik dan akan mempengaruhi penglihatan apabila sikatrik terletak di tengah (Sharma dkk, 2008; Wilson dkk., 2012; Sitorius dkk., 2017).

c. Lapisan Stroma

Stroma merupakan lapisan kornea yang paling tebal dan menyusun lebih dari 90% ketebalan kornea (500 μm). Struktur ini terdiri dari keratosit dan matriks ekstraselular dengan penyusun matriks paling banyak ialah fibril kolagen tipe 1. Fibril kolagen tersusun dalam banyak lapisan dan terletak saling sejajar satu sama lain dengan ukuran serta jarak antar fibril yang sangat teratur sehingga memungkinkan terjaganya fungsi transmisi cahaya, termasuk kurvatura kornea serta sifat-sifat optik kornea. Keratosit adalah tipe sel utama dari stroma dan terlibat dalam menjaga lingkungan ekstraseluler. Keratosit mampu mensintesis kolagen, glikosaminoglikan, dan *matrix metalloproteases* (MMPs) yang sangat penting dalam mempertahankan homeostasis stroma. Gangguan terhadap lapisan stroma oleh penyakit atau cedera dapat menyebabkan kebutaan permanen (Wilson dkk., 2012; Sitorius dkk., 2017).

d. Membran Descemet

Membran Descemet merupakan lamina basal dari sel endotel kornea dengan ketebalan sekitar 3 μm pada anak-anak dan secara bertahap menebal hingga 10 μm pada orang dewasa. Membran ini sangat resisten terhadap bahan kimia, trauma, infeksi, proses patologik, serta degradasi enzim. Berbeda dengan lapisan bowman, membran descemet memiliki kemampuan regenerasi sepanjang kehidupan (Sitorius dkk., 2017). Secara struktural, membran Descemet mengandung serat kolagen tipe IV dan VIII (Eghrari dkk., 2015).

e. Lapisan Endotel Kornea

Endotel Kornea memiliki ketebalan 4 hingga 6 μm dan lebar 20 μm yang terdiri dari sekitar 400.000 sel. Endotel dan membran descemet merupakan lapisan yang penting untuk mengatur kadar air kornea, yang harus terjaga untuk mempertahankan kejernihannya. Endotel kornea terdiri atas selapis sel berbentuk heksagonal yang memiliki kompleks tautan antarsel kuat (*tight junctions*) yang berfungsi sebagai *barrier* terhadap cairan humos akuos dan sebagai pompa metabolik yang tersebar di seluruh permukaan dalam kornea untuk memasukkan nutrisi serta mengeluarkan cairan berlebihan dari stroma. Saat lahir, kepadatan sel berkisar antara 3.500 hingga 4.000 sel/ mm^2 sedangkan orang dewasa memiliki

kepadatan 1400 hingga 2500 sel/mm². Ketika sel-sel berkurang jumlahnya, mereka menjadi lebih tipis dan melemah. Kornea kehilangan kejelasannya ketika kepadatan sel endotel dibawah 400-700 sel/mm² sehingga edema kornea mudah terjadi. Sel-sel endotel mengalami penurunan kepadatan dengan bertambahnya usia, peningkatan tekanan intraokular, setelah operasi intraokular dan peradangan (Sridhar, 2018).

2.3.3 Fisiologi Kornea

Kornea merupakan membran pelindung bagi iris, lensa, dan bagian mata lainnya yang berada di bawahnya. Kornea terdiri dari 5 lapisan yaitu epitel, *bowman layer*, stroma, *descement membrane*, dan endotel. Lapisan epitel dilapisi oleh *tear film* yang berperan dalam memperbaiki dan menghilangkan mikroiirregularitas dari permukaan epitel anterior. *Tear film* dipermukaan bersamaan dengan kornea yang berada dibawahnya membentuk 2/3 dari semua total kekuatan pembiasan pada mata. Lapisan *mucinous* yang terdapat pada *tear film* yang dihasilkan oleh sel goblet konjuktiva saling berinteraksi dengan *glyocalyx* epitel kornea. Kerusakan pada sel *glyocalyx* akibat trauma atau penyakit menyebabkan kerusakan dari keseimbangan *tear film* dan dapat mengakibatkan rusaknya sistem okular optikal. *Tear film* berfungsi untuk melindungi mata dari invasi mikroba, zat kimia, zat toksik, dan benda asing yang dapat menyebabkan kerusakan. *Tear film* juga berperan sebagai pemasok imunologi dan *growth factor* yang sangat berperan pada kesehatan epitel, proses proliferasi, dan perbaikan sel. Kerusakan pada epitel akan mengakibatkan edema kornea yang bersifat lokal dan sesaat, dimana akan menghilang apabila sel-sel epitel telah selesai beregenerasi (DelMonte dan Kim, 2011).

2.4 Trauma Kimia Mata

2.4.1 Definisi Trauma Kimia

Trauma kimia mata merupakan keadaan kegawatdaruratan mata yang memerlukan evaluasi dan perawatan secara segera dan intensif. Trauma kimia dapat disebabkan oleh substansi dengan pH yang tinggi (basa) atau yang rendah

(asam). Bahan kimia dikatakan bersifat asam apabila memiliki $\text{pH} < 7$ dan dikatakan bersifat basa bila mempunyai $\text{pH} > 7$. Trauma kimia mata biasanya disebabkan bahan-bahan kimia yang tersemprot atau terpecik pada wajah (Ilyas dan Yulianti, 2015).

2.4.2 Patogenesis Trauma Kimia

a. Trauma kimia asam

Trauma asam dipisahkan dalam dua mekanisme, yaitu ion hidrogen dan anion dalam kornea. Molekul hidrogen merusak permukaan okular dengan mengubah pH, sementara anion merusak dengan cara denaturasi protein, presipitasi dan koagulasi. Koagulasi protein mencegah penetrasi yang lebih lanjut dari zat asam sehingga trauma pada mata yang disebabkan oleh zat kimia asam cenderung lebih ringan daripada trauma yang diakibatkan oleh zat kimia basa (Ilyas dan Yulianti, 2015; Kosoko dkk., 2009).

Bahan kimia asam yang mengenai jaringan akan mengadakan denaturasi dan presipitasi dengan jaringan protein disekitarnya karena adanya daya *buffer* dari jaringan terhadap bahan asam. Bahan asam yang mengenai kornea juga mengadakan presipitasi sehingga terjadi koagulasi. Kerusakan akibat bahan asam biasanya hanya pada akan terjadi pada bagian superfisial saja dan dapat menyebabkan seluruh epitel kornea terlepas (Ilyas dan Yulianti, 2015).

b. Trauma kimia basa

Zat kimia basa menembus lebih dalam daripada asam. Ion hidroksil menyebabkan saponifikasi asam lemak dalam membran sel yang menyebabkan gangguan sel. Setelah sel epitel terganggu, basa akan menembus lebih cepat ke jaringan yang lebih dalam menghancurkan proteoglikan dan matriks kolagen. Jika zat basa mencapai fibril kolagen dari *trabecular meshwork*, jaringan parut akan terbentuk dan menyebabkan terhambatnya aliran akuos humor yang menjadi penyebab terjadinya glaukoma sekunder. Zat alkali yang kuat menembus ke dalam ruang anterior dan menyebabkan peradangan luas pada iris, lensa, dan badan siliaris (Ramponi, 2017).

Trauma akibat bahan kimia basa akan memberikan akibat yang sangat parah pada mata. Zat kimia basa bersifat lipofilik dan menembus mata lebih cepat daripada asam. Basa akan menembus dengan cepat ke kornea, bilik mata depan dan sampai pada jaringan retina. Proses yang terjadi disebut nekrosis *liquefactive*. Bahan alkalis soda dapat menembus ke dalam bilik mata depan dalam waktu 7 detik (James, 2003; Lubis, 2014).

2.4.3 Klasifikasi derajat keparahan

Trauma kimia mata yang parah seringkali tidak terlihat, oleh karena itu sistem klasifikasi trauma kimia mata diperlukan untuk memandu pemeriksaan, mendokumentasikan temuan, dan menentukan perawatan yang sesuai. Trauma kimia mata diklasifikasikan sesuai dengan derajat keparahan yang ditimbulkan akibat bahan kimia penyebab trauma. Berbagai sistem klasifikasi trauma kimia mata telah banyak diusulkan, klasifikasi yang secara umum digunakan untuk menilai gejala klinis dan prognosis trauma kimia mata adalah (Singh dkk., 2013):

a. Klasifikasi Hughes

- 1) Ringan: Erosi epitel kornea, kornea sedikit kabur, tidak ada nekrosis iskemik konjungtiva atau sklera.
- 2) Sedang: Opasitas kornea mengaburkan detail iris, nekrosis iskemik yang minimal di konjungtiva dan sklera.
- 3) Berat: Garis pupil kabur, iskemik nekrosis konjungtiva atau sclera yang signifikan.

b. Klasifikasi Thoft

- 1) Grade 1: Kerusakan epitel kornea, tidak ada iskemik
- 2) Grade 2: Kornea kabur, tapi iris masih bias terlihat, iskemik kecil dari 1/3 limbus
- 3) Grade 3: Epitel kornea hilang total, stroma kabur sehingga iris juga terlihat kabur, iskemik sepertiga sampai setengah limbus
- 4) Grade 4: Kornea opak, iskemik lebih dari setengah limbus

2.4.4 Diagnosis

Trauma kimia pada mata merupakan kasus gawat darurat sehingga upaya diagnosis awal dilakukan dengan anamnesis singkat. Pemeriksaan fisik yang cermat dan menyeluruh harus ditunda setelah dilakukan irigasi yang cukup hingga pH mata kembali netral. Setelah dilakukan irigasi, dilakukan pemeriksaan dengan seksama untuk melihat kejernihan dan integritas kornea, iskemia limbus, dan tekanan intraokular. Pemeriksaan dapat dilakukan dengan pemberian anestesi topikal. Pada pemeriksaan fisik dan oftalmologi dapat dijumpai adanya defek epitel kornea dari yang ringan berupa keratitis puntata sampai kerusakan seluruh epitel (Ilyas dan Yulianti, 2015; Lubis, 2014).

2.4.5 Penatalaksanaan

Trauma kimia pada mata merupakan kasus kegawatdaruratan mata yang membutuhkan tatalaksana sesegera mungkin. Penatalaksanaan berdasarkan fase lamanya trauma kimia dapat dibagi menjadi (Singh dkk., 2013):

a. Fase kejadian (*immediate*)

Tindakan pada fase kejadian ditujukan untuk menghilangkan zat kimia yang mengenai mata sebersih mungkin. Tindakan yang dilakukan adalah dengan melakukan irigasi mata sesegera mungkin. Irigasi langsung dengan cairan pada permukaan mata direkomendasikan secara universal untuk meminimalkan potensi cedera mata lebih lanjut. Irigasi harus dilakukan minimal 30 menit dengan menggunakan 1-3 liter cairan hingga pH permukaan mata kembali normal. PH harus diperiksa setiap 15-20 menit selama irigasi dilakukan. Cairan yang dapat digunakan untuk irigasi diantaranya ialah air, *normal saline*, *Ringer's lactate*, *phosphate buffer*, dan *Diphoterine*. Air keran yang bersih dapat digunakan dalam situasi darurat ketika tidak ada larutan fisiologis yang tersedia. Irigasi dengan volume besar dapat mengurangi keparahan luka bakar pada mata dan mempersingkat waktu penyembuhan (Sharma dkk., 2018).

b. Fase akut (sampai hari ke-7)

Tujuan tindakan pada fase ini adalah mencegah terjadinya penyulit dengan prinsip sebagai berikut:

- 1) Mempercepat proses reepitelisasi kornea
 - 2) Mengontrol tingkat peradangan
 - 3) Mencegah infeksi sekunder
 - 4) Mencegah peningkatan TIO
 - 5) Suplemen/antioksidan
 - 6) Tindakan pembedahan
- c. Fase pemulihan dini (hari ke 7-21)

Tujuan tindakan pada fase ini adalah membatasi penyulit lanjut setelah fase akut. Yang menjadi masalah adalah:

- 1) Hambatan reepitelisasi kornea
 - 2) Gangguan fungsi kelopak mata
 - 3) Hilangnya sel goblet
 - 4) Ulserasi stroma yang dapat menjadi perforasi kornea
- d. Fase pemulihan akhir (setelah hari ke-21)

Tujuan pada fase ini adalah rehabilitasi fungsi penglihatan dengan prinsip:

- 1) Optimalisasi fungsi jaringan mata (terutama kornea dan lensa) untuk penglihatan.
- 2) Pembedahan jika sampai fase pemulihan akhir reepitelisasi tidak juga sukses, maka sangat penting untuk dilakukan operasi.

2.4.6 Komplikasi

Komplikasi trauma mata bergantung pada berat ringannya trauma dan jenis trauma yang terjadi. Komplikasi yang dapat terjadi pada kasus trauma kimia pada mata adalah sebagai berikut (Drake dkk., 2012; Lubis, 2014).

- a. Simblefaron adalah adhesi antara konjungtiva palpebra dan konjungtiva bulbi. Gejala yang timbul ialah gerak mata terganggu, diplopia, lagofthalmus, dan terganggunya penglihatan.
- b. Kornea keruh, edema, neovaskuler akibat adanya denaturasi protein dan kerusakan pada struktur kornea akibat zat kimia.
- c. Sindroma mata kering.

- d. Katarak traumatik, sering terjadi pada trauma basa daripada trauma asam akibat sifat penetrasi zat basa yang lebih dalam menyebabkan peningkatan pH cairan akuos dan menurunkan kadar glukosa serta askorbat.
- e. Glaukoma sudut tertutup yang terjadi akibat terbentuknya sumbatan pada drainase cairan *aqueous humour*
- f. Entropion dan phthisis bulbi.

2.5 Defek Epitel Kornea

2.5.1 Definisi dan Prevalensi

Defek epitel kornea, juga dikenal sebagai abrasi kornea, didefinisikan sebagai hilangnya lapisan epitel permukaan kornea. Defek epitel kornea adalah cedera mata yang umum terjadi pada semua kelompok umur. Defek epitel kornea sangat umum terjadi di tempat kerja, dengan kejadian tahunan 15 per 1000 karyawan di pekerja AS. (Domingo, 2020). Sekitar 10% dari kunjungan ke unit gawat darurat mata mengalami defek epitel kornea. Dalam sebuah penelitian yang dilakukan oleh Alotaibi dkk. 19,6% (277 pasien dari 1422) pasien yang mengunjungi gawat darurat oftalmologi di Riyadh, Arab Saudi dalam satu bulan ditemukan memiliki defek epitel kornea traumatis. Dilaporkan juga bahwa defek epitel kornea adalah kondisi medis umum yang sering dijumpai oleh dokter layanan primer dan merupakan penyebab utama rujukan ke dokter mata (Al-Saleh dan Alfawaz, 2018).

2.5.2 Etiologi

Defek epitel kornea dapat terjadi karena berbagai hal (Queen, 2019).

- a. Trauma mekanis (goresan kuku, tepi lensa kontak, paparan bahan kimia, dll).
- b. Paparan ultraviolet (pengelasan, paparan sinar matahari yang lama).
- c. Penurunan produksi air mata (karena efek samping dari obat topikal atau sistemik, sindrom Sjogren, defisiensi vitamin A, dll).
- d. Defisiensi sel induk limbal (kegagalan untuk meregenerasi sel epitel setelah riwayat operasi mata, degenerasi okular autoimun, dll).
- e. Penyalahgunaan anestesi topikal.

f. Infeksi (bakteri dan organisme lain dapat menyerang kornea melalui epitel).

2.5.3 Gejala

Defek epitel kornea ditandai dengan nyeri mata akut, berair, mata merah, penglihatan kabur, dan fotofobia yang memengaruhi kualitas hidup pasien (Al-Saleh dan Alfawaz, 2018). Gejala berupa rasa sakit dan sensasi benda asing biasanya dapat diredakan dengan penggunaan anestesi topikal (Queen, 2019).

2.5.4 Patofisiologi Defek Epitel akibat Trauma Kimia

Epitel kornea berfungsi sebagai penghalang untuk melindungi mata dari agen eksternal seperti mikroba dan bahan kimia serta untuk menjaga transparansi kornea. Zat kimia menyebabkan kerusakan komponen seluler, denaturasi dan degradasi jaringan kolagen, serta pelepasan mediator inflamasi dengan hidrolisis protein intraseluler dan ekstraseluler (Ustaoglu dkk., 2017). Respons inflamasi akibat cedera dan infeksi menginduksi pengeluaran berbagai sitokin dan kemokin. TNF- α , salah satu sitokin proinflamasi, berkontribusi terhadap peradangan mata yang terkait dengan trauma mata, infeksi, dan mata kering. Peradangan mata telah terbukti mempengaruhi struktur dan fungsi kornea (Kimura dkk., 2008).

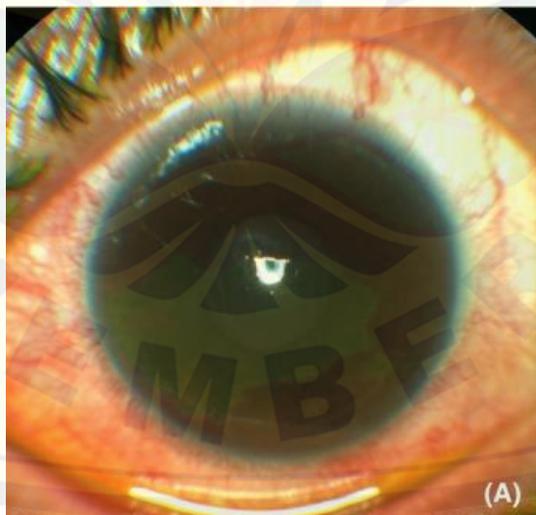
Pembentukan *tight junctions* (TJs) antara sel-sel epitel yang berdekatan pada membran plasma apikal menimbulkan hambatan fisik dan fungsional dari epitel kornea. *Adherens junctions* (AJs) diantara sel-sel epitel memainkan peran penting dalam pembentukan TJ. Komponen protein TJ diantaranya adalah *zonula occludens* (ZO-1, ZO-2, dan ZO-3), *occludin*, *claudin*, dan molekul *adhesi junctional* (JAMs), sedangkan AJs terdiri dari *cadherin* dan *catenin* (*a-catenin*, *b-catenin*, p120 *catenin*). Kedua komponen AJ dan TJ terkait erat dengan sitoskeleton aktin. ZO-1, *occludin*, *claudin*, *E cadherin*, dan *b-catenin* telah terdeteksi di epitel kornea dan diperkirakan menentukan fungsi barrier kornea (Kimura dkk., 2008).

TNF- α menurunkan ZO-1 pada perbatasan sel-sel epitel kornea dengan downregulasi ekspresi ZO-1, mengaktifkan pensinyalan NF- κ B, mengaktifkan pembentukan serat tegangan aktin, dan fosforilasi *myosin light chain* (MLC) yang

semuanya dapat mengganggu fungsi *barrier* epitel kornea (Kimura dkk., 2008). TNF- α dan IL-1 juga merangsang produksi MMP oleh sel-sel epitel. MMP-9 melisiskan berbagai substrat yang berbeda termasuk komponen membran basal epitel kornea dan protein *tight junction* (seperti *zonula occludens-1* [ZO-1] dan *occludin*), yang membahayakan integritas penghalang epitel kornea. Proteinolitik pada okcludin mempercepat hilangnya epitel kornea superfisial sehingga meningkatkan permeabilitas epitel kornea, meningkatkan deskuamasi epitel kornea serta ketidakteraturan permukaan kornea (Meloni dkk., 2011).

2.5.5 Diagnosis

Diagnosis defek epitel kornea dapat dikonfirmasi dengan memvisualisasikan kornea di bawah cahaya kobalt-biru setelah ditetesi larutan fluoresensi yang akan menyebabkan daerah defek tampak hijau seperti yang terlihat pada Gambar 2.4. Jika pemeriksaan terhalang oleh rasa sakit, penggunaan anestesi topikal (mis. *Proparacaine*, *tetracaine*) mungkin diperlukan (Wilson dan Last, 2004).



Gambar 2.4 Defek epitel kornea setelah pewarnaan menggunakan larutan fluoresensi (Sumber: Tripathy, 2019)

Defek epitel kornea dapat diketahui dengan meneteskan zat warna fluoresensi yang dapat merubah area defek menjadi hijau. Dasar dari uji fluoresensi adalah bahwa zat warna fluoresin akan berubah berwarna hijau pada

media alkali. Kerusakan epitel kornea mata menjadikan kornea bersifat lebih basa sehingga zat warna fluoresensi dapat berubah warna dari kuning menjadi hijau (Ilyas dan Yulianti, 2015).

2.5.6 Tatalaksana

Tujuan pengobatan pada defek epitel kornea adalah untuk menghilangkan rasa sakit, mencegah superinfeksi bakteri, dan mempercepat penyembuhan. Pilihan pengobatan diantaranya adalah analgesik oral, serta agen topikal, seperti antibiotik, obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID), dan siklopegik (Wipperman dan Dorsch, 2013).

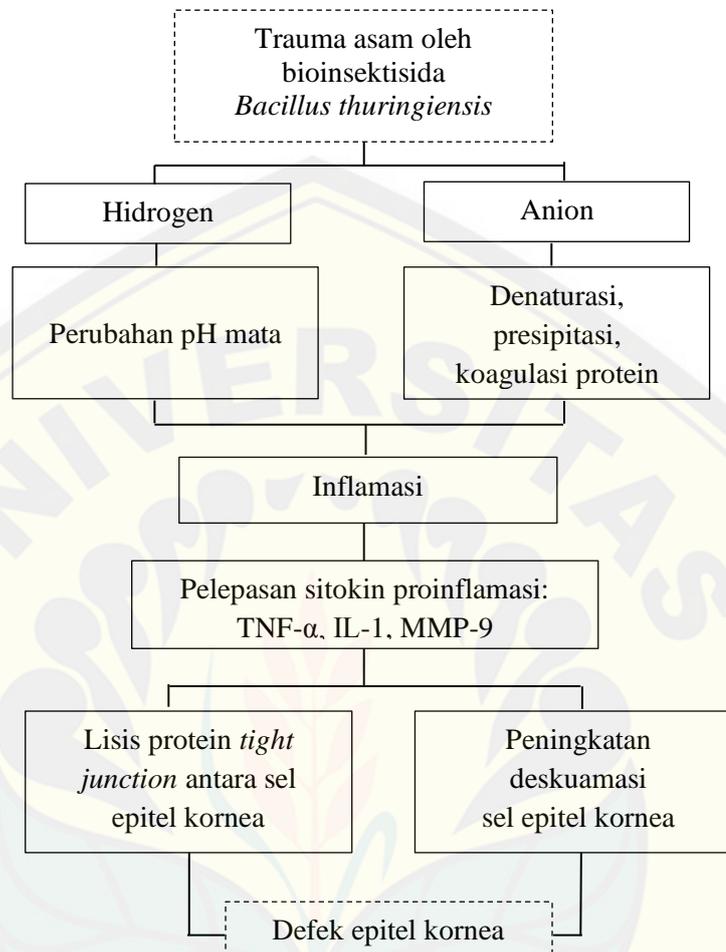
2.5.7 Prognosis

Defek kornea yang paling sederhana akan sembuh dalam kurun waktu 24 hingga 48 jam. Jika defek menembus kornea lebih dalam, proses penyembuhan dapat membutuhkan waktu lebih lama yakni 24 hingga 72 jam (Wilson dan Last, 2004).

2.5.8 Komplikasi

Meskipun biasanya sembuh tanpa sekuel, komplikasi okuler dapat terjadi termasuk ulkus kornea, keratitis bakteri, fibrosis, dan *recurrent erosion syndrome* jika tidak dikelola dengan benar. Defek epitel kornea dapat menjadi infeksi sekunder, terutama dalam kasus-kasus yang melibatkan pekerjaan pertanian sehingga menyebabkan keratitis bakteri. Keratitis bakteri dapat berkembang menjadi ulkus kornea jika tidak diobati dan berpotensi kehilangan penglihatan secara permanen (Wipperman dan Dorsch, 2013).

2.7 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 2.5 Kerangka konsep penelitian

Keterangan:

----- : diteliti

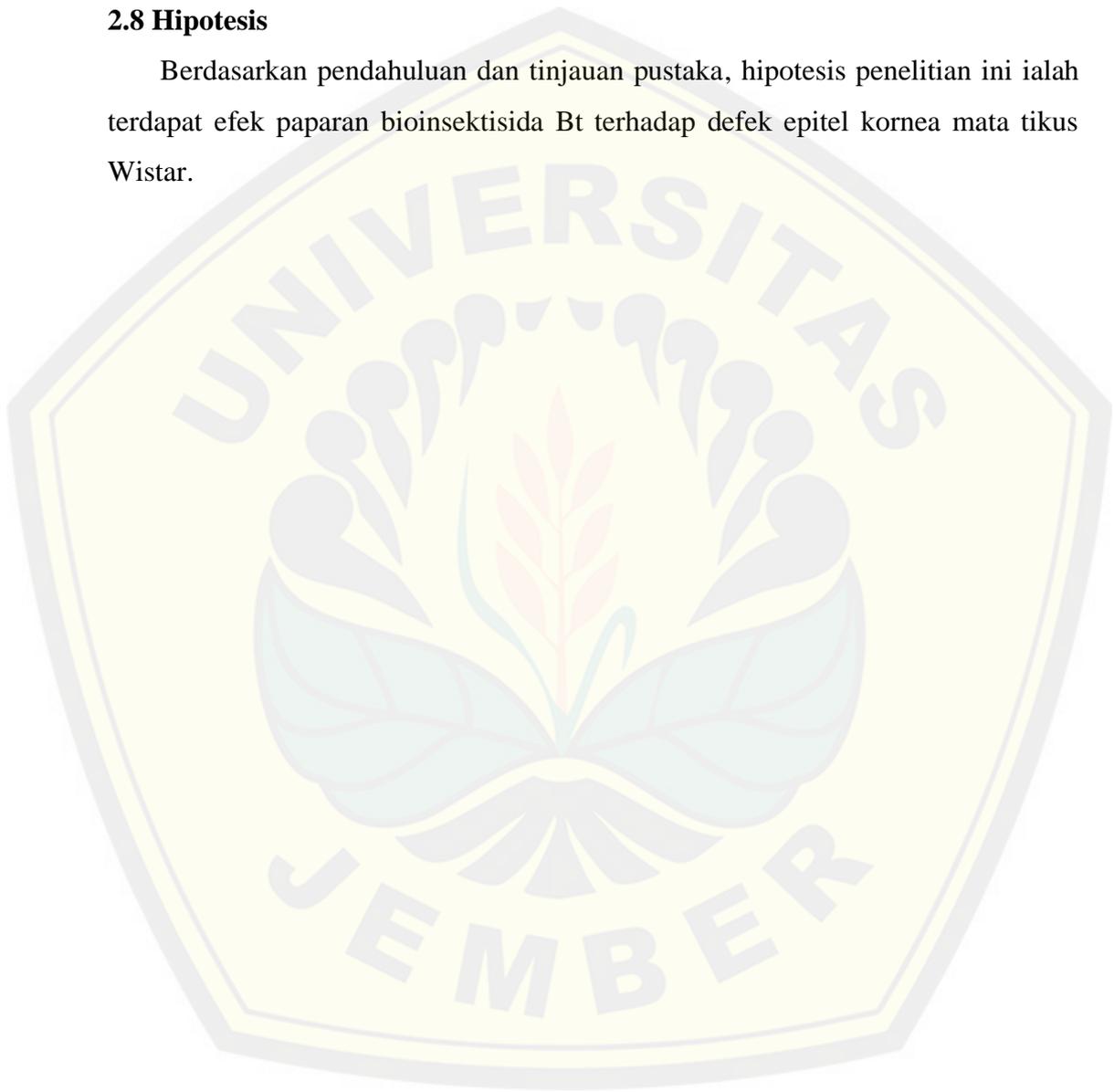
_____ : tidak diteliti

Zat kimia akibat paparan bioinsektisida Bt akan menyebabkan trauma kimia asam pada mata dengan hasil perhitungan pH larutan bioinsektisida Bt yakni 4,2-4,4. Molekul hidrogen merusak permukaan okular dengan mengubah pH, sementara anion merusak dengan cara denaturasi protein, presipitasi dan koagulasi sehingga akan terjadi kerusakan komponen seluler dan pelepasan mediator inflamasi. Respons inflamasi akibat cedera pada kornea akan menginduksi pengeluaran berbagai sitokin dan kemokin. Pengeluaran sitokin tersebut akan menginduksi terjadinya proteolitik pada komponen *tight junction*

sel-sel epitel yang akan mempercepat hilangnya epitel kornea superfisial, meningkatkan deskuamasi epitel kornea, dan ketidakraturan permukaan kornea sehingga terjadi defek epitel kornea.

2.8 Hipotesis

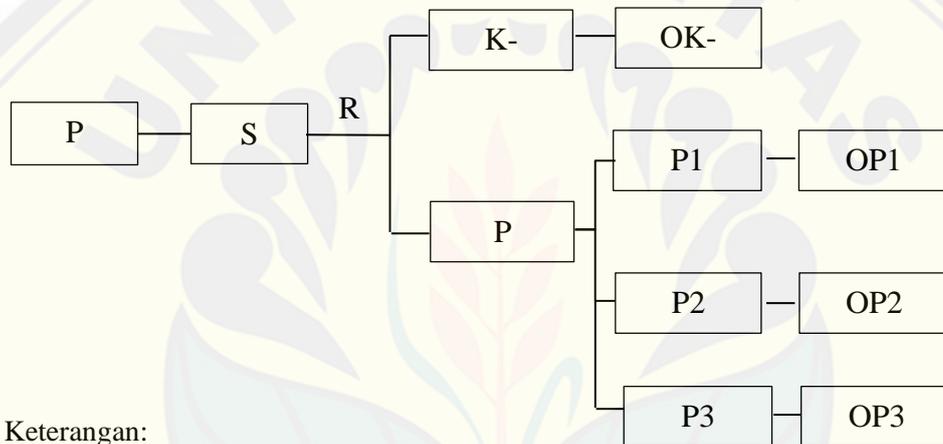
Berdasarkan pendahuluan dan tinjauan pustaka, hipotesis penelitian ini ialah terdapat efek paparan bioinsektisida Bt terhadap defek epitel kornea mata tikus Wistar.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan desain penelitian *true experimental* jenis *post-test only control group*. Dalam penelitian ini terdapat dua kelompok yang masing-masing dipilih secara acak dengan kelompok pertama diberi perlakuan sedangkan kelompok lain tidak. Skema rancangan penelitian ini ditunjukkan pada gambar.



Keterangan:

- P : Populasi
- S : Sampel
- R : Randomisasi
- P : Kelompok perlakuan
- K- : Kelompok kontrol negatif (tikus dipapar dengan akuabides)
- P1 : Kelompok perlakuan 1 (tikus dipapar dengan larutan bioinsektisida Bt dengan konsentrasi 8 g/L)
- P2 : Kelompok perlakuan 2 (tikus dipapar dengan larutan bioinsektisida Bt dengan konsentrasi 10 g/L)
- P3 : Kelompok perlakuan 3 (tikus dipapar dengan larutan bioinsektisida Bt dengan konsentrasi 12 g/L)
- OK- : Defek kornea pada kontrol negatif
- OP1 : Defek kornea pada perlakuan 1
- OP2 : Defek kornea pada perlakuan 2
- OP3 : Defek kornea pada perlakuan 3

3.2 Sampel Penelitian

3.2.1 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

a. Kriteria inklusi sampel penelitian adalah sebagai berikut.

- 1) Tikus *Rattus Novergicus* strain Wistar jantan.
- 2) Sehat (ditandai dengan tidak ada eksudat pada mata, mata jernih dan bergerak aktif).
- 3) Umur 10-12 minggu.
- 4) Berat 150-250 gram.

b. Kriteria eksklusi adalah tikus yang mati sebelum randomisasi dan selama perlakuan.

3.2.2 Jumlah Sampel

Sampel dipilih dengan menggunakan teknik *random allocation* yang kemudian dibagi menjadi 4 kelompok. Pada penelitian ini, penghitungan besar sampel penelitian dengan menggunakan rumus Federer.

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

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

$$(n - 1)3 \geq 15$$

$$n - 1 \geq 5$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

n= besar replikasi

t= banyaknya kelompok

Menurut perhitungan menggunakan rumus Federer, besar replikasi yang diperlukan untuk setiap kelompok adalah 6 ekor. Oleh karena itu, total sampel yang digunakan pada penelitian ini yakni berjumlah 24 ekor tikus *Rattus novergicus* strain Wistar.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan, pemberian perlakuan, dan pengukuran defek epitel kornea pada tikus. Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari - Februari 2020.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah konsentrasi larutan bioinsektisida Bt yang dipapar pada kornea mata tikus.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah defek epitel kornea mata tikus setelah tujuh hari perlakuan.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol penelitian ini adalah:

- a. Jenis Tikus
- b. Usia Tikus
- c. Berat Badan Tikus
- d. Adaptasi dan pemeliharaan tikus
- e. Waktu Memulai Perlakuan
- f. Lama Perlakuan

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*

Larutan bioinsektisida Bt didapatkan secara komersial dari PT. Nufarm Indonesia dengan merk dagang *Dipel WG* yang memiliki komposisi berupa bakteri *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurtstaki* strain ABTS-351 sebanyak 54% dan Natrium Sulfat sebanyak 0,1%. Konsentrasi yang dipakai dalam penelitian ini yakni 8 g/L, 10 g/L, dan 12 g/L. Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi

sebesar 8, 10, dan 12 kali lipat dari konsentrasi standar yang dianjurkan untuk digunakan oleh petani. Penginduksian trauma dengan bioinsektisida ini dilakukan dengan meneteskan 3 mL larutan bioinsektisida Bt sesuai konsentrasi pada kornea kanan mata tikus selama 120 detik dan dilanjutkan dengan penutupan kelopak mata tikus selama 30 menit. Penginduksian trauma dilakukan setiap hari sekali selama 7 hari. Skala pengukuran ini adalah ordinal.

3.5.2 Defek Epitel Kornea Mata

Defek kornea atau abrasi kornea merupakan hilangnya sel-sel pada lapisan epitel kornea. Defek kornea didapatkan dengan memvisualisasikan kornea di bawah cahaya kobalt-biru setelah ditetesi larutan fluoresensi yang akan menyebabkan daerah defek tampak hijau. Defek kornea dinilai setelah rangkaian penginduksian trauma yakni pada hari ke-7. Pewarnaan fluoresensi adalah alat yang paling membantu untuk menilai defek kornea. Larutan pewarna fluoresensi bersifat tidak beracun dan disetujui untuk aplikasi diagnostik oftalmik rutin. Larutan pewarna fluoresensi ini bila menempel pada epitel kornea yang defek dan dilihat dengan bantuan cahaya *cobalt blue* akan memberikan warna hijau karena jaringan epitel yang rusak bersifat lebih basa (Ilyas dan Yulianti, 2015). Selanjutnya, defek epitel kornea dilihat menggunakan bantuan kaca pembesar dan ditentukan apakah positif terdapat defek atau negatif tidak ada defek (Kinirons dan Ellis, 2016). Skala pengukuran defek epitel ini adalah nominal.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: pipet tetes, *stopwatch*, *cobalt blue penlight*, kamera, penggaris, *loop*.

3.6.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain:

- a. Anestesi hewan coba: ketamin hidroklorida.

- b. Larutan bioinsektisida Bt dengan nama dagang *Dipel WG* dan larutan *buffer phosphate*.
- c. Pengukuran luka epitel kornea: larutan fluoresensi, akuabides.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Uji Kelayakan Etik

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Rattus novergicus* strain wistar yang dalam pelaksanaannya harus mendapat sertifikat kelayakan etik, sehingga perlu diajukan ke komisi etik kedokteran. Prosedur ini diharapkan akan menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan coba, dan memperjelas tujuan serta kewajiban peneliti.

3.7.2 Aklimatisasi dan Pemeliharaan Hewan Coba

Sebelum hewan uji diberikan perlakuan, hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk penyesuaian lingkungan, mengontrol kesehatan, berat badan, dan makanannya. Hewan uji diberikan makanan *pellet* standar dan air minum.

3.7.3 Pemilihan dan Pembagian Hewan Coba

Jumlah hewan coba yang dipakai adalah 24 ekor tikus *Rattus novergicus* strain wistar yang kemudian dibagi menjadi 4 kelompok secara alokasi randomisasi dengan kriteria sehat, berumur 10-12 minggu bulan, dan memiliki berat badan 150-250 gram. Usia tikus ialah kurang lebih 3 bulan. Ditentukan usia ± 3 bulan karena pada usia tersebut secara fisiologis dapat disetarakan dengan kondisi orang dewasa. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini ialah tikus yang berjenis kelamin jantan karena relatif lebih kuat, tidak terpengaruh oleh kondisi hormonal, dan tidak terganggu oleh kehamilan. Berat badan hewan coba yang dipilih ialah 150-250 gram karena memudahkan peneliti untuk memberi perlakuan terhadap hewan coba. Pembagian kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.1. Dalam pemilihan dan pemeliharaan hewan coba ini menganut prinsip 3R yakni *replacement*, *reduction*, dan *refinement*.

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Bentuk Perlakuan
Kelompok Kontrol(-)	Pemaparan menggunakan akuabides dengan meneteskan 3 mL akuabides pada kornea kanan mata tikus selama 120 detik dilanjutkan penutupan mata tikus selama 30 menit. Penelitian dilakukan sekali sehari selama tujuh hari.
Kelompok P1	Pemaparan larutan bioinsektisida Bt konsentrasi 8 g/L dengan meneteskan 3 mL larutan pada kornea kanan mata tikus selama 120 detik dilanjutkan penutupan mata tikus selama 30 menit. Penelitian dilakukan sekali sehari selama tujuh hari.
Kelompok P2	Pemaparan larutan bioinsektisida Bt konsentrasi 10 g/L dengan meneteskan 3 mL pada kornea kanan mata tikus selama 120 detik dilanjutkan penutupan mata tikus selama 30 menit. Penelitian dilakukan sekali sehari selama tujuh hari.
Kelompok P3	Pemaparan larutan bioinsektisida Bt konsentrasi 12 g/L dengan meneteskan 3 mL pada kornea kanan mata tikus selama 120 detik dilanjutkan penutupan mata tikus selama 30 menit. Penelitian dilakukan sekali sehari selama tujuh hari.

3.7.4 Pembuatan Larutan Bioinsektisida Bt

Larutan bioinsektisida Bt dibuat di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan mencampurkan 0,16 g bioinsektisida Bt pada 20 mL air untuk konsentrasi 8 g/L, 0,2 gr bioinsektisida Bt pada 20 mL air untuk konsentrasi 10 g/L, dan 0,24 g bioinsektisida Bt pada 20 mL air untuk konsentrasi 12 g/L. Setelah itu, larutan campuran dihomogenkan memakai *magnetic stirrer* dengan kecepatan 200 rpm selama 1 menit agar larutan tercampur rata. Skema pembuatan larutan bioinsektisida Bt dapat dilihat pada Lampiran 3.1.

3.7.5 Anestesi Hewan Coba

Tikus dianestesi menggunakan ketamin hidroklorida (75-100 mg/KgBB) secara intraperitoneal menggunakan jarum 26 G (Giroux dkk., 2015). Prosedur anestesi tikus dapat dilihat pada Lampiran 3.2. Anestesi dilakukan selama tujuh hari perlakuan sebelum penginduksian trauma. Perlakuan dilakukan setelah efek anestesi tercapai.

3.7.6 Pemaparan Kornea Tikus oleh Bioinsektisida Bt

Pemaparan larutan bioinsektisida Bt dilakukan setelah anestesi tercapai. Pemaparan bioinsektisida Bt dilakukan dengan meneteskan 3 mL larutan bioinsektisida Bt sesuai konsentrasi pada kornea kanan mata tikus selama 120 detik dan dilanjutkan dengan penutupan kelopak mata selama 30 menit. Pemaparan dilakukan setiap hari selama 7 hari. Prosedur pemaparan kornea tikus dapat dilihat pada Lampiran 3.3.

3.7.7 Pengecekan Defek Kornea Mata Tikus

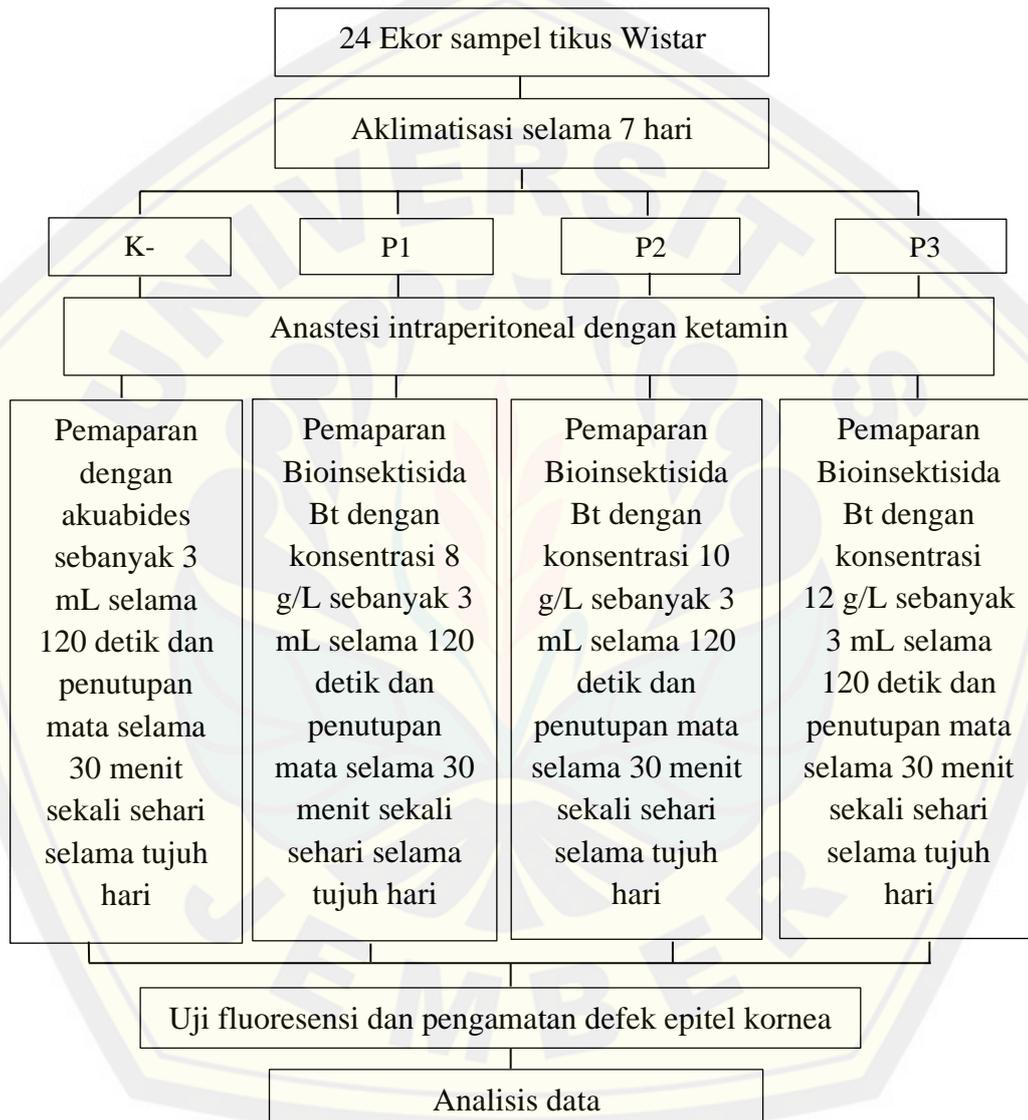
Pengecekan defek kornea dilakukan dengan uji fluoresensi pada hari ke-7, setelah perlakuan. Uji fluoresensi adalah tes dengan menggunakan pewarna oranye (fluoresensi) dan cahaya biru yang dapat mendeteksi defek pada epitel kornea. Zat warna fluoresensi diteteskan pada mata yang ingin diperiksa sebanyak 1 tetes. Setelah diteteskan dengan zat warna fluoresen, dilakukan irigasi dengan menggunakan akuabides sampai air mata tidak bewarna hijau lagi. Defek kornea positif bila hasil uji fluoresensi kornea terlihat berwarna hijau hal ini karena zat warna fluoresen bila menempel pada epitel kornea yang defek akan memberikan warna hijau karena jaringan epitel yang rusak bersifat lebih basa (Ilyas dan Yulianti, 2015). Pemeriksaan defek epitel kornea dilakukan oleh dua orang pengamat. Skema pemeriksaan defek epitel dapat dilihat pada Lampiran 3.4.

3.8 Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini ialah analisis bivariat yang bertujuan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dan terikat yang diteliti. Data yang telah didapat dianalisis secara bivariat menggunakan uji nonparametrik *Chi-Square* dengan program SPSS 24. Nilai kemaknaan dalam penelitian ini adalah $p < 0,05$ dengan interval kepercayaan 95% yang menunjukkan adanya keterkaitan antara variabel bebas dan terikat Apabila syarat uji *Chi-Square* tidak terpenuhi, dilakukan penggabungan sel dan uji *Fisher's Exact*.

3.9 Alur Penelitian

Penelitian ini dilakukan sesuai dengan tahapan penelitian yang terdiri atas persiapan, perlakuan, pengambilan data, analisis data, pembahasan, dan penarikan kesimpulan. Alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa tidak terdapat efek yang signifikan antara paparan bioinsektisida Bt terhadap defek epitel kornea mata tikus Wistar.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

- a. Perlu adanya penelitian lebih lanjut menggunakan larutan bioinsektisida Bt dengan waktu pengamatan yang lebih lama agar mendapatkan efek paparan secara kronis.
- b. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai efek paparan bioinsektisida Bt pada organ lain selain mata, seperti pada kulit.
- c. Masyarakat terutama para petani dapat melanjutkan menggunakan bioinsektisida Bt karena terbukti tidak menyebabkan defek epitel kornea sehingga bioinsektisida Bt aman terhadap mata namun penggunaan APD untuk melindungi bagian tubuh lain tetap perlu dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Saleh, G. S. dan A. M. Alfawaz. 2018. Management of traumatic corneal abrasion by a sample of practicing ophthalmologists in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Ophthalmology: Official Journal of the Saudi Ophthalmological Society*. 32(2):105–109.
- Avetisov, S. É., T. N. Safonova, I. A. Novikov, L. S. Pateiuk, dan I. G. Griboedova. 2014. [Ocular surface acidity and buffering system (by studying the conjunctival sac)]. *Vestnik Oftalmologii*. 130(5):5–10.
- Bahagiawati, B. 2002. Penggunaan bacillus thuringiensis sebagai bioinsektisida. *Buletin Agrobio*. 5(1):21–28.
- Baranowski, P., B. Karolewicz, M. Gajda, dan J. Pluta. 2014. Ophthalmic drug dosage forms: characterisation and research methods. *The Scientific World Journal*. 2014:1–14.
- Betz, F. S., B. G. Hammond, dan R. L. Fuchs. 2000. Safety and advantages of bacillus thuringiensis-protected plants to control insect pests. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 32(2):156–173.
- Bjorn, V., C. Soutar, K. Irsch, D. L. Guyton, A. M. Burrows, J. F. Cohn, R. A. Hicklin, Amioy Kumar, T. S. Mundra, Ajay Kumar, F. Min, J. Suo, S.-C. Zhu, Y. Li, dan M. Savvides. 2009. *Anatomy of Eyes*. Dalam Encyclopedia of Biometrics. Editor S. Z. Li dan A. Jain. Boston, MA: Springer US.
- Bravo, A., M. Soberón, dan S. S. Gill. 2005. *Bacillus Thuringiensis: Mechanisms and Use*. Comprehensive Molecular Insect Science. Elsevier.
- Dahlan, Sopiudin. 2014. Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan Edisi 6. Jakarta, Salmba Medika.
- DelMonte, D. W. dan T. Kim. 2011. Anatomy and physiology of the cornea. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 37(3):588–598.
- Djing, O. G. 2006. *Terapi Mata dengan Pijat dan Ramuan*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Domingo, E., M. Moshirfar, C. P. Zabbo. 2020. Corneal Abrasion. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532960/>. [Diakses pada 22 Oktober 2019]
- Drake, B., R. Paterson, G. Tabin, F. K. Butler, dan T. Cushing. 2012. Wilderness medical society practice guidelines for treatment of eye injuries and illnesses in the wilderness. *Wilderness & Environmental Medicine*. 23(4):325–336.
- Eghrari, A. O., S. A. Riazuddin, dan J. D. Gottsch. 2015. *Overview of the Cornea*. Dalam Progress in Molecular Biology and Translational Science. Elsevier.
- Giroux, M.-C., P. Hélie, P. Burns, dan P. Vachon. 2015. Anesthetic and pathological changes following high doses of ketamine and xylazine in sprague dawley rats. *Experimental Animals*. 64(3):253–260.
- Höfte, H. dan H. R. Whiteley. 1989. Insecticidal crystal proteins of bacillus thuringiensis. *Microbiological Reviews*. 53(2):242–255.
- Ilyas, S., dan Yulianti S.R. 2015. *Ilmu Penyakit Mata Edisi 5*. Jakarta: Balai Penerbit UI.
- James, Bruce. 2003. Lecture notes on ophthalmology. *Blackwell scientific*. 9th edition. (1)16:194-195.
- Kasumbogo, Untung. 2004. Manajemen Resistensi Pestisida Sebagai Penerapan Pengelolaan Hama Terpadu. Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- Kinirons, M. T. dan H. Ellis. 2016. *French's Index of Differential Diagnosis: An A-Z*. Boca Raton: CRC Press.
- Kimura, K., S. Teranishi, K. Fukuda, K. Kawamoto, dan T. Nishida. 2008. Delayed disruption of barrier function in cultured human corneal epithelial cells induced by tumor necrosis factor- α in a manner dependent on nf- κ b. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 49(2):565–571.
- Kimura, K., Y. Morita, T. Orita, J. Haruta, Y. Takeji, dan K.-H. Sonoda. 2013. Protection of human corneal epithelial cells from tnf- α -induced disruption

of barrier function by rebamipide. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 54(4):2752.

Kosoko, A., Q. Yui, dan O. Kosoko-Lasaki. 2009. Chemical ocular burns. *American journal of clinical medicine*. 6:(3)

Lubis, R.R. 2014. Trauma Kimia. Medan: Departemen Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara

Ludwig, P. E., M. J. Lopez, dan K.E. Sevensma. 2020. Anatomy, Head and Neck, Eye Cornea. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470340/>. [Diakses pada 22 Oktober 2019]

Mashige, K. 2016. Chemical and thermal ocular burns: a review of causes, clinical features and management protocol. *South African Family Practice*. 58(1):1–4.

Meloni, M., B. De Servi, D. Marasco, dan S. Del Prete. 2011. Molecular mechanism of ocular surface damage: application to an in vitro dry eye model on human corneal epithelium. *Molecular Vision*. 17:113–126.

Oesterlund, A., J. Thomsen, D. Sekimpi, J. Maziina, A. Racheal, dan E. Jørs. 2014. Pesticide knowledge, practice and attitude and how it affects the health of small-scale farmers in uganda: a cross-sectional study. *African Health Sciences*. 14(2):420.

Pawukir, E., & Mariyono, J. 2002. The Relationship Between Pesticides Use and Health Impact: A Case Study in Highlands of West Sumatera. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 9(3):126-136.

Queen , Joanna Hudson. 2019. Corneal Epithelial Defect. *American Academy of Ophthalmology*. [https://eyewiki.aaopt.org/Corneal Epithelial Defect](https://eyewiki.aaopt.org/Corneal_Epithelial_Defect) [Diakses pada 10 November 2019]

Ramponi, D. R. 2017. Chemical burns of the eye: *Advanced Emergency Nursing Journal*. 39(3):193–198.

- 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.
- Sanchi, Shilpi. dan Denis Bourguet. 2007. *Bacillus thuringiensis*: Applications in Agriculture and Insect Resistance Management - A Review. *Agronomy for sustainable Development*. 28:11-20
- Sharma, K., N. Mahato., dan Y. R. Lee. 2017. Systematic Study on Active Compunds as antibacterial and Antibiofilm agent in Aging Onions. *Journal of Food and Drug Analysis*. 26 :518-528.
- Sharma, Shilpi. dan Malik, Promina. 2012. Biopesticides: Types and Applications. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology, and Chemistry*. 1(4):508-515
- Sharma, N., M. Kaur, T. Agarwal, V. S. Sangwan, dan R. B. Vajpayee. 2018. Treatment of acute ocular chemical burns. *Survey of Ophthalmology*. 63(2):214–235.
- Sridhar, M. S. 2018. Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian Journal of Ophthalmology*. 66(2):190–194.
- Singh, P., M. Tyagi, Y. Kumar, K. K. Gupta, dan P. D. Sharma. 2013. Ocular chemical injuries and their management. *Oman Journal of Ophthalmology*. 6(2):83–86.
- Sitorius, R. S. 2018. *Buku Ajar Oftalmologi*. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. ISBN: 978-979-496-907-6
- Swadener, C. 1994. Bacillus thuringiensis. *Journal of Pesticides Reform*. 14(3): 13-20
- Then, C. dan A. Bauer-Pankus. 2017. Possible health impacts of bt toxins and residues from spraying with complementary herbicides in genetically

engineered soybeans and risk assessment as performed by the european food safety authority efsa. *Environmental Sciences Europe*. 29(1):1.

Tripathy, K. 2019. Documentation of corneal epithelial defects with a fluorescein angiographic imaging system. *Clinical Case Reports*. 7(9):1815–1816.

Ustaoglu, M., N. Solmaz, dan F. Onder. 2017. Ocular surface chemical injury treated by regenerating agent (rgta, cacicol20). *GMS Ophthalmology Cases*. 7:Doc28.

Valent BioSciences Corporation. 2015. Safety Data Sheet. Technology Way Libertyville. .

Whalon, M. E. dan B. A. Wingerd. 2003. Bt: mode of action and use. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 54(4):200–211.

Wilson, S. A. dan A. Last. 2004. Management of corneal abrasions. *American Family Physician*. 70(1):123–128.

Wilson, S. L., A. J. E. Haj., dan Y. Yang. 2012. Control of Scar Tissue Formation in the Cornea: Strategies in Clinical and Corneal Tissue Engineering. *Journal of Functional Biomaterials*. 3: 642-687.

Wipperman, J. L. dan J. N. Dorsch. 2013. Evaluation and management of corneal abrasions. *American Family Physician*. 87(2):114–120.

World Health Organization (WHO). 2008. Pesticides, children's health and the environment. WHO Training Package for the Health Sector, World Health Organization. Available at: <http://www.who.int/ceh>

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Prosedur Pembuatan Larutan Bioinsektisida Bt

Perhitungan bioinsektisida Bt dengan konsentrasi 8 g/L, 10 g/L dan 12 g/L, yaitu:

$$\begin{aligned} 8 \text{ g/L} &= 8 \text{ g}/1000 \text{ mL} \\ &= 0,16 \text{ g}/20 \text{ mL} \end{aligned}$$

$M \times V$	$= M \times V$
$M \times 20 \text{ mL}$	$= 8 \text{ g} \times 1000 \text{ ml}$
M	$= 0.1 \text{ g}/20 \text{ mL}$

$$\begin{aligned} 10 \text{ g/L} &= 10 \text{ g}/1000 \text{ mL} \\ &= 0,2 \text{ g}/20 \text{ ml} \end{aligned}$$

$M \times V$	$= M \times V$
$M \times 20 \text{ mL}$	$= 10 \text{ g} \times 1000 \text{ ml}$
M	$= 0,2 \text{ g}/20 \text{ mL}$

$$\begin{aligned} 12 \text{ g/L} &= 12 \text{ g}/1000 \text{ mL} \\ &= 0,24 \text{ g}/20 \text{ mL} \end{aligned}$$

$M \times V$	$= M \times V$
$M \times 20 \text{ mL}$	$= 12 \text{ g} \times 1000 \text{ ml}$
M	$= 0,24 \text{ g}/20 \text{ mL}$

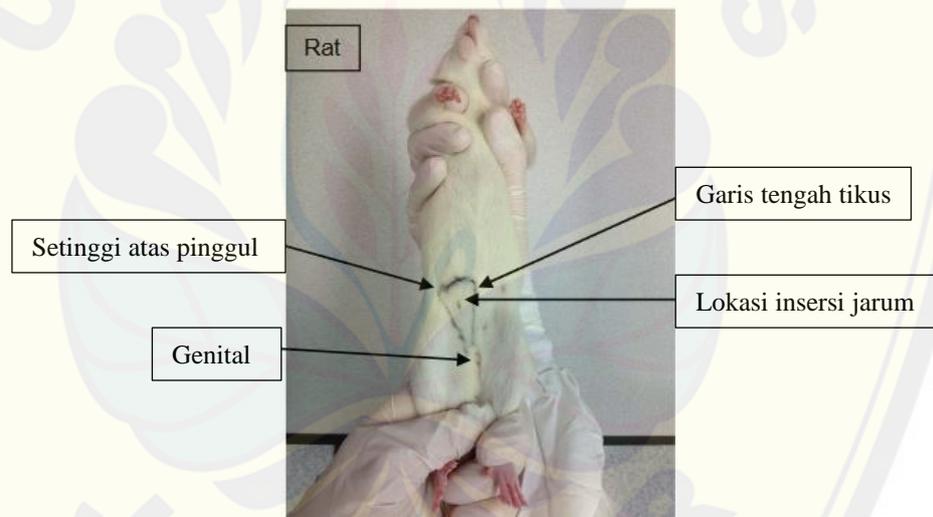
Pembuatan larutan bioinsektisida Bt merk *Dipel WG* adalah sebagai berikut:

1. Mengambil bioinsektisida Bt sebanyak 0,16 g, 0,2 g dan 0,24 g ditimbang menggunakan neraca ukur ohaus.
2. Setelah ditimbang, bioinsektisida Bt diletakan di *beaker glass* 100 mL dengan diberi label sesuai dengan konsentrasi.
3. Diberikan aquabidest 20 mL pada setiap konsentrasi di beaker glass.
4. Larutan bioinsektisida Bt 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 100 mL sesuai dengan label konsentarsi yang telah diberikan.

Lampiran 3.2 Prosedur Anestesi Tikus

Tikus diantestesi dengan cara sebagai berikut:

1. Pertama, membuat larutan anestesi menggunakan *Ketamine Hydrochloride* 10 % dengan dosis 80 mg/kgBB (dosis terapi 75-100 mg/kgBB).
2. *Ketamine* diambil menggunakan spuit 26 G sebanyak $\pm 0,2$ mL.
3. Tikus dipegang 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. Injeksi dilakukan dengan lubang jarum menghadap ke atas dan menusukkan pada *lower right quadrant* pada abdomen tikus dengan sudut 30-40°



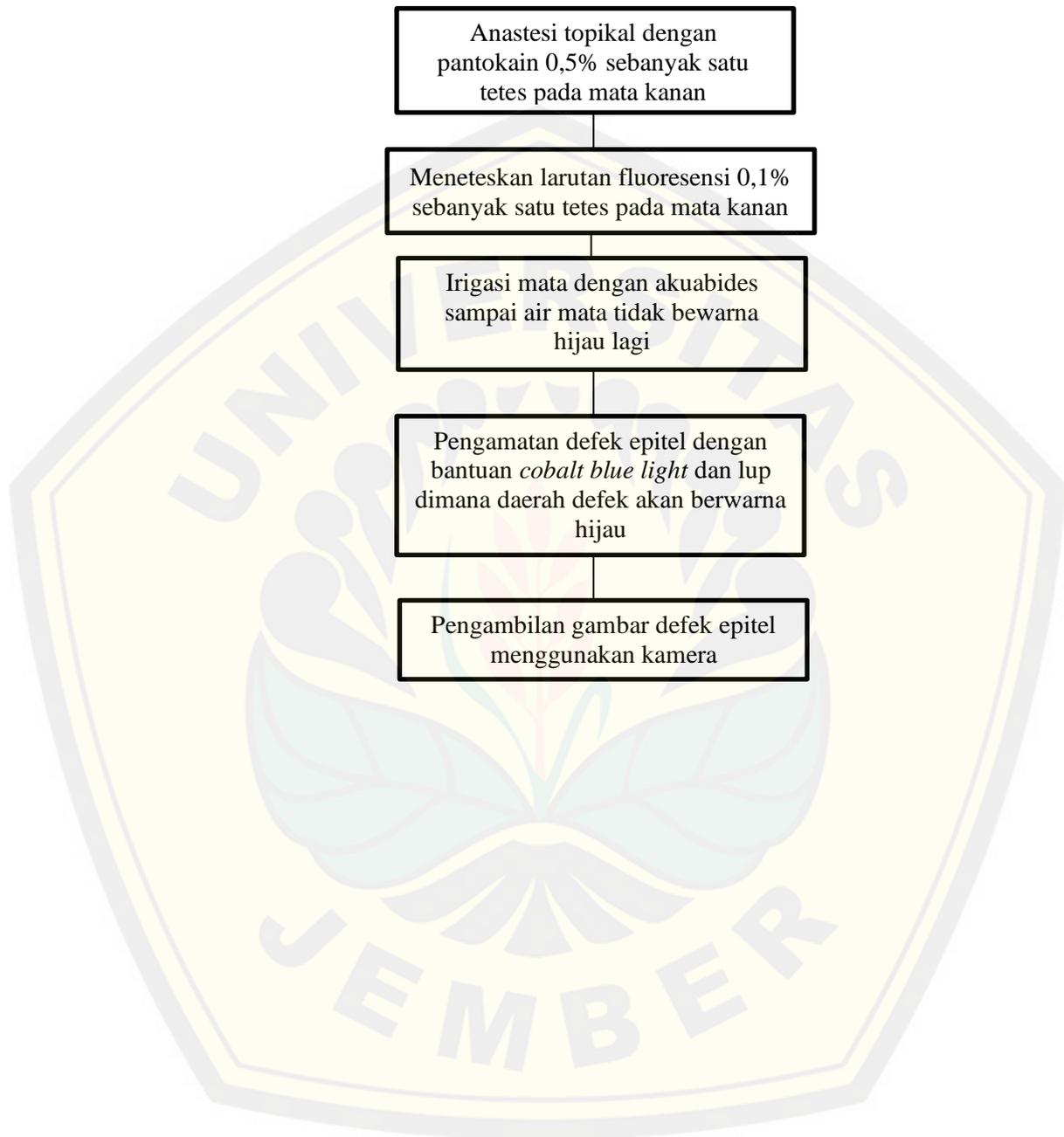
5. Setelah injeksi dilakukan, tikus diobservasi apakah terdapat tanda-tanda sakit atau tidak nyaman karena injeksi, seperti menjilati atau menggaruk daerah injeksi dan tikus membentuk postur membungkuk
6. 5 menit setelah injeksi dilakukan, hasil anestesi dievaluasi menggunakan refleks pedal, yaitu dengan mencubit regio metacarpal pada kaki belakang di antara jari telunjuk dan jari jempol tikus.
7. Apabila tikus tidak memberikan respon, penginduksian bioinsektisida Bt dapat dilakukan.

Lampiran 3.3 Prosedur Pemaparan Kornea Tikus oleh Larutan Bioinsektisida Bt

Pemaparan larutan bioinsektisida Bt dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Tikus dianestesi dengan langkah-langkah sesuai prosedur yang telah ada.
2. Setelah efek anestesi tercapai, dilakukan pemaparan bioinsektisida Bt menggunakan larutan sesuai prosedur yang telah ada.
3. Larutan bioinsektisida Bt diteteskan pada sentral kornea menggunakan spuit sebanyak 3 mL dalam 2 menit.
4. Setelah dilakukan pemaparan, dilanjutkan dengan pengaplikasian plester pada mata kanan tikus.
5. Plester digunting dengan ukuran 1 cm x 5 cm, plester yang digunakan adalah plester dengan merk dagang Hypafix dari PT BSN Medical Indonesia.
6. Dengan ibu jari dan jari telunjuk tangan kanan peneliti, palpebra superior dan inferior mata tikus dikatupkan.
7. Salah satu ujung plester diletakkan pada mandibula kepala tikus kemudian ditempelkan hingga menutupi mata kanan tikus dan pada ujung lainnya ditempelkan pada regio frontal kepala tikus.
8. Mata kanan tikus diplester selama 30 menit.

Lampiran 3.4 Skema Pemeriksaan Defek Epitel Menggunakan Tes Fluoresensi



Lampiran 3.5 Dokumentasi Prosedur Penelitian

a. Proses Pembuatan Larutan Bioinsektisida Bt



Penimbangan bioinsektisida Bt



Penambahan akuabides



Pencampuran larutan bioinsektisida Bt



b. Proses Perlakuan Pada Tikus Wistar



Adaptasi tikus



Anestesi tikus



Pemaparan larutan bioinsektisida Bt



Penempelan plester pada mata tikus

c. Proses Uji Floresensi



Penetasan larutan fluoresensi



Pembilasan menggunakan akuabides



Uji fluoresensi menunjukkan adanya defek epitel kornea

Lampiran 4.1 Hasil Pengamatan Defek Epitel Kornea

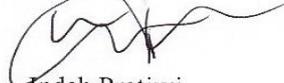
No	Kelompok Perlakuan	Defek Epitel Kornea (Pembaca 1)	Defek Epitel Kornea (Pembaca 2)
1	K- (pemaparan dengan akuabides)	Tidak ada	Tidak ada
2	K- (pemaparan dengan akuabides)	Tidak ada	Tidak ada
3	K- (pemaparan dengan akuabides)	Tidak ada	Tidak ada
4	K- (pemaparan dengan akuabides)	Tidak ada	Tidak ada
5	K- (pemaparan dengan akuabides)	Tidak ada	Tidak ada
6	K- (pemaparan dengan akuabides)	Tidak ada	Tidak ada
7	P1 (pemaparan dengan larutan Bt 8 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
8	P1 (pemaparan dengan larutan Bt 8 g/L)	Ada	Ada
9	P1 (pemaparan dengan larutan Bt 8 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
10	P1 (pemaparan dengan larutan Bt 8 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
11	P1 (pemaparan dengan larutan Bt 8 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
12	P1 (pemaparan dengan larutan Bt 8 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
13	P2 (pemaparan dengan larutan Bt 10 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
14	P2 (pemaparan dengan larutan Bt 10 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
15	P2 (pemaparan dengan larutan Bt 10 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
16	P2 (pemaparan dengan larutan Bt 10 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
17	P2 (pemaparan dengan larutan Bt 10 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
18	P2 (pemaparan dengan larutan Bt 10 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
19	P3 (pemaparan dengan larutan Bt 12 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
20	P3 (pemaparan dengan larutan Bt 12 g/L)	Ada	Ada
21	P3 (pemaparan dengan larutan Bt 12 g/L)	Ada	Ada
22	P3 (pemaparan dengan larutan Bt 12 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
23	P3 (pemaparan dengan larutan Bt 12 g/L)	Tidak ada	Tidak ada
24	P3 (pemaparan dengan larutan Bt 12 g/L)	Tidak ada	Tidak ada

Pembaca Satu



Fathiah Ulil Albab

Pembaca dua



Indah Pratiwi

Penanggung Jawab



dr. Cicik Komariah Sp.M



Lampiran 4.2 Hasil Uji Statistik

Hasil uji *Chi Square* tabel 4x2

kelompok ^ defek Crosstabulation

Count

		defek		Total
		ada	tidak ada	
kelompok	kontrol	0	6	6
	perlakuan 1	1	5	6
	perlakuan 2	0	6	6
	perlakuan 4	2	4	6
Total		3	21	24

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	4.190 ^a	3	.242
Likelihood Ratio	5.040	3	.169
Linear-by-Linear Association	1.825	1	.177
N of Valid Cases	24		

a. 4 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .75.

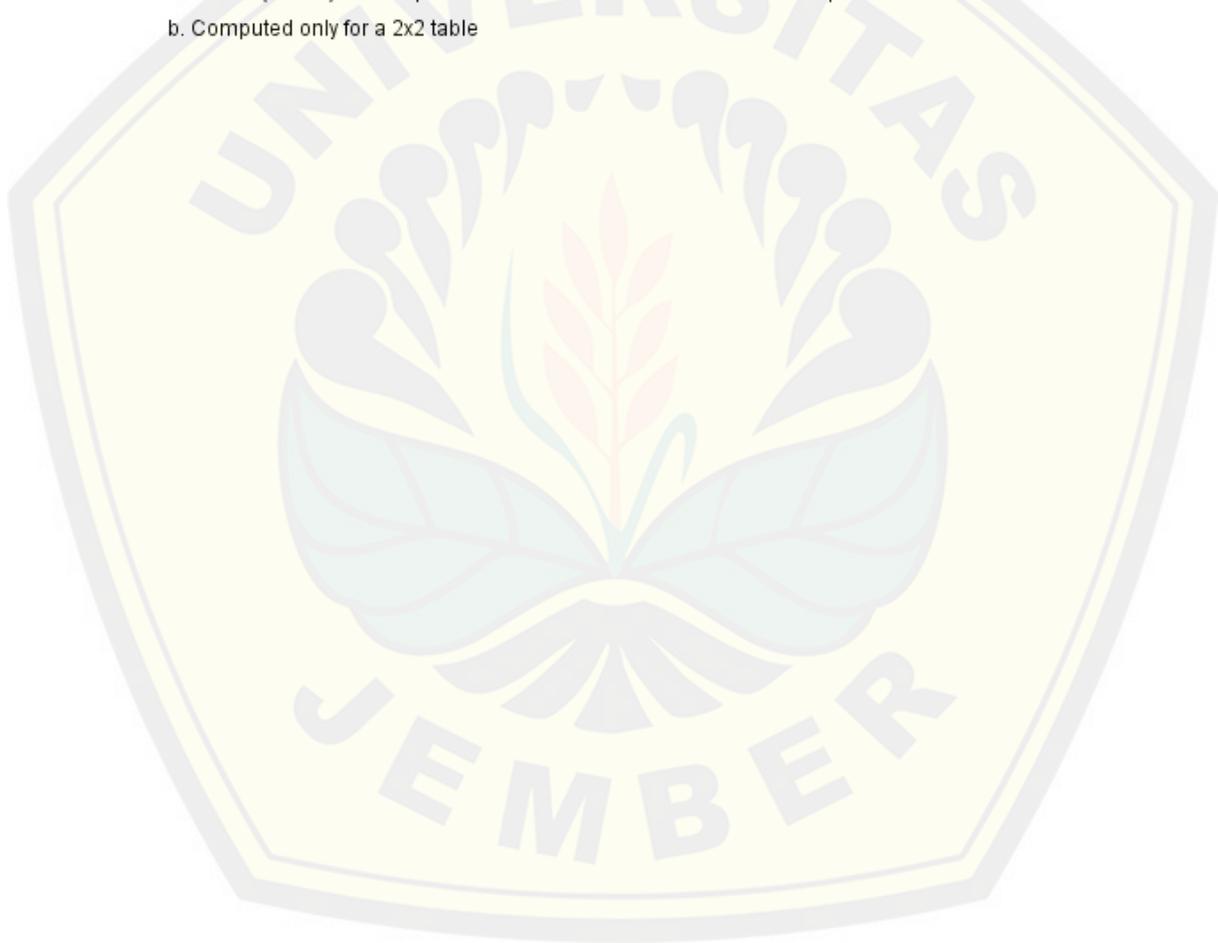
Hasil Uji *Chi Square* tabel 2x2

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1.143 ^a	1	.285		
Continuity Correction ^b	.127	1	.722		
Likelihood Ratio	1.865	1	.172		
Fisher's Exact Test				.546	.403
Linear-by-Linear Association	1.095	1	.295		
N of Valid Cases	24				

a. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .75.

b. Computed only for a 2x2 table



Lampiran 4.3 Lembar Persetujuan Etik Penelitian



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
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 : \.400 /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 :

EFEK PAPARAN BIOINSEKTISIDA *Bacillus thuringiensis* TERHADAP DEFEK EPITEL KORNEA MATA TIKUS WISTAR

Nama Peneliti Utama : Fathiah Ulil Albab.
Name of the principal investigator

NIM : 162010101132

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

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

Jember, 4 Maret 2020
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Rini Rfyanti, Sp.PK

Tanggapan Anggota Komisi Etik

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

Review Proposal :

1. Penelitian menggunakan hewan coba memegang prinsip 3R (*Replacement, Reduce, Refinement*).
2. Pada saat penelitian terkait *Bacillus thuringiensis* harap menggunakan alat pelindung diri (APD).
3. Penilaian defek epitel kornea mata tikus wistar harap dilakukan oleh tenaga yang kompeten.
4. Foto bukti defek epitel kornea menggunakan kamera dengan spesifikasi foto preparat.
5. Mohon diperhatikan oleh peneliti, pembuangan limbah medis dan B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 17 Februari 2020
Reviewer



dr. Ayu Munawaroh Aziz, M.Biomed

Tanggapan Anggota Komisi Etik

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

Review Proposal :

1. Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan (penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R: *Replacement, Reduce, Refinement*).
2. Harap diperhatikan penyimpanan *bacillus thuringiensis (Bt)* yang digunakan dalam penelitian ini disimpan di tempat yang sesuai agar tidak mempengaruhi hasil penelitian ataupun mencemari lingkungan.
3. Harap diperhatikan *general precaution* saat penelitian, peneliti wajib menggunakan APD (alat pelindung diri) untuk keamanan penelitian dan menurunkan risiko akibat penelitian.
4. Untuk pengambilan ekstraksi kornea dari hewan coba harus dilakukan tenaga ahli yang kompeten.
5. Pengecekan defek kornea mata tikus harap dikonsulkan kepada ahlinya yang memiliki kompetensi menilai defek epitel kornea.
6. Pengukuran defek dilakukan secara blinding, dilakukan oleh minimal 2 orang (pengamat).
7. Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 20 Februari 2020
Reviewer


dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Lampiran 4.4 Lembar Rekomendasi Bebas Plagiasi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN
Alamat : Jalan Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto, Kotak Pos Jember 68121
Telp/Fax. (0331) 337877, 324446, *Faximili (0331) 337877
E mail : fk@unej.ac.id/www.fk.unej.ac.id

SURAT REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI

Nomor : **1222**/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 plagiasi atas skripsi mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember di bawah ini:

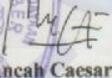
Nama : **Fathiah Ulil Albab**
NIM. : 162010101132
Angkatan : 2016

Judul Skripsi : **Efek Paparan Bioinsektisida *Bacillus Thuringiensis* terhadap Defek Epitel Kornea Mata Tikus Wistar**

Bersama ini kami merekomendasikan dan menyatakan “**Bebas Plagiasi**”
Demikian surat rekomendasi ini, atas perhatian saudara kami mengucapkan terima kasih.

29 APR 2020
Komisi Bimbingan KTI & Publikasi
Ketua,

Mengetahui,
Wakil Dekan I



dr. Ancah Caesarina Novi M. Ph.D
NIP. 19820309 200812 2 002



Dr. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes
NIP. 19740604 200112 2 002

