



**PENINGKATAN JUMLAH NEUTROFIL PADA KORNEA
TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG
DIPAPAR OLEH BIOINSEKTISIDA
*Bacillus thuringiensis***

SKRIPSI

Oleh

**Ahmad Asrori Al Kamal
NIM 162010101101**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**PENINGKATAN JUMLAH NEUTROFIL PADA KORNEA
TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG
DIPAPAR OLEH BIOINSEKTISIDA
*Bacillus thuringiensis***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program studi pendidikan dokter (S1) serta mencapai gelar sarjana kedokteran

Oleh

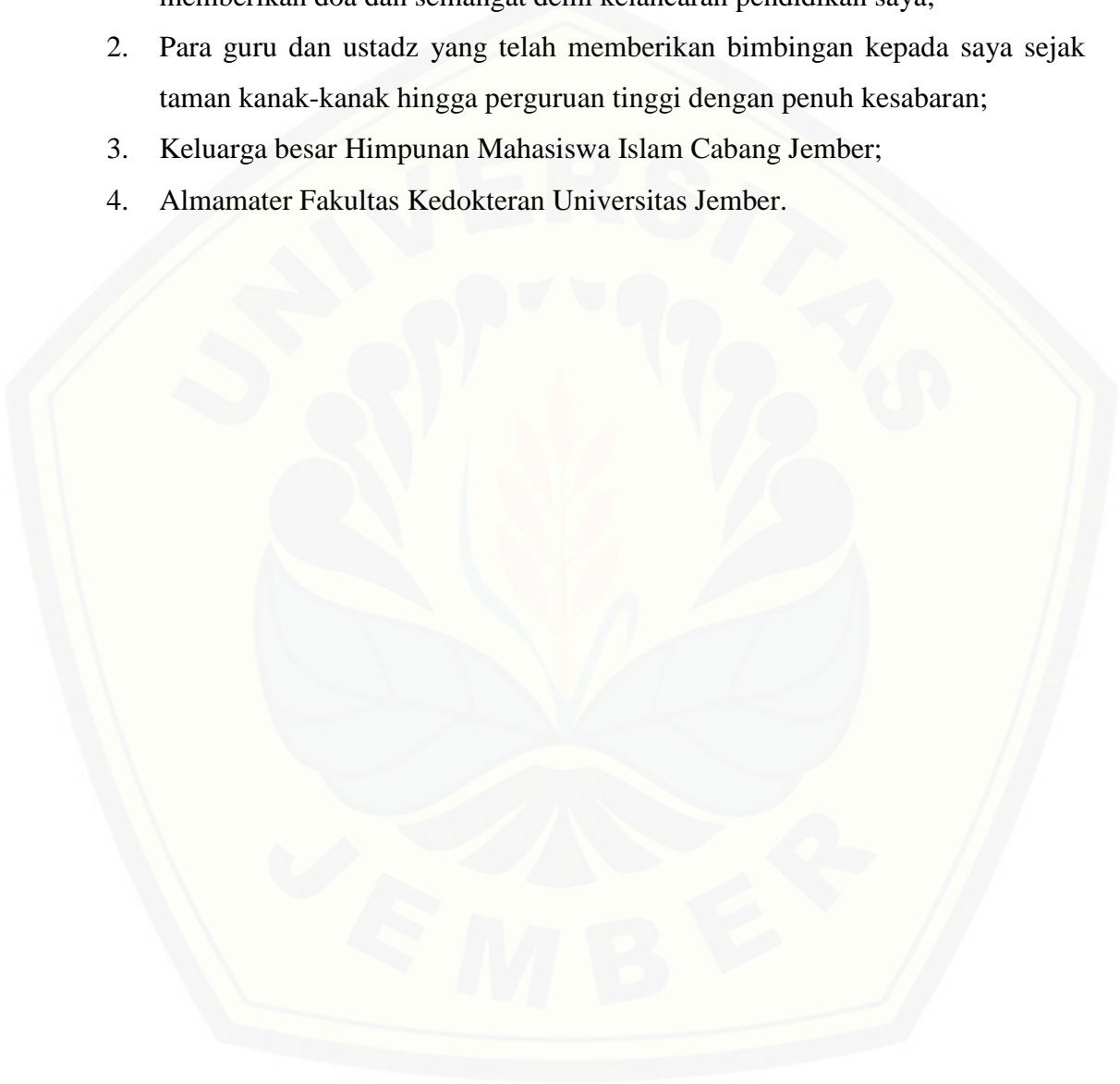
**Ahmad Asrori Al Kamal
NIM 162010101101**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ayahanda dan Ibunda saya, Palal dan Istinganah, yang senantiasa memberikan doa dan semangat demi kelancaran pendidikan saya;
2. Para guru dan ustadz yang telah memberikan bimbingan kepada saya sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi dengan penuh kesabaran;
3. Keluarga besar Himpunan Mahasiswa Islam Cabang Jember;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



MOTO

“Bacalah, dengan (menyebut) nama Tuhanmu yang menciptakan”
(Al-Alaq, 96:1-2)



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

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Ahmad Asrori Al Kamal

NIM : 162010101101

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Peningkatan jumlah neutrofil pada kornea tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar oleh bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*” 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 maret 2020

Yang menyatakan

Ahmad Asrori Al Kamal

NIM 162010101101

SKRIPSI

**PENINGKATAN JUMLAH NEUTROFIL PADA KORNEA
TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG
DIPAPAR OLEH BIOINSEKTISIDA
*Bacillus thuringiensis***

Oleh

Ahmad Asrori Al Kamal

NIM 162010101101

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Zahrah Febianti, M.Biomed

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Peningkatan jumlah neutrofil pada kornea tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar oleh bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*” karya Ahmad Asrori Al Kamal telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Anggota I,

dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D
NIP 19690911 199903 1 003

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

Anggota II,

Anggota III,

dr. Cicih Komariah, Sp.M
NIP 19740928 200501 2 001

dr. Zahrah Febianti, M.Biomed.
NIP. 19880202 201404 2 001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Peningkatan jumlah neutrofil pada kornea tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar oleh bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*; Ahmad Asrori Al Kamal, 162010101101; 2020; 59 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Bioinsektisida adalah insektisida baru yang berasal dari makhluk hidup dan sangat direkomendasikan sebagai pengendali hama tanaman. Mikroorganisme yang sering dimanfaatkan dalam pembuatan insektisida ini, yaitu *Bacillus thuringiensis* (Bt). Bt mengisi 80% produk bioinsektisida yang dikembangkan dari bakteri *Bacillus spp* di Indonesia. Di dunia, bioinsektisida Bt mengisi 90-95% produk bioinsektisida yang dipasarkan di berbagai negara.

Melalui studi pendahuluan, bioinsektisida Bt memiliki sifat asam sehingga dapat menyebabkan trauma kimia pada mata. Trauma kimia pada kornea dapat menyebabkan inflamasi yang ditandai dengan infiltrasi neutrofil ke kornea. Saat terjadi inflamasi, enzim protease akan memicu produksi sitokin proinflamasi yang menyebabkan neutrofil dari pembuluh darah limbus menginfiltrasi lokasi inflamasi. Sejauh ini belum ada penelitian mengenai efek paparan bioinsektisida Bt pada mata secara mikroskopis terutama terhadap peningkatan jumlah neutrofil.

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *true experimental* dengan pendekatan *post test only control group design*. Tujuan penelitian ini, yaitu menganalisis peningkatan jumlah neutrofil kornea tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang dipapar oleh bioinsektisida Bt. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 24 ekor yang dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan. Variabel bebas dalam penelitian ini ialah bioinsektisida Bt. Variabel terikat pada penelitian ini ialah jumlah neutrofil.

Aklimatisasi tikus dilakukan selama satu minggu. Tikus diinduksi dengan larutan bioinsektisida Bt dengan konsentrasi 6 g/L, 8 g/L, dan 10 g/L. Kelompok kontrol diinduksi dengan normal salin. Semua kelompok diberi larutan sebanyak 3 ml yang dihabiskan selama 2 menit. Setelah diinduksi, mata ditutup dengan hipafix selama 30 menit. Induksi dilakukan 1 kali per hari selama 7 hari. 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). Preparat dibaca oleh 2 pengamat yang telah dilatih oleh ahli patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk menghitung jumlah neutrofil rata-rata pada 5 lapang pandang menggunakan mikroskop cahaya yang dilengkapi *optilab* dengan perbesaran 400x.

Hasil perhitungan rata-rata jumlah neutrofil tiap lapang pandang paling rendah terdapat pada kelompok kontrol negatif ($0,17 \pm 0,16$) sedangkan pada kelompok perlakuan didapatkan jumlah neutrofil secara berurutan dari yang terbesar pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi Bt 8 g/L (P1) sebanyak $0,53 \pm 0,49$ yang kemudian diikuti konsentrasi 10 g/l (P2) sebanyak $0,4 \pm 0,14$ dan konsentrasi 12 g/l (P3) sebanyak $0,38 \pm 0,51$. Uji normalitas dengan menggunakan *Saphiro-Wilk* didapatkan hasil $p < 0,05$ pada beberapa kelompok perlakuan. Analisis data kemudian dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* dengan hasil 0,111 (nilai $p > 0,05$) yang artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan jumlah neutrofil pada kornea mata tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar oleh bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*.

PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT karena atas berkat rahmat dan kuasa-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Peningkatan jumlah neutrofil pada kornea tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar oleh bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*”. 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. dr. Supangat, M.Kes, Ph.D, Sp.BA, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Cicih Komariah, Sp.M dan dr. Zahrah Febianti, M.Biomed., selaku dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu dan pikiran dalam membantu dan membimbing dalam penulisan skripsi ini;
3. dr. Al Munawir, M.Kes, Ph.D dan dr. Rosita Dewi, M.Biotek., selaku dosen penguji yang meluangkan waktu dan pikiran dalam skripsi ini;
4. dr. M. Ali Shodikin, Sp.A dan Dr. dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes, selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan dukungan selama proses perkuliahan;
5. Kedua orang tua saya, Ayahanda Palal dan Ibunda Istinganah, kakak saya, Elfa Yasa Prika Fais, serta kakek dan nenek saya, Musakri dan Saudah, yang selalu memberi dukungan, doa, dan bimbingan kepada saya selama ini;
6. Seluruh teman se-angkatan 2016, terutama Aldi Nawaf Nurul Amin, Fatihah Ulil Albab, Hashinatul Hurriyah, Siti Aminah Daeng Ndiko, dan Indah Pratiwi, yang telah membantu penelitian ini;

7. Keluarga Himpunan Mahasiswa Islam Cabang Jember, terutama saudari saya, Livia Wahyuni dan Rizka Ayu Kartika, yang telah memberi dorongan semangat selama masa perkuliahan;
8. Seluruh civitas akademika fakultas kedokteran universitas jember, terutama Bu Lilik, Bu Nurul, Pak Anton, Pak Sumadi, dan Bu Heni yang telah membantu dalam pemrosesan administrasi dan peminjaman alat selama penelitian;
9. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat disebut satu per satu, terima kasih 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.

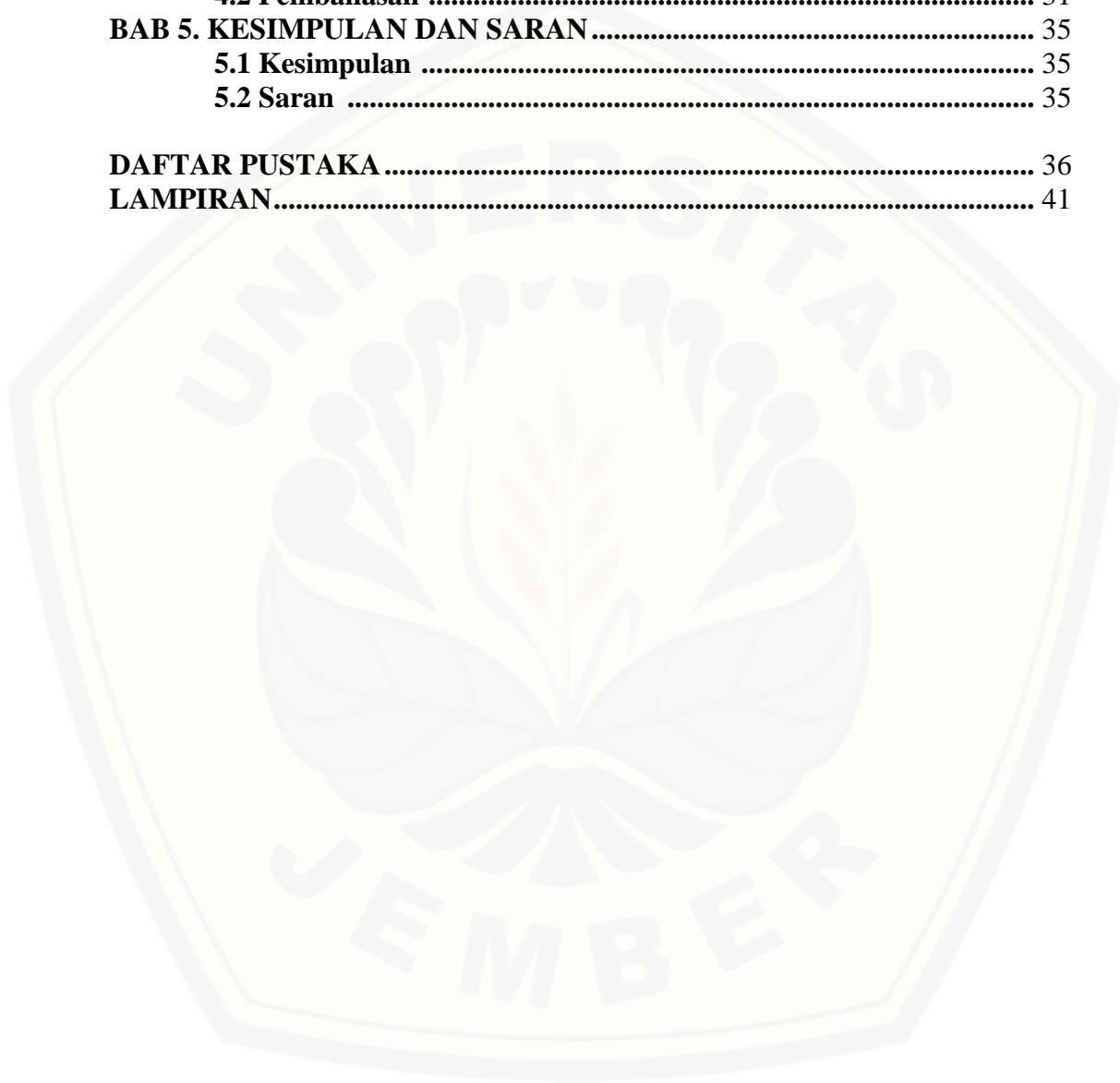
Jember, Maret 2020

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	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
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	3
2.1 Bioinsektisida Bt	3
2.2 Kornea	5
2.2.1 Anatomi Kornea	5
2.2.2 Fisiologi Kornea	10
2.3 Trauma Kimia Mata	11
2.4 Inflamasi	13
2.2.1 Morfologi dan Fungsi Neutrofil	16
2.2.2 Peran Neutrofil pada Inflamasi Kornea	18
2.5 Kerangka Konsep	19
2.6 Hipotesis	20
BAB 3. METODE PENELITIAN	21
3.1 Rancangan Penelitian	21
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.3 Sampel Penelitian	22
3.3.1 Sampel	22
3.3.2 Besar Sampel	22
3.4 Jenis dan Sumber Data	23
3.5 Definisi Operasional Variabel dan Skala Pengukurannya	23
3.5.1 Variabel Bebas	23
3.5.2 Variabel Terikat	23
3.6 Metode Analisis Data	24
3.6.1 Alat dan Bahan	24
3.6.2 Prosedur Penelitian	25

3.6.3 Analisis Data	27
3.7 Alur Penelitian	28
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Hasil Penelitian	29
4.1.1 Hasil Perhitungan Neutrofil	29
4.1.2 Hasil Analisis Data	30
4.2 Pembahasan	31
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	41



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan	25
Tabel 4.1 Hasil rerata jumlah neutrofil	30



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Cara kerja toksin Bt terhadap ulat	4
Gambar 2.2 Anatomi mata	5
Gambar 2.3 Lapisan kornea	6
Gambar 2.4 Klasifikasi derajat trauma kimia	13
Gambar 2.5 Aktivitas neutrofil pada inflamasi akut	14
Gambar 2.6 Proses infiltrasi neutrofil dari pembuluh darah ke jaringan	15
Gambar 2.7 Gambaran neutrofil pada sedimen darah tepi	17
Gambar 2.8 Gambaran neutrofil pada jaringan	17
Gambar 2.9 Kerangka konsep	19
Gambar 3.1 Pengelompokan subjek penelitian	21
Gambar 3.2 Alur Penelitian	28
Gambar 4.1 Gambaran mikroskopis neutrofil kornea hasil pembacaan.	29
Gambar 4.2 Grafik konsentrasi Bt terhadap rerata jumlah neutrofil	31

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 3.1 SOP Pemeliharaan hewan uji	41
Lampiran 3.2 SOP Pembuatan larutan bioinsektisida Bt	44
Lampiran 3.3 SOP Anestesi tikus pra-perlakuan	46
Lampiran 3.4 SOP Induksi bioinsektisida Bt	47
Lampiran 3.5 SOP Terminasi hewan coba	59
Lampiran 3.6 SOP E nukleasi hewan coba	50
Lampiran 3.7 SOP Pembuatan preparat dan pewarnaan HE	51
Lampiran 3.8 SOP Pembacaan preparat	52
Lampiran 3.9 Persetujuan etik	53
Lampiran 3.10 Dokumentasi penelitian	55
Lampiran 3.11 Rekomendasi bebas plagiasi	56
Lampiran 4.1 Hasil perhitungan jumlah neutrofil	57
Lampiran 4.2 Hasil analisis data	58

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bioinsektisida adalah insektisida yang dikembangkan dari organisme hidup seperti hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme (misalnya, bakteri, jamur, dan virus) yang dapat mengendalikan hama serangga perusak tanaman (Mazid *et al.*, 2011). Djojosumarto (2008) menyatakan bahwa bioinsektisida merupakan insektisida generasi baru dan sangat dianjurkan untuk digunakan dalam pengendalian hama tanaman. Salah satu bahan aktif atau mikroorganisme yang digunakan dalam pembuatan biopestisida jenis insektisida adalah *Bacillus thuringiensis* (Bt). Bt merupakan bakteri gram positif berbentuk batang yang dapat ditemukan di tanah. Selama fase sporulasi, beberapa spesies dari Bt menghasilkan δ -endotoksin yang dikenal sebagai protein kristal *Cry* atau *Cyt* (Bravo A, 2007). Berdasarkan data yang dikeluarkan oleh Direktorat Pupuk dan Pestisida pada 2016, 20 dari 34 produk insektisida biologis di Indonesia merupakan produk dari *Bacillus spp* dengan 80% merupakan produk dengan bahan aktif Bt. Di dunia, bioinsektisida Bt mengisi 90-95% produk bioinsektisida yang dipasarkan di berbagai negara (Bahagiawati, 2002).

Pada tahun 1983, ditemukan kasus ulkus kornea akibat paparan bioinsektisida dengan bahan aktif Bt (Samples dan Buettner, 1983). Penelitian pada populasi yang terpapar secara intradermal oleh bioinsektisida Bt semprot juga menunjukkan bahwa terdapat ratusan orang mengeluhkan adanya gatal dan kemerahan. Siegel (2001) menyatakan bahwa paparan dari semprotan Bt kemungkinan menyebabkan sensasi alergi dengan menginduksi IgE dan IgG. Dampak penggunaan produk ini tidak diikuti dengan penggunaan alat pelindung diri (APD) yang memadai. Sularti dan Abi (2012) dalam penelitiannya menyatakan bahwa 64% petani memiliki tingkat pengetahuan bahaya pestisida yang rendah dan 80% menunjukkan adanya kebiasaan menggunakan APD yang tidak lengkap. Akibatnya, 78,9% petani mengalami keluhan mata berair akibat paparan insektisida (Maranata *et al.*, 2014).

Melalui studi pendahuluan, bioinsektisida Bt memiliki sifat asam sehingga dapat menyebabkan trauma kimia pada mata. Trauma kimia adalah salah satu kegawatdaruratan di bidang oftalmologi yang dapat mengakibatkan pada penurunan hingga hilangnya penglihatan (Eslani *et al.*, 2014). Trauma kimia pada kornea dapat menyebabkan inflamasi yang ditandai dengan infiltrasi neutrofil ke kornea. Saat terjadi inflamasi, enzim protease akan memicu produksi sitokin proinflamasi berupa IL-1, IL-6, dan TNF yang menyebabkan neutrofil dari limbus menginfiltrasi lokasi infeksi (Tallab dan Stone, 2016). Jumlah neutrofil mulai meningkat pada 6 jam setelah paparan dan mulai menurun pada 48 jam setelah paparan (Oh *et al.*, 2012). Sejauh ini belum ada penelitian mengenai efek paparan bioinsektisida Bt pada mata terhadap peningkatan jumlah neutrofil kornea mata secara mikroskopis. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui apakah terjadi peningkatan jumlah neutrofil pada kornea tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar oleh bioinsektisida Bt.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu “Apakah terjadi peningkatan jumlah neutrofil kornea tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar oleh bioinsektisida Bt?”

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini, yaitu menganalisis peningkatan jumlah neutrofil kornea tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar oleh bioinsektisida Bt.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan manfaat kepada beberapa pihak yaitu:

- a. Bagi institusi pendidikan dapat menambah ilmu pengetahuan dan menjadi referensi bagi penelitian berikutnya tentang efek paparan bioinsektisida.
- b. Bagi instansi kesehatan dapat dijadikan rujukan dalam penyuluhan mengenai kesehatan dan keselamatan kerja dalam bidang agromedis.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bioinsektisida Bt.

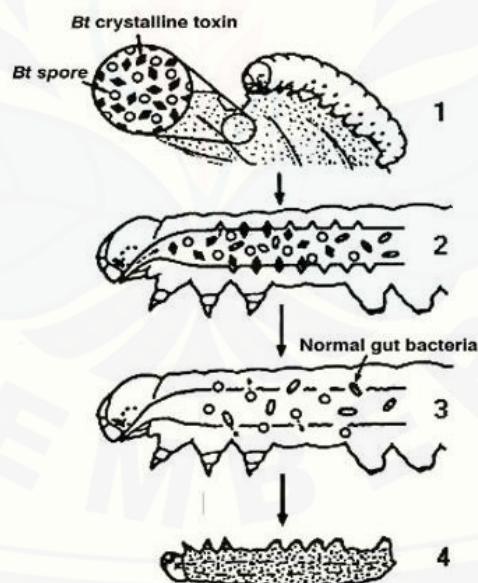
Bt adalah bakteri gram positif yang sering digunakan sebagai pestisida mikrobial. Bt mengandung *Cry* toksin yang dapat diekstraksi dan digunakan sebagai pestisida. Selama fase sporulasi, Bt memproduksi kristal protein, δ -endotoksin, yang mempunyai sifat insektisida. Kristal protein ini lah yang menjadikan Bt dapat digunakan sebagai agen biokontrol. Walaupun begitu, beberapa jenis Bt strain tertentu yang memproduksi kristal tidak memiliki sifat insektisida (Abulreesh *et al.*, 2012; Osman *et al.*, 2015).

Bt berada di alam bisa secara alami maupun ditambahkan ke dalam ekosistem untuk mengontrol serangga. Karena alasan ini, prevalensi Bt di alam dibedakan menjadi alami dan buatan. Bt dikatakan alami ketika Bt di sebuah area dapat diisolasi dan tanpa ada riwayat penggunaan sebagai pengendali serangga. Bt buatan merupakan insektisida Bt hasil penyemprotan yang merupakan campuran antara spora dan kristal toksin. Bt dapat ditemukan di beberapa lingkungan termasuk tanah dan jasad serangga, serbuk produk, daun tanaman, serta lingkungan berair. Penelitian terkini membuktikan bahwa Bt juga ditemukan dalam pengisolasian sedimen laut dan permukaan antartika. Dengan demikian, hal itu membuktikan bahwa Bt tersebar secara luas di alam walaupun habitat normal Bt adalah tanah (Iriarte *et al.*, 2000; Maeda *et al.*, 2000; Forsty dan Logan, 2000; Osman *et al.*, 2015).

Bt tumbuh secara alami pada sisa-sisa makhluk hidup atau saprofit dan memakan sisa jasad organik. Oleh karena itu, spora Bt dapat bertahan di tanah dan tumbuh secara vegetatif ketika tersedia nutrisi. Meadows (1993) membuat tiga hipotesis mengenai Bt, yaitu Bt sebagai entomopatogen atau parasit pada serangga, hidup dipermukaan daun atau *phylloplane*, dan mikroorganisme tanah. Namun teori yang pasti mengenai Bt masih belum jelas. Siklus hidup Bt terdiri atas dua fase, yaitu pembelahan sel secara vegetatif dan pembentukan spora atau disebut fase sporulasi. Sel vegetatif berbentuk batang dengan panjang 2-5 μm dan lebar 1 μm serta terbagi menjadi dua sel yang sama melalui pembentukan sekat

pemisah yang dimulai di bagian tengah membran plasma. Sedangkan fase sporulasi melibatkan pembelahan sel secara asimetris dan memiliki 7 tahap (Osman *et al*, 2015).

Menurut Rowe dan Margartis (1987) serta WHO (1999), sembilan toksin berbeda telah ditemukan dalam Bt. Dari beberapa toksin yang dihasilkan oleh Bt, δ -endotoksin mendapat perhatian dan telah dilakukan upaya pemanfaatan sebagai produk bioinsektisida yang lebih efisien penggunaannya dalam melindungi beberapa jenis tanaman perkebunan dari serangga pengganggu. Kristal Bt memiliki beberapa bentuk, yaitu bipiramidal, kuboid, romboid datar, bola atau gabungan dari dua jenis kristal atau lebih. Struktur dari δ -endotoksin terdiri dari dua kelompok yang berbeda. Yang pertama ialah Kelompok *Cry* dengan kemampuan sitolitik spesifik seperti *CryIAa1*, *CryIBa1*, *Cry2Aa1*, dan sebagainya. Yang kedua ialah kelompok *Cyt* dengan kemampuan sitolitik dan hemolitik non spesifik seperti *CytIAa1*, *Cyt2Aa1*, dan sebagainya.



Gambar 2.1 Cara kerja toksin Bt terhadap ulat (Gill, 1995).

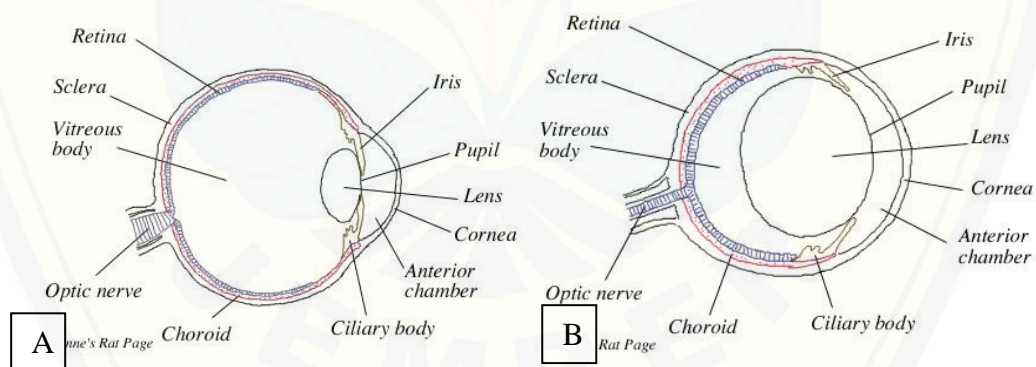
δ -endotoksin yang masuk ke dalam tubuh serangga akan aktif dalam suasana basa di usus serangga. Setelah aktif, toksin berinteraksi dengan sel epitel di usus serangga. Toksin ini menyebabkan terbentuknya pori-pori di dinding

membran sel saluran pencernaan dan mengganggu keseimbangan osmotik dari sel-sel tersebut seperti yang diilustrasikan pada Gambar 2.1. Akibatnya, sel menjadi bengkak dan lisis sehingga serangga mengalami kematian (Bahagiawati, 2002; Venkatesh & Trivedi, 2009; Pakpahan *et al*, 2014; Roh *et al*, 2007).

2.2 Kornea

2.2.1 Anatomi Kornea

Kornea merupakan salah satu struktur mata yang transparan dan avaskuler serta berada pada bagian anterior mata seperti pada Gambar 2.2. Kornea dibatasi oleh konjungtiva di bagian anterior dan trabekular meshwork di bagian posterior. Pada manusia, ukuran diameter horizontal kornea adalah 12 mm dan ukuran diameter vertikalnya adalah 11 mm. Jika dilihat dari posterior, kornea membentuk lingkaran dengan diameter vertikal dan horizontal sebesar 11,7 mm. Kornea memiliki bentuk yang lebih elips daripada sklera. Ketebalan kornea sentral dan perifer memiliki perbedaan. Kornea sentral memiliki ketebalan 0,53 mm sedangkan bagian perifer kornea memiliki ketebalan 0,71 mm (Remington, 2012).

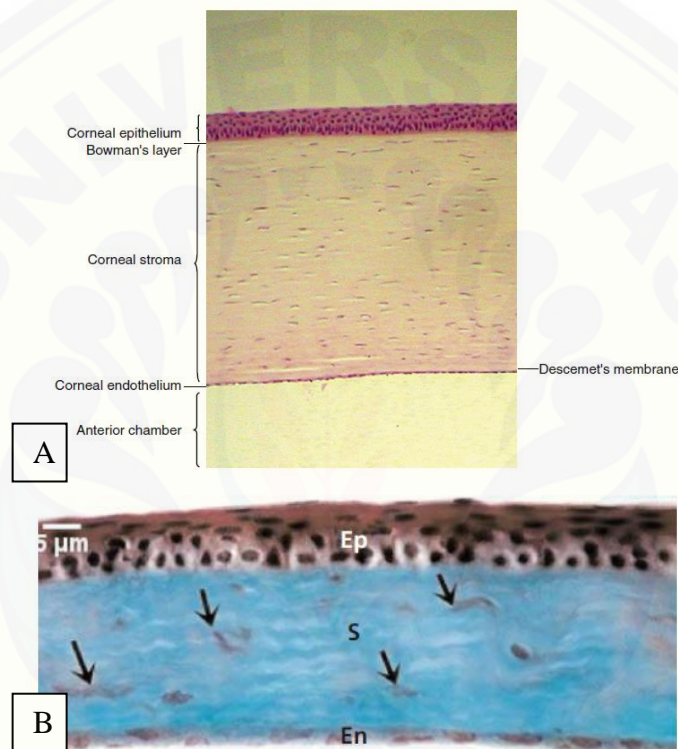


(A) Anatomi mata manusia; (B) Anatomi mata tikus

Gambar 2.2 Anatomi mata (Hanson, 2004)

Kornea pada tikus dan manusia tidak memiliki perbedaan kecuali pada diameternya. Kornea tikus memiliki diameter 6,8 mm pada tikus jantan dan 6,4 mm pada tikus betina. Kornea merupakan komponen refraksi utama pada mata. Sifat avaskuler dan transparannya menyebabkan cahaya dapat menembus kornea

secara maksimal. Kornea dilapisi oleh *tear film* pada permukaan anterior nya dan berbatasan langsung pada anterior chamber pada bagian posterior. Pada bagian perifer, kornea berikatan dengan konjungtiva dan sklera. Struktur kornea terdiri dari 5 lapisan, yaitu lapisan epitel, membran Bowman, stroma, membran Descemet dan lapisan endotel (Suckow *et al*, 2006; Remington, 2012), seperti yang diilustrasikan pada Gambar 2.3.



(A) Kornea manusia; (B) Kornea tikus; (Ep) Epitel; (S) Stroma; (En) Endotel

Gambar 2.3 Lapisan kornea (Remington, 2012; Aseta *et al*, 2016)

Secara mikroskopis, kornea manusia dan tikus memiliki kesamaan. Perbedaan kornea manusia tikus berada pada tingkat ketebalan dan luas nya. Kornea tikus memiliki ketebalan dan luas kornea yang lebih kecil.

a. Lapisan epitel

Lapisan terluar dari epitel kornea terdiri atas 5-7 sel tebal dengan ukuran sekitar 50 μm . Epitel menipis pada bagian perifer dan menyambung dengan epitel konjungtiva pada limbus. Lapisan bagian epitel kornea terdiri atas 2 lapis sel skuamos superfisial, 2-3 lapis *wing cells*, dan satu lapis sel basal kolumnar. Membran plasma pada permukaan sel epitel mengeluarkan komponen *glycocalyx* yang diduga ikut berperan dalam menjaga kestabilan lapisan air mata dan kelembaban permukaan kornea. Residu gula dari membran glikoprotein dan glikolipid epitel kornea juga berperan dalam proses penyembuhan luka. Pada sel basal epitel sering terjadi mitosis sel. Sel muda ini terdorong kedepan menjadi *wing cells*, dan semakin maju ke depan menjadi sel gepeng. Sel basal berikatan erat dengan sel basal disampingnya dan sel poligonal didepannya melalui desmosom dan makula okluden. Ikatan ini menghambat pengaliran air, elektrolit, dan glukosa sehingga berfungsi sebagai barier. Sel basal menghasilkan membran basal yang melekat erat dengan sel basal. Ukuran dari diameter sel basal sekitar 8-10 μm . Lapisan epitel berasal dari permukaan ektoderm (Wilson, 2012; Remington, 2012).

b. Membran Bowman

Lapisan kedua dari kornea memiliki ketebalan sekitar 8-14 μm . Lapisan Bowman merupakan lapisan yang padat dan tersusun atas serat kolagen secara acak. Serat ini memiliki diameter 20-25 nm. Walaupun lapisan Bowman disebut sebagai membran, lapisan ini lebih benar jika dikatan sebagai lapisan transisi antara lapisan epitel dan stroma. Lapisan ini berbeda dengan stroma karena lapisan Bowman merupakan lapisan aseluler dan tersusun atas serat kolagen. Lapisan ini tidak memiliki kemampuan untuk regenerasi sehingga jika terjadi trauma maka lapisan ini akan digantikan oleh sel epitel atau jaringan parut stroma. Bagaimanapun, lapisan Bowman sangat tahan terhadap kerusakan akibat infeksi atau pun penetrasi benda. Akibat sifat aseluler dan jaringan pembentuknya merupakan serat kolagen, lapisan Bowman dapat mencegah lapisan keratosit

stroma kornea terpapar *growth factor* yang dikeluarkan oleh sel epitel (Remington, 2012).

c. Stroma

Stroma merupakan bagian yang paling tebal, yaitu 90% dari seluruh ketebalan kornea. Lapisan tengah kornea ini memiliki tebal sekitar 500 μm . Lapisan stroma terdiri atas matriks ekstraseluler, keratosit, dan serat kolagen (Remington, 2012).

Serat kolagen memiliki diameter 25-35 nm dan tersusun paralel satu sama lain membentuk ikatan yang disebut lamela. Sejumlah 200-300 lamela tersebar diseluruh stroma. Pada permukaan, kolagen terlihat seperti anyaman yang teratur. Sedangkan di bagian perifer serat kolagen berbentuk cabang. Kolagen terbanyak pada stroma merupakan kolagen tipe III. Regenerasi serat kolagen memakan waktu sekitar 15 bulan. Pada stroma juga terdapat proteinase inhibitor yang berperan dalam mencegah kerusakan kornea saat inflamasi, ulkus, dan penyembuhan luka (Remington, 2012).

Keratosit merupakan fibroblas yang terletak di antara lamela. Keratosit mengekspresikan matriksmetaloprotease (MMP), kolagen, glikosaminoglikan (GAG), dan kristalin yang penting dalam proses homeostatis dan penyembuhan luka pada stroma. Sel keratosit membentuk pola '*corkscrew*' yang dapat dikenali dari sisi anterior ke posterior dan memiliki densitas lebih tinggi pada anterior stroma (Müller *et al.*, 2001).

d. Membran Descemet

Membran Descemet merupakan membran basal endotel kornea yang memiliki resistensi yang tinggi terhadap trauma dan proses patologis lainnya dibandingkan dengan bagian-bagian kornea lain yang tipis dan lentur. Membran ini terus berkembang seumur hidup. Pada anak-anak, membran ini memiliki ketebalan 5 μm dan akan bertambah sampai 15 μm seiring bertambahnya usia (Remington, 2012).

Membran Descemet terdiri atas 2 lamina. Lamina anterior memiliki ketebalan 3 μm dengan bentukan pita dan merupakan ciri serat kolagen yang dihasilkan selama perkembangan embrio. Lamina posterior tidak berbentuk pita dan bersifat lebih homogen. Lamina posterior adalah bagian yang dikeluarkan oleh endotelium sepanjang hidup (Remington, 2012).

Meskipun tidak ditemukan serat elastis, serat kolagen menyusun membran Descemet dan menjadikannya elastis. Membran Descemet sangat tahan terhadap trauma, enzim proteolitik, dan beberapa kondisi patologis. Jika terjadi kerusakan, membran ini dapat regenerasi (Remington, 2012).

e. Lapisan endotel

Lapisan terdalam dari kornea adalah lapisan endotel. Lapisan ini berbatasan langsung dengan anterior chamber dan terdiri atas satu lapis sel. Normalnya lapisan ini memiliki ketebalan 5 μm . Sel endotel berbentuk polihedral dan dapat ditemukan pada kornea normal dengan 70-80% nya merupakan bentuk hexagonal. Sel endotel tidak dapat membelah dan bereplikasi. Kontak antar sel kemungkinan menjadi salah satu faktor yang menyebabkan lapisan ini berada pada fase nonproliferatif (Joyce, 2003; Joyce *et al.*, 2002; Senoo, 2000; Remington, 2012).

Jumlah sel endotel menurun sesuai usia dimana pada saat lahir sebanyak 3000-4000/ mm^2 dan pada saat usia 80 tahunan jumlahnya berkurang menjadi 1000-2000/ mm^2 . Jumlah sel minimal yang dibutuhkan untuk menjalankan fungsi fisiologisnya sekitar 400-700/ mm^2 . Endotel berfungsi sebagai barier permeabilitas antara humor akuos dengan stroma kornea serta sebagai pompa untuk mempertahankan kornea dalam keadaan dehidrasi relatif (deturgescens) dengan adanya tekanan negatif hidrostatis yang dipertahankan oleh pompa bikarbonat. Secara *in vivo*, endotel mendapatkan oksigen dari humor akuos untuk mempertahankan fungsi pompanya (Remington, 2012).

Kerusakan struktur endotel bisa berupa hilangnya sel atau perubahan bentuk (*pleomorphism*) dan ukuran (*polymegathism*). Jika endotel rusak, penyembuhan terjadi melalui migrasi sel, penyusunan ulang, dan pembesaran sel

yang tersisa. Selain itu, rusaknya lapisan endotel dapat menyebabkan cairan pada anterior chamber masuk ke dalam stroma. Sel substansial yang hilang atau rusak menyebabkan edema yang irreversibel oleh karena endotel mengkompensasi sel-sel yang mati dengan mengurangi kepadatan seluruh endotel dan memberikan dampak pada regulasi cairan (Remington, 2012).

2.2.2 Fisiologi Kornea

Kornea memiliki dua fungsi utama, yaitu membiaskan dan menghantarkan cahaya. Faktor yang mempengaruhi pembiasan cahaya adalah kelengkungan permukaan anterior kornea, perubahan indeks bias dari udara ke kornea, ketebalan kornea, kelengkungan permukaan posterior kornea, dan perubahan indeks bias dari kornea ke humor akuos. Sifat tembus cahayanya disebabkan oleh susunan filamen-filamen kolagen pada stroma yang uniform, avaskular, dan komposisi air yang konstan di dalam stroma atau keadaan dehidrasi relatif (*deturgesens*). Air di dalam stroma dipertahankan sebanyak 70% (Lang, 2000; Khurana, 2007).

Deturgesens atau keadaan dehidrasi relatif jaringan kornea, dipertahankan oleh pompa bikarbonat aktif pada endotel dan oleh fungsi sawar epitel dan endotel. Dalam mekanisme dehidrasi ini, endotel jauh lebih penting daripada epitel dan kerusakan kimiawi atau fisik pada endotel berdampak jauh lebih parah daripada kerusakan pada epitel. Kerusakan sel-sel endotel menyebabkan edema kornea dan hilangnya sifat transparan. Sebaliknya, kerusakan pada epitel hanya menyebabkan edema stroma kornea lokal sesaat yang akan meghilang bila sel-sel epitel telah beregenerasi. Penguapan air dari lapisan air mata prekorneal menghasilkan hipertonisitas ringan lapisan air mata. Keadaan ini kemungkinan merupakan faktor karena ada nya perpindahan air dari stroma kornea superfisial untuk membantu mempertahankan keadaan dehidrasi (Riordan-Eva dan Augsburger, 2018).

Penetrasi obat ke dalam ke kornea bersifat bifasik. Substansi larut lemak dapat melalui epitel utuh dan substansi larut air dapat melalui stroma yang utuh. Oleh karena itu, obat harus larut lemak dan larut air sekaligus agar dapat melalui kornea. Epitel adalah sawar yang efisien terhadap masuknya mikroorganisme ke

dalam kornea. Namun saat kornea cedera, stroma yang avaskular dan membran Bowman akan mudah terkena infeksi oleh berbagai macam organisme, seperti bakteri, virus, parasit, dan jamur (Riordan-Eva dan Augsburger, 2018).

2.3 Trauma Kimia Mata

Trauma kimia mata merupakan salah satu keadaan kedaruratan pada mata karena dapat menyebabkan cedera pada mata baik ringan, berat, bahkan sampai kehilangan penglihatan. Hal ini diakibatkan karena terpaparnya bahan kimia baik yang bersifat asam atau basa yang dapat merusak struktur bola mata tersebut (Rakhmasari *et al.*, 2015).

Trauma kimia mata dibagi menjadi dua jenis berdasarkan kadar pH yang dimiliki suatu agen penyebab, yaitu trauma kimia asam dan basa. Trauma basa menyebabkan kerusakan yang lebih cepat daripada trauma asam karena daya tembus korneanya lebih besar (Radosavljević *et al.*, 2013).

Trauma kimia jenis asam diakibatkan oleh bahan kimia yang memiliki $pH < 7$ (Ilyas, 2008). Dua mekanisme yang terjadi dalam trauma asam ialah mekanisme ion hidrogen dan anion dalam kornea. Ion hidrogen merusak mata dengan mengubah pH, sedangkan anion merusak mata dengan mendenaturasi protein, presipitasi, dan koagulasi. Koagulasi ini menyebabkan agen kimia tidak dapat menembus mata lebih dalam. Hal inilah yang menyebabkan trauma akibat zat asam lebih ringan daripada akibat zat basa (Drake *et al.*, 2012).

Pada minggu pertama pasca paparan, akan terjadi koagulasi protein pada kornea sehingga terjadi penampakan keruh pada kornea. Akibat koagulasi protein ini, kornea mata dapat terkelupas. Koagulasi yang lebih lanjut pada jaringan yang lebih dalam seperti stroma, keratosit, dan endotel dapat terjadi. Bila penetrasi asam dapat melewati koagulasi ini, akan terjadi edema kornea. Regenerasi epitel akan terjadi dalam beberapa hari dan sembuh jika zat kimia bersifat asam lemah. Sebaliknya, jika penyebabnya zat kimia bersifat asam kuat maka akan terjadi infiltrasi sel radang ke dalam stroma dalam waktu 24 jam. Umumnya trauma asam mulai sembuh pada minggu kesatu sampai ketiga. Pembentukan ulkus kornea dengan vaskularisasi yang progresif bisa terjadi pada trauma asam berat. Pada

endotel, trauma asam akan membentuk membran fibrosa yang merupakan bentuk penyembuhan kerusakan endotel (Kosoko, 2009).

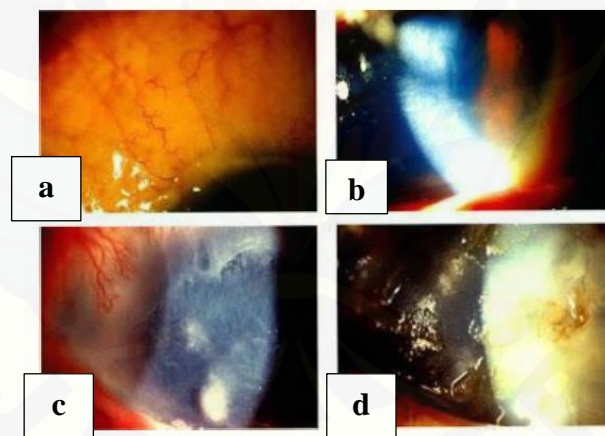
Berbeda dengan trauma asam, trauma basa disebabkan oleh bahan kimia dengan pH diatas 7 (Ilyas, 2008). Basa terdisosiasi menjadi ion hidroksil dan kation di permukaan bola mata. Ion hidroksi membuat reaksi saponifikasi pada membran sel lemak. Sedangkan kation akan berinteraksi dengan kolagen stroma dan glosaminoglikan. Jaringan yang rusak akan menstimulasi respon inflamasi yang merangsang enzim proteolitik sehingga kerusakan bertambah parah. Aktivitas kolagenase menyebabkan terjadinya perlunakan pada kornea. Trauma akibat bahan kimia basa memberikan efek yang sangat bahaya pada mata karena menembus dengan cepat ke kornea, bilik mata depan, dan jaringan retina. Hal ini dikarenakan sifat bahan basa yang hidrofilik dan lipofilik. Trauma basa dapat menyebabkan kekeruhan kornea, edema, neovaskularisasi kornea, dan katarak yang pada akhirnya dapat terjadi pembentukan jaringan parut pada kornea (Kosoko, 2009).

Pada basa kuat, zat kimia basa dapat mengakibatkan saponifikasi disertai dengan disosiasi asam lemak dan membran sel. Akibatnya, mukopolisakarida jaringan akan menghilang dan terjadi penggumpalan sel kornea atau keratosit. Serat kolagen kornea akan membengkak dan stroma akan mati. Edema kornea ini mengakibatkan infiltrasi dari sel polimorfonuklear ke dalam stroma dan neovaskularisasi. Sel epitel akan lepas (*epitel cell loss*) ketika sel epitel basal rusak. Epitel yang baru akan melekat pada stroma di bawah nya melalui aktivasi plasminogen. Aktivasi plasminogen turut diikuti dengan pelepasan kolagenase yang akan merusak kolagen kornea. Akibatnya, penyembuhan epitel kornea akan terganggu yang selanjutnya menghasilkan ulkus kornea (Kosoko, 2009).

Dalam perjalanannya, kerusakan yang terjadi akibat trauma meliputi terjadinya nekrosis dan kerusakan persisten pada epitel kornea. Penetrasi yang dalam dapat mengakibatkan opasifikasi atau kekeruhan pada kornea sehingga mengganggu penglihatan. Pada tahap penyembuhan, upaya epitelisasi terjadi dengan bermigrasinya sel-sel epitelial yang berasal dari stem sel limbus.

Kerusakan kolagen stroma akan difagosit oleh keratosit dan terjadi sintesis kolagen yang baru (Tsai *et al.*, 2011).

Trauma kimia dapat diklasifikasikan menurut derajat keparahannya. Derajat keparahan ini dinilai dari perubahan struktur histologis mata. Gambaran derajat trauma dapat dilihat pada Gambar 2.4. Menurut klasifikasi Roper-Hall (Ballen), kerusakan kornea dibagi menjadi 4 derajat. Derajat satu memiliki prognosis yang baik dan ditandai dengan kerusakan epitel kornea serta tidak terdapatnya iskemia limbus. Derajat dua memiliki prognosis yang baik namun disertai kornea berkabut dan disertai dengan iskemia limbus kurang dari sepertiga. Derajat tiga ditandai dengan lepasnya epitel keseluruhan, stroma yang berkabut, detail iris buram, dan 1/3-1/2 iskemia limbus. Derajat yang memiliki prognosis terburuk ialah derajat empat yang ditandai dengan kekeruhan kornea, iris dan pupil yang buram, serta lebih dari 1/2 iskemia limbus (Drake *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2013).



(a) Derajat 1; (b) Derajat 2; (c) Derajat 3; (d) Derajat 4.

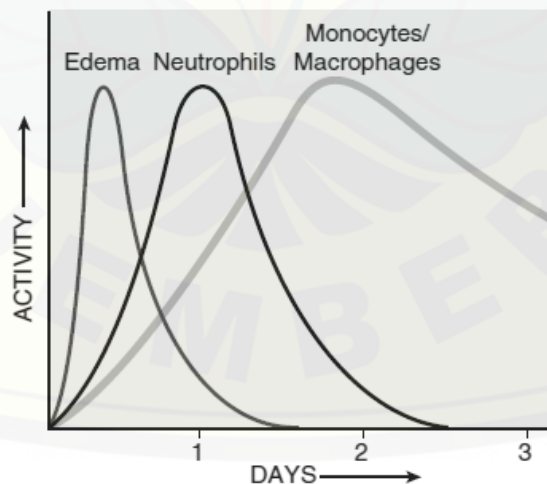
Gambar 2.4 Klasifikasi derajat trauma kimia (Drake *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2013)

2.4 Inflamasi

Inflamasi merupakan respon jaringan vaskuler terhadap infeksi dan kerusakan jaringan yang menyebabkan migrasinya sel dan molekul sistem imun dari sirkulasi ke area yang dibutuhkan untuk melawan antigen. Antigen yang berada di jaringan ekstravaskuler dikenali oleh sel imun host. Kemudian leukosit

dan protein plasma akan diinduksi dari sirkulasi ke area antigen berada. Leukosit dan protein plasma akan diaktivasi dan bekerja sama melawan antigen. Reaksi inflamasi akan dikontrol dan diakhiri jika antigen telah tereliminasi. Setelah proses inflamasi akut selesai, jaringan yang rusak akan diperbaiki. Manifestasi luar dari inflamasi atau *cardinal sign* yang menjadi pertanda adanya inflamasi meliputi *calor*/panas, *rubor*/kemerahan, *tumor*/bengkak, *dolor*/nyeri, dan *functio lesa*/hilangnya fungsi (Kumar *et al.*, 2018).

Inflamasi terbagi menjadi dua jenis, yaitu inflamasi akut dan inflamasi kronis. Inflamasi akut merupakan respon awal dan cepat terhadap infeksi dan kerusakan jaringan dalam hitungan menit, jam, hingga beberapa hari seperti pada Gambar 2.5. Inflamasi akut memiliki ciri berupa adanya eksudasi, edema, dan migrasi leukosit (didominasi oleh polimorfonuklear). Ketika respon akut dapat mengatasi dan mengeliminasi antigen, respon selanjutnya merupakan perbaikan jaringan. Namun jika gagal, maka akan memasuki inflamasi kronis. Inflamasi kronis berlangsung lebih lama dan terkadang disertai oleh destruksi jaringan, migrasi limfosit dan makrofag, proliferasi vaskuler, serta terbentuknya jaringan fibrosis (Kumar *et al.*, 2018).

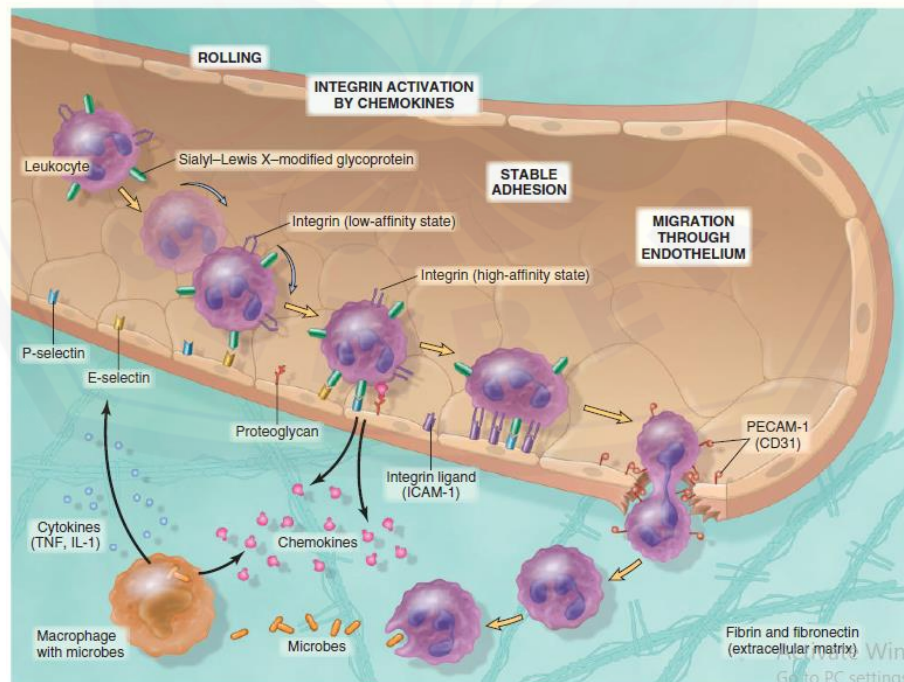


Keterangan: Peningkatan neutrofil memuncak 24 jam paska paparan dan mulai menurun dengan disertai kenaikan jumlah makrofag.

Gambar 2.5 Aktivitas neutrofil pada inflamasi akut (Kumar *et al.*, 2018).

Penyebab inflamasi adalah adanya infeksi, nekrosis jaringan, benda asing, dan reaksi imun atau hipersensitivitas. Penyebab tersebut akan dikenali oleh sel imun jaringan seperti sel dendritik, sel mast, dan sel makrofag. Sel-sel tersebut mengeluarkan molekul sitokin dan mediator lain yang menginduksi dan mengatur respon inflamasi. Mediator inflamasi juga diproduksi dari protein plasma yang bereaksi dengan mikroba dan sel nekrotik. Beberapa sitokin proinflamasi akan mengundang leukosit pada sirkulasi ke tempat antigen berada. Mediator ini juga mengaktifkan leukosit untuk merusak dan membuang antigen (Kumar *et al.*, 2018).

Leukosit yang diundang ke area inflamasi memerankan fungsi kunci dari eliminasi antigen. Kemampuan terpenting dari leukosit adalah kemampuan fagositnya, seperti pada neutrofil dan makrofag. Neutrofil yang diproduksi di sumsum tulang dengan cepat bermigrasi dari vaskuler ke area inflamasi. Sedangkan makrofag akan bekerja lebih lambat untuk merespon. Leukosit menelan dan merusak bakteri, mikroba lain, jaringan nekrotik, dan benda asing (Kumar *et al.*, 2018). Proses migrasi neutrofil ke jaringan ditunjukkan pada Gambar 2.6.



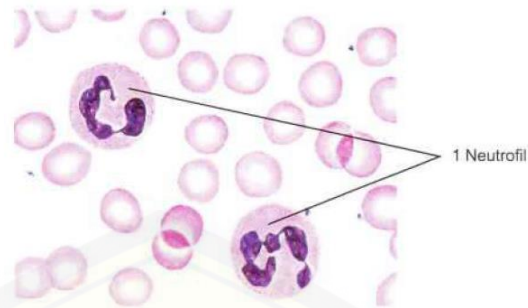
Gambar 2.6 Proses infiltrasi neutrofil dari pembuluh darah ke jaringan (Kumar *et al.*, 2018).

Pada saat inflamasi, aliran darah akan melambat dan terjadi perubahan hemodinamik, sel darah putih termasuk neutrofil akan berada di bagian perifer mendekati endotel kapiler. Kondisi ini dinamakan *margination*. Ketika endotel teraktivasi oleh sitokin dan mediator lokal, akan terjadi adesi leukosit ke endotel. Sitokin yang diproduksi oleh sel jaringan sebagai respon antigen atau jejas akan mengundang leukosit termasuk neutrofil ke jaringan melewati endotel. Selanjutnya leukosit akan melaksanakan tugas nya untuk mengeliminasi antigen (Kumar *et al.*, 2018).

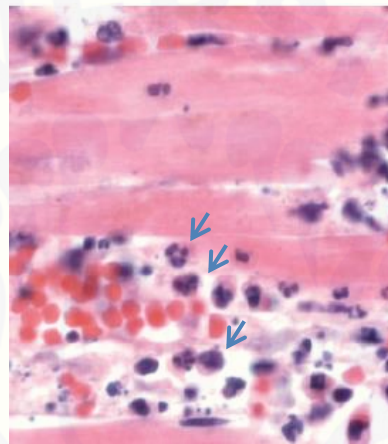
Walaupun inflamasi merupakan proses yang normal, pada beberapa keadaan reaksi inflamasi menjadi penyebab penyakit dan kerusakan jaringan. Konsekuensi dari pertahanan dengan leukosit merupakan kerusakan jaringan dan inflamasi berkepanjangan. Hasil produk leukosit akan merusak mikroba dan membantu membersihkan jaringan nekrosis. Jika produk ini diekresi secara berlebihan maka produk ini akan menyebabkan *colateral damage* yang merusak sel normal dari host (Kumar *et al.*, 2018).

2.4.1 Morfologi dan Fungsi Neutrofil

Neutrofil merupakan salah satu jenis leukosit dari kelompok granulosit yang aktif dari sistem pertahanan tubuh. Leukosit terdiri dari granulosit (neutrofil, basofil, dan eosinofil), monosit, dan limfosit. Sebagian granulosit, monosit, dan sedikit limfosit diproduksi oleh sumsum tulang sedangkan sebagian lagi dibentuk di jaringan limfe (limfosit dan sel-sel plasma). Pada manusia dewasa terdapat sekitar 7000 sel darah putih/ μL darah (Price dan Wilson, 2005; Sa'adah, 2005). Bentuk neutrofil dapat dilihat pada Gambar 2.7 dan 2.8.



Gambar 2.7 Gambaran neutrofil pada sediaan darah tepi (Eroschenko V. P., 2008).



Gambar 2.8 Gambaran neutrofil (panah biru) pada jaringan (Kumar *et al.*, 2018).

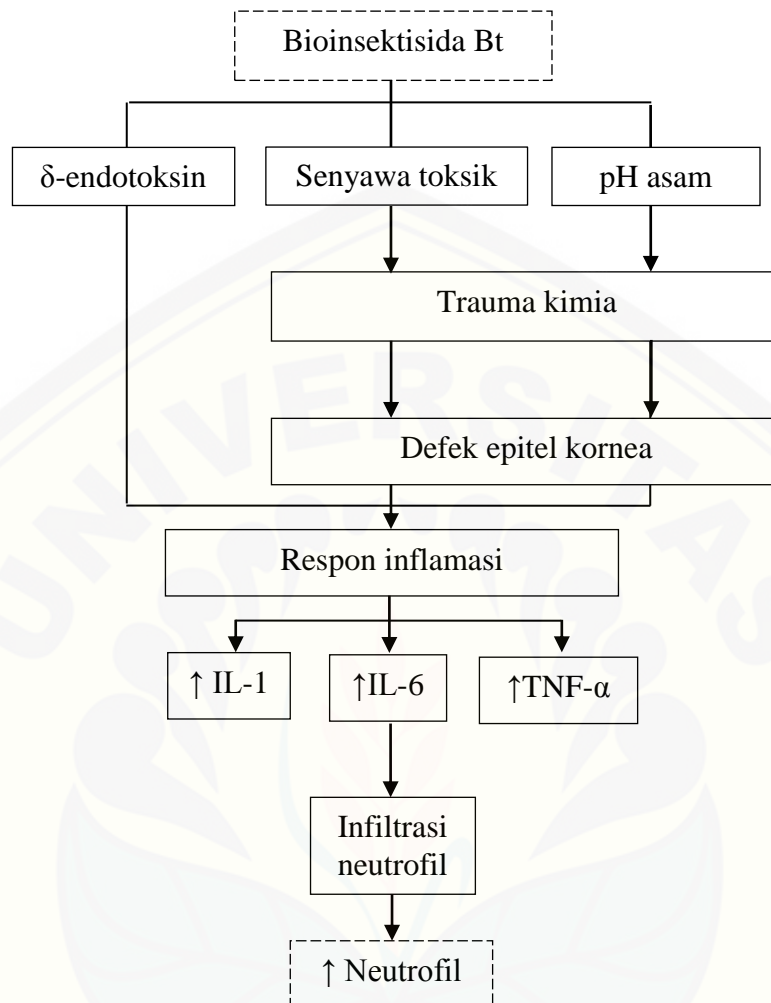
Sebagai salah satu jenis leukosit tipe granulosit, neutrofil memiliki sel-sel granula pada sitoplasmanya. Sel-sel granulosit memiliki peran penting dalam proses inflamasi (Price and Wilson, 2005). Pada proses inflamasi, sel yang pertama muncul dalam jumlah besar di dalam eksudat pada jam pertama adalah neutrofil. Inti sel neutrofil memiliki lobus yang tak teratur atau polimorf, sehingga sel ini disebut neutrofil polimorfonuklear. Granula yang tampak pada sitoplasma neutrofil merupakan kumpulan dari beberapa enzim, yaitu hidrolase, protease, lipase, dan fosfatase. Granula-granula tersebut juga berhubungan dengan berbagai zat antimikroba sehingga neutrofil mengandung berbagai enzim dan partikel-partikel antimikroba. Neutrofil mampu bergerak aktif dan mampu menelan berbagai zat melalui proses fagositosis (Price dan Wilson, 2005).

2.4.2 Peran Neutrofil pada Inflamasi Kornea

Neutrofil memiliki peran pada kejadian inflamasi di kornea. Cidera pada permukaan kornea akan menimbulkan respon inflamasi. Respon inflamasi kornea ditandai oleh aktivasi sel-sel kornea khususnya keratosit stroma dan penginduksian leukosit untuk menghasilkan mediator lipid dan protein yang nantinya akan memulai, memperkuat, dan akhirnya mengatasi peradangan (Marazzo *et al.*, 2011).

Inflamasi pada mata akan menstimulasi sitokin proinflamasi. Begitu juga endotoksin dan eksotoksin yang dihasilkan bakteri, ia juga akan menstimulasi pelepasan substansi seperti interleukin (IL) 1, IL-6, dan *tumor necrosing factor* (TNF), dan faktor-faktor yang membantu adhesi dan migrasi leukosit. Sitokin-sitokin tersebut menginduksikan neutrofil ke jaringan sebagai mekanisme penting dalam mengontrol infeksi dari bakteri (Tallab dan Stone, 2016). Neutrofil berinfiltrasi ke stroma kornea melalui lapisan air mata dan pembuluh darah limbus. Berkumpulnya neutrofil ke lokasi inflamasi ini menyebabkan akumulasi dan kenaikan jumlah neutrofil. Infiltrasi sel-sel inflamasi ke jaringan yang cidera merupakan respon perbaikan luka. Neutrofil di dalam stroma kornea ditemukan sejak 6 jam setelah cedera. Jumlah neutrofil terbanyak muncul pada 24-48 jam setelah cedera, setelah itu sel-sel lainnya seperti makrofag mulai muncul. Neutrofil memiliki fungsi fagositosis untuk membersihkan patogen dan debris-debris seluler namun pada saat yang sama neutrofil akan melepaskan enzim yang mampu merusak sel inang. Penginduksian neutrofil secara berlebihan dalam mengatasi cedera juga berkontribusi terhadap kerusakan jaringan (Marazzo *et al.*, 2011).

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.9 Kerangka konsep

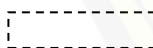
Keterangan :



: Tidak diteliti



: Menyebabkan



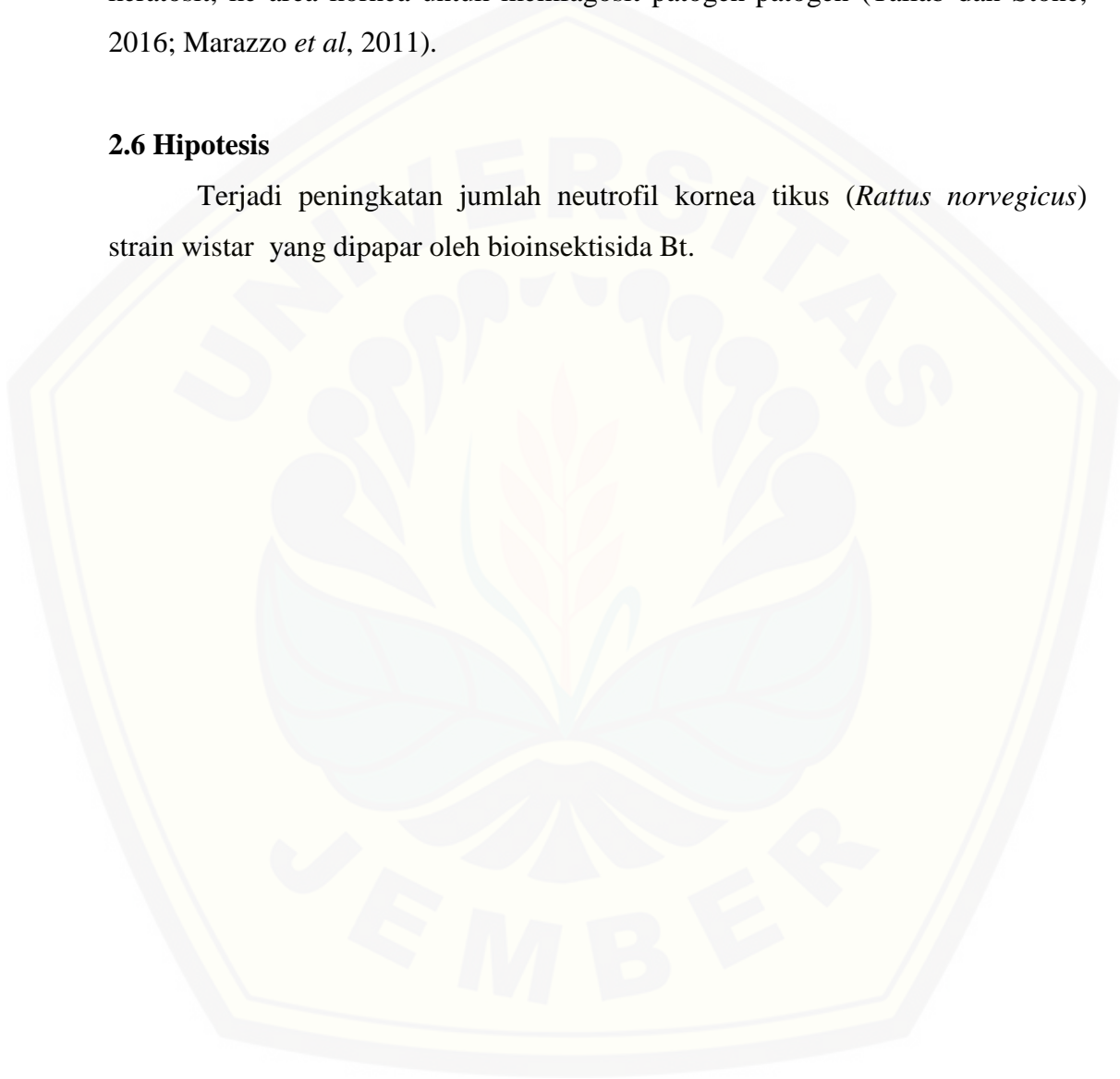
: diteliti

Bioinsektisida Bt memiliki komponen kimia dan biologis. Komponen kimia asam ini menyebabkan trauma kimia pada mata sehingga terjadi defek epitel pada kornea. Komponen biologis berupa δ -endotoksin bakteri dapat menyebabkan inflamasi pada kornea pada tikus. Dengan adanya defek epitel, maka infiltrasi dari agen infeksi dapat masuk semakin dalam. Reaksi tersebut

dapat menimbulkan adanya respon inflamasi. Agen pro-inflamasi seperti IL-1, IL-6, dan TNF akan dilepaskan. Sitokin-sitokin tersebut menginduksi neutrofil untuk bermigrasi ke area yang mengalami inflamasi. Neutrofil ini bermigrasi daripembuluh darah limbus dan melalui stroma, kemungkinan dibantu oleh keratosit, ke area kornea untuk memfagosit patogen-patogen (Tallab dan Stone, 2016; Marazzo *et al*, 2011).

2.6 Hipotesis

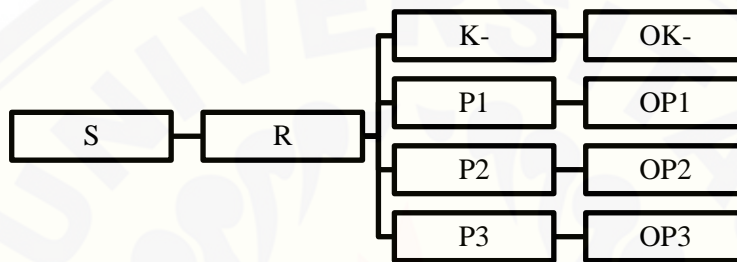
Terjadi peningkatan jumlah neutrofil kornea tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang dipapar oleh bioinsektisida Bt.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental (*true experimental*) dengan metode *post test only control group design*, yaitu pengambilan data dilakukan setelah perlakuan yang bertujuan untuk mengetahui efek, gejala, atau akibat dari suatu perlakuan tertentu.



Gambar 3.1 Pengelompokan subjek penelitian

Keterangan :

S : Sampel

R : Random

K- : Irigasi normal saline selama 7 hari dengan frekuensi 1 kali/hari pada mata kanan hewan uji

P1 : Irigasi bioinsektisida Bt konsentrasi 8 g/L selama 7 hari dengan frekuensi 1 kali/hari pada mata kanan hewan uji

P2 : Irigasi bioinsektisida Bt konsentrasi 10 g/L selama 7 hari dengan frekuensi 1 kali/hari pada mata kanan hewan uji

P3 : Irigasi bioinsektisida Bt konsentrasi 12 g/L selama 7 hari dengan frekuensi 1 kali/hari pada mata kanan hewan uji

OK : Data hasil pengamatan K-

OP1 : Data hasil pengamatan P1

OP2 : Data hasil pengamatan P2

OP3 : Data hasil pengamatan P3

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2019 hingga Februari 2020 di Laboratorium Farmakologi dan Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember serta Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

3.3 Sampel Penelitian

3.3.1 Sampel

Sampel dari penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Ratus norvegicus*) strain wistar dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berupa:

a. Kriteria Inklusi

- 1) Jenis tikus putih jantan yang dipelihara khusus untuk penelitian.
- 2) Usia 10-12 minggu dengan berat antara 150-250 gram.
- 3) Tidak memiliki kelainan pada segmen anterior mata (keratitis dan defek epitel).
- 4) Tikus sehat (aktif, bulu putih bersih, mata cerah, dan tidak cacat).

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Tikus yang mati selama perlakuan.

3.3.2 Besar Sampel

Besar sampel dalam penelitian ini ditentukan menggunakan rumus Frederer. Rumus Frederer digunakan untuk mencari jumlah pengulangan tiap kelompok.

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

Keterangan :

n : Jumlah sampel tiap kelompok

t : Jumlah kelompok perlakuan

Jika jumlah kelompok perlakuan dalam penelitian ini sebanyak 4 kelompok, maka didapatkan jumlah sampel tiap kelompok sebagai berikut:

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

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

$$n \geq 6$$

Dari rumus tersebut didapatkan jumlah sampel tiap kelompok sebanyak 6 ekor sehingga sampel yang digunakan adalah 24.

3.4 Jenis dan Sumber Data

Data pada penelitian ini didapatkan dengan cara memeriksa peningkatan jumlah neutrofil kornea tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang dipapar oleh bioinsektisida Bt.

3.5 Definisi Operasional Variabel dan Skala Pengukurannya

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah bioinsektisida Bt. Bioinsektisida ini mengandung kristal protein yang disebut δ -endotoksin (Hofte dan Whiteley, 1989). Bioinsektisida Bt yang digunakan merupakan bioinsektisida dengan merk dagang Dipel WG dari distributor PT Nufarm Indonesia. Berdasarkan lembar data keamanan yang dikeluarkan oleh Sumitomo Chemical (2017), Dipel WG/DF memiliki bahan aktif berupa Bt *subsp. Kurtaski strain* ABTS-351, *serotype 3a3b* dan sodium sulfat. Bt dilarutkan dengan *aquades* sehingga didapatkan konsentrasi 8 g/L, 10 g/L, 12 g/L sebelum diinduksikan pada mata tikus. Alat ukur yang digunakan dalam menentukan konsentrasi larutan bioinsektisida Bt ini adalah neraca Ohaus dan tabung ukur. Skala pengukuran yang digunakan untuk variabel bebas adalah ordinal.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah jumlah neutrofil. Jumlah neutrofil dihitung pada 5 lapang pandang yang kemudian

direrata untuk menghasilkan data dengan satuan sel/lapang pandang. Jumlah neutrofil diukur secara *direct counting* dengan metode *double blind* (Carlson *et al*, 2010). Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya merk Olympus dengan perbesaran 400x yang dilengkapi dengan kamera/*optilab* oleh dua pengamat yang telah dilatih oleh ahli patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Skala pengukuran yang digunakan untuk variabel terikat adalah rasio.

3.6 Metode Analisis Data

3.6.1 Alat dan Bahan

a. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah sebagai berikut:

- 1) Alat pemeliharaan tikus adalah sarung tangan, bak plastik, kawat penutup bak, botol minum, dan label kandang.
- 2) Alat penginduksi adalah *baker glass* dan spuit 3 ml.
- 3) Alat pembuatan larutan bioinsektisida: gelas ukur, tabung ukur, dan *magnetic stirer*.
- 4) Alat anestesi adalah spuit dan jarum 30-gauge.
- 5) Alat pembuatan preparat adalah alat bedah (*minor set*), wadah jaringan, pewarnaan Hematoxilin-eosin (HE), rak pengecatan, pipet pastour, tisu, kasa, *cover glass*, *object glass*, *staining jar*.
- 6) Alat pengukuran adalah mikroskop cahaya, kamera/*optilab*.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah sebagai beriku:

- 1) Bahan pemeliharaan tikus adalah makanan pelet, air, dan sekam.
- 2) Bahan penginduksi adalah bioinsektisida Bt yang telah dilarutkan dan hypafix.
- 3) Bahan anestesi adalah *ketamine:hydrochlorine*
- 4) Bahan pengecatan Hematoksilin-eosin adalah xylol, alkohol, *aquadest*, cat hematoksilin, larutan HCl, cat eosin, litium karbonat 0,5%.

3.6.2 Prosedur Penelitian

a. Uji kelayakan etik

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus yang dalam pelaksanaannya harus mendapat sertifikasi kelayakan etik. Prosedur ini bertujuan guna menjamin keamanan bagi peneliti dan hewan coba selama penelitian serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember dengan surat nomor: 1343/H25.1.11/KE/2019.

b. Aklimatisasi dan pemeliharaan hewan coba

Tikus diaklimatisasikan selama satu minggu dengan lingkungannya untuk mengurangi resiko stres dan kematian tikus. Alas kandang, tempat pakan, tempat minum, sisa pakan, dan kotoran tikus dibersihkan setiap dua hari sekali untuk menghindari timbulnya penyakit. Standar pemeliharaan tikus disesuaikan dengan standar pemeliharaan hewan uji di Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

c. Pemilihan dan Pembagian Hewan Coba

Jumlah hewan coba yang digunakan ialah 24 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang kemudian dibagi menjadi 4 kelompok secara *random allocation* dengan membagi sampel ke dalam kelompok secara acak. Pembagian kelompok dilakukan seperti pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

Kode	Nama Kelompok	Bentuk Perlakuan
K-	Kontrol	Irigasi normal saline selama 7 hari dengan frekuensi 1 kali/hari pada mata kanan hewan uji
P1	Perlakuan 1	Irigasi bioinsektisida Bt konsentrasi 8g/l selama 7 hari dengan frekuensi 1 kali/hari pada mata kanan hewan uji
P2	Perlakuan 2	Irigasi bioinsektisida Bt konsentrasi 10g/l selama 7 hari dengan frekuensi 1 kali/hari pada mata kanan hewan uji
P3	Perlakuan 3	Irigasi bioinsektisida Bt konsentrasi 12g/l selama 7 hari dengan frekuensi 1 kali/hari pada mata kanan hewan uji

d. Pembuatan larutan bioinsektisida Bt

Pembuatan larutan bioinsektisida Bt dilakukan dengan mencampurkan bubuk bioinsektisida Bt dan *aquades* kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*.

e. Anestesi hewan coba

Hewan coba dianestesi menggunakan anestesi umum berupa ketamin-*hydrochloride* 75-100 mg/KgBB secara intraperitoneal.

f. Penginduksian bioinsektisida Bt

Mata hewan coba, yang telah diadaptasi dan dianestesi, ditetesi dengan cairan bioinsektisida Bt pada mata kanan sebanyak 3 ml yang dihabiskan dalam 2 menit. Mata tikus yang diinduksi kemudian dipejamkan dan ditutup menggunakan plester Hipafix.

g. Terminasi dan enukleasi

Hewan coba diterminasi dengan teknik *cervical dislocation*. Mata hewan coba 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. Setelah M. Orbicularis oculi tersayat, mata kemudian dilepaskan dari nervus optikus dan jaringan lain yang berada pada bagian posterior mata.

h. Pembuatan sediaan histopatologi

Bola mata difiksasi dalam 10% *buffer normal formaline*. Pembuatan jaringan dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE) dilakukan Laboratorium Patologi Anatomi, RSD dr. Soebandi, Jember.

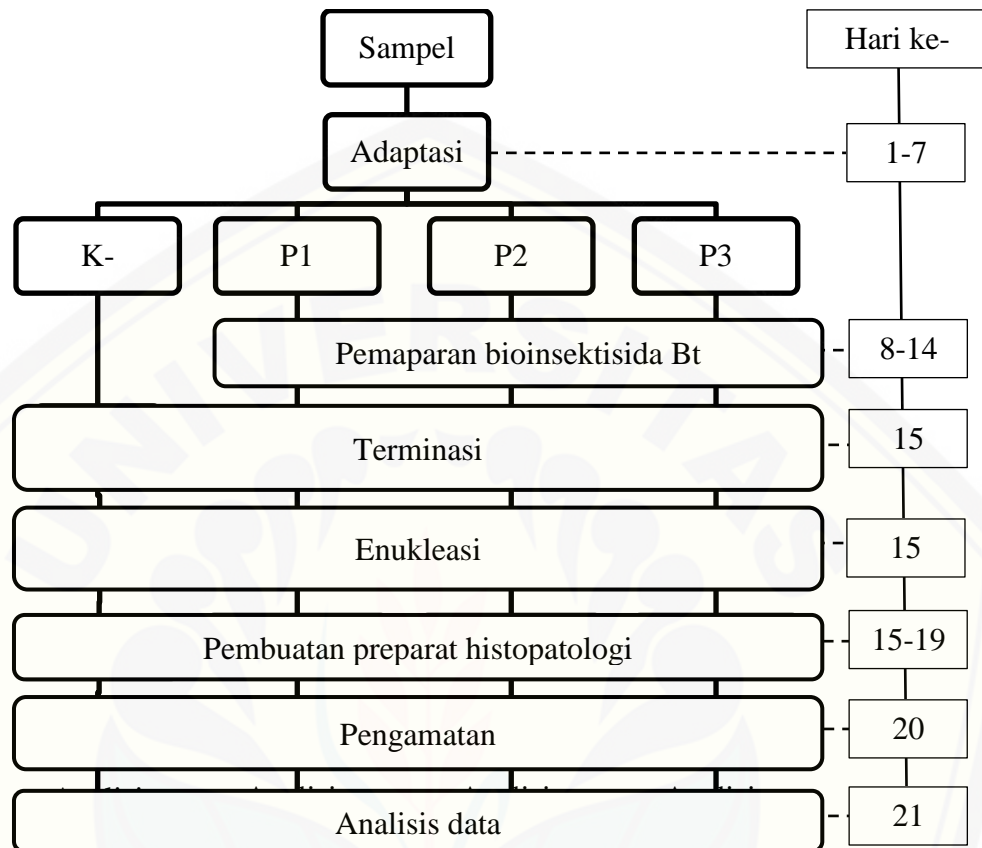
i. Pengamatan histopatologi

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya merk Olympus dengan perbesaran 400x yang dilengkapi dengan kamera/*optilab*. Gambar yang telah didapatkan kemudian dianalisa 2 pengamat yang telah dilatih oleh ahli patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk dihitung jumlah neutrofil pada 5 lapang pandang kornea. Pengamatan dilakukan secara vertikal dan horizontal tergantung bentuk kornea pada preparat.

3.6.3 Analisis Data

Data yang terkumpul diolah untuk menjelaskan setiap variabel. Data berupa jumlah neutrofil kemudian dianalisis dengan aplikasi statistik SPSS 20 untuk windows dan Microsoft Excel 2017. Nilai *mean* dan standar deviasi diolah dengan program Microsoft Excel 2010 untuk mencari peningkatan jumlah neutrofil. *Mean* dihitung menggunakan rumus $=\text{average}(\text{rentang data})$ dan standar deviasi dihitung dengan rumus $=\text{stdev.s}(\text{rentang data})$. Pada uji normalitas *Saphiro-Wilk* didapatkan distribusi data yang tidak normal pada beberapa kelompok perlakuan sehingga uji beda dilakukan menggunakan uji statistik *Kruskal-wallis* pada SPSS.

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Terjadi peningkatan jumlah neutrofil pada kornea tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar oleh bioinsektisida Bt.

5.2 Saran

Saran yang dapat dijadikan rekomendasi penelitian selanjutnya ialah:

1. Perlu adanya uji lebih lanjut mengenai bahan aktif, bahan adjuvan, dan komponen lainnya pada produk bioinsektisida Bt untuk mengetahui penyebab utama yang menyebabkan peningkatan jumlah neutrofil. Selain itu, dapat juga dilakukan penelitian dengan bioinsektisida lain yang lebih jelas komposisinya.
2. Perlu penelitian lanjutan dengan metode yang berbeda untuk memperoleh reaksi inflamasi yang lebih optimal seperti penggunaan dosis berpangkat (1 g/L, 10 g/L, 100 g/L, dan seterusnya).

DAFTAR PUSTAKA

- Abulreesh, H. H., G. E. H. Osman, dan A. S. A. Assaeedi. 2012. Characterization of insecticidal genes of *Bacillus thuringiensis* strains isolated from arid environments. *Ind. J. microbiol.* 52(3): 500-503.
- Aseta, F. B., P. M. Mwachaka, P. O. Odula, dan A. K. Malek. 2016. Histomorphological changes in the cornea of rat following monocular eyelid closure. *An International Journal of Experimental and Clinical Anatomy.* 10(2): 87-93.
- Azar, D. T. 2006. Corneal Angiogenic Privilege: Angiogenic and Antiangiogenic Factors in Corneal Avascularity, Vasculogenesis, and Wound Healing (An American Ophthalmological Society Thesis). *Trans American Ophthalmology Society.* 104: 264-302.
- Bahagiawati. 2002. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai Bioinsektisida. *Buletin AgroBio.* 5(1):21-28.
- Bravo, A., S. S. Gill, dan M. Sobero'n. 2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon.* 49:423-435.
- Carlson, E. C., Y. Sun, J. Auletta, W. W. -Y. Kaon, C. Y. Liu, V. L. Perez, dan E. Pearlman. 2010. Regulation of corneal inflammation by neutrophil-dependent cleavage of keratan sulfate proteoglycans as a model for breakdown of the chemokine gradient. *Journal of Leukocyte Biology.* 88(3): 517-522.
- Djojosumarto, P. 2008. *Pestisida dan Aplikasinya.* Yogyakarta: Agromedia Pustaka.
- Drake, B., R. Paterson, G. Tabin, F. Butler, T. Cushing. 2012. Treatment of Eye Injuries and Illnesses in the Wilderness. *Denver Health Medical Center. Denver, wilderness and environmental medicine.* 23:325-336.
- Eroschenko, V. P. 2008. *diFiore's Atlas of Histologi with Functional Correlations.* 11th ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins/Wolters Kluwer Health Inc.
- Eslani, M., A. Baradaran-Rafii, A. Movaheand, dan A.R. Djalilian. 2014. The ocular surface chemical burns. *Journal of Ophthalmology.* 196827: 1-9.
- Forsty, G., dan N.A Logan. 2000. Isolation of *Bacillus thuringiensis* from Northern Victoria Land, Antartica. *Lett. Appl. Microbiol.* 30: 263- 266.
- Gill, S. S. 1995. Mechanism of Action of *Bacillus thuringiensis* Toxins. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 90(1):69-74.

- Hanson, A. F. 2004. The Rat's Eyes. [http://www. Ratbehavior.org/Eyes.htm](http://www.Ratbehavior.org/Eyes.htm). [Diakses pada 28 Mei 2020].
- Hofte, H., dan H. R. Whiteley. 1989. Insecticidal Crystal Proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews*. 53(02): 242-255.
- Ilyas, S. 2008. *Penuntun Ilmu Penyakit Mata*. Edisi Ketiga. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Iriarte, J. M., M. Porcar, M. Lecadet, dan P. Caballero. 2000. Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from aquatic environments in Spain. *Curr. Microbiol.* 40: 402-408.
- Joyce, N. C. 2003. Proliferative capacity of the corneal endothelium. *Prog Retin Eye Res.* 22:359.
- Joyce, N. C., D.L. Harris, dan D.M. Mello. 2002. Mechanisms of miotic inhibition in corneal endothelium: contact inhibition and TGF-beta2. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43:2152.
- Kaur, M., R. Sinha, dan N. Sharma. 2014. Acute Chemical Injuries. *DOS Times*. 19(9): 41-45.
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2016. *Pestisida: Pertanian dan Kehutanan Tahun 2016*. Jakarta: Direktorat Pupuk dan Pestisida.
- Khurana, A. K. 2007. *Comprehensive Ophthalmology*. 4th ed. New Delhi: New Age International (P) Ltd., Publishers.
- Kosoko, A., Q. Vu., dan O. Kosoko-Lasaki. 2009. Chemical ocular burns: A Case Review. *American journal of clinical medicine*. 6(3): 41-49.
- Kumar, V., Abbas, A. K., dan Aster, J. C. 2018. *Robbins basic pathology*. 10th ed. Philadelphia: Elsevier.
- Lang, G. K. 2000. *Ophthalmology: A Short Textbook*. New York: Thieme Medical Publisher.
- Maeda, M., E. Mizuki, Y. Nakamura, T. Hatano, dan M. Ohba. 2000. Recovery of *Bacillus thuringiensis* from marine sediments of Japan. *Curr. Microbiol.* 40: 418-422.
- 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*.
- Marrazzo, G., L. Bellner, A. Halilovic, G. L. Volti, F. Drago, M. W. Dunn, M. L. Schwartzmann. 2011. The Role of Neutrophils in Corneal Wound Healing in HO-2 Null Mice. *PLoS ONE*. 6(6): e21180.

- Mazid, S., J. C. Kalida, dan R. C. Rajkhowa. 2011. A Review on The Use of Biopesticides in Insect Pest Management. *Int J Sci Adv Technol.* 1:169–178.
- Meadows, M. P. 1993. *Bacillus thuringiensis* in the Environment: Ecology and Risk Assessment. Dalam *Bacillus thuringiensis*, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice. P. F. Entwistle, J. S. Cory, M. J. Bailey dan S. Higgs eds. John Wiley and Sons, New York, N.Y., 193-220.
- 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.
- Oh, J. Y., H. Choi, R. H. Lee, G. W. Roddy, J. H. Ylostalo, E. Wawrousek, dan D. J. Prockop. 2012. Identification of the HSPB4/TLR2/NF-kappaB axis in macrophage as a therapeutic target for sterile inflammation of the cornea. *EMBO Mol Med.* 4(5):435–448.
- Osman, G. E. H., R. Already, A. S. A. Assaeedi, S. R. Organji, D. El-Ghareeb, H. H. Abulreesh, dan A. S. Althubiani. 2015. Bioinsecticide *Bacillus thuringiensis* a Comprehensive Review. *Egyptian Journal of Biological Pest Control.* 25(1): 271-288.
- Pakpahan, M., C. N. Ekowati, K. Handayani. 2013. Karakterisasi Fisiologi dan Pertumbuhan Isolat Bakteri *Bacillus thuringiensis* dari Tanah Naungan di Lingkungan Universitas Lampung. *Seminar Nasional Sains & Teknologi V.* 19-20 November 2013. *Lembaga Penelitian Universitas Lampung:* 751-759.
- Peterson, D. C., dan R. N. Hamel RN. 2019. Corneal Reflex. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534247/>. [Diakses pada 04 Maret 2020].
- Price, S. A., dan L. M. Wilson. 2002. *Pathophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes 6/E*. Amsterdam: Elsevier. Terjemahan oleh B. U. Pendi, H. Hartanto, P. Wulansari, D. A. Mahanani. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit E/6, Vol. 1*. Jakarta: EGC.
- Radosavljević, A., T. Kalezić, dan S. Golubović. 2013. The Frequency of Chemical Injuries of the Eye in a Tertiary Referral Centre. *School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia.* 141(9-10):592-596.
- Rakhmasari, Y. A., S. Inakawati, S. Sundari, Winarto, dan E. Sasmito. 2015. Comparison of Topical and Subconjunctival Curcumin Injection on Corneal Neovascularization on Alkali Injuries of Wistar's Cornea. *Ophthalmol Ina.* 41:1. 100-104.
- Remington, L. A. 2012. *Clinical Anatomy and Physiology of the Visual System.* 3rd ed. USA: Elsevier.

- Riordan-Eva, P., dan J. J. Augsburger. 2018. *Vaughan & Asbury's general ophthalmology*. 19th ed. New York: McGraw-Hill.
- Roh, J. Yul, J. Y. Choi, M. S. Li, B. R. Jin, dan Y. H. Je. 2007. *Bacillus thuringiensis* as a Specific, Safe, and Effective Tool for Insect Pest Control. *J Microbiol Biotechnol*. 17(4). 547-559.
- Rowe, G. E., dan A. Margartis. 1987. Bioprocess developments in the production of bioinsecticides by *Bacillus thuringiensis*. *Crit. Rev. Biotechnol*. 6(1): 87–127.
- Sa'adah, U. 2005. Perbedaan Pemberian Obat antara Natrium Diklofenak dan Asam Mefenamat terhadap Jumlah Leukosit Polimorfonuklear Neutrofil (PMN) Akibat Luka Gores pada Mencit Jantan Strain BALB/C. *KTI*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Samples, J. R., dan H. Buettner. 1983. Corneal Ulcer Caused by a Biologic Insecticide (*Bacillus thuringiensis*). *American Journal of Ophthalmology*. 95(2): 258-260.
- Senoo, T., dan N. C. Joyce. 2000. Cell cycle kinetics in corneal endothelium from old and young donors. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 41:660.
- Siegel, J. P. 2001. The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. *J. Invertebr. Pathol*. 77: 13–21.
- Singh, P., M. Tyagi, Y. Kumar, K. Gupta, dan P. Sharma. 2013. Ocular chemical injuries and their management. *Oman Journal of Ophthalmology*. 6(2): 83.
- Suckow, M., S. Weisbroth, dan C. Franklin. 2006. *The Laboratory Rat 2nd Ed*. United Kingdom: Elsevier.
- Sularti, dan M. Abi. 2012. Tingkat Pengetahuan Bahaya Pestisida dan Kebiasaan Pemakaian APD Dilihat dari Munculnya Tanda Gejala Keracunan pada Kelompok Tani di Karanganyar. *Jurnal. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Surakarta*. Semarang.154-164.
- Sumitomo Chemical. 2017. *Safety Data Sheet: Dipel DF*. UK: Interfarm (UK) Limited.
- Tallab, R. T., dan D. U. Stone. 2016. Corticosteroid as a therapy for bacterial keratitis: an evidence-based review of 'who, when, why'. *Br J Ophthalmol*. 100:731-735.
- Tewari-Singh, N., D. G. Goswami, R. Kant, D. A. Ammar, D. Kumar, R. W. Enzenauer, R. P. Casillas, C. R. Crutch, J. M. Petrash, dan R. Agarwal. 2017. Histopathological dan Molecular Changes in the Rabbit Cornea From Arsenical Vesicant Lewisite Exposure. *Toxicological Sciences*. 160(2): 420–428.

- Tsai, C., James, Denniston, K. Alastair, Murray, dan I. Philip. 2011. *Oxford American Handbook of Ophthalmology*. Oxford University Press Inc. United Nations. 2019. *Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals*. Eighth revised edition. New York and Geneva: United Nations.
- Venkatesh, R., dan H.L. Trivedi. 2009. Ocular Trauma – Chemical Injuries. *Bombay Hospital Journal*. 51(2): 215-221.
- Wang, J. 2018. Neutrophils in tissue injury and repair. *Cell and Tissue Research*. 371(3): 531-539.
- Wilson, S. L, A. J. El-Haj, dan Y. Yang. 2012. Control of Scar Tissue Formation in the Cornea: Strategies in Clinical and Corneal Tissue Engineering. *J Funct Biomater*. 3:642-687.
- World Health Organization. 1999. *Microbial pest control agent Bacillus thuringiensis*. Report of UNEP/ILO/WHO (EHC,217). Geneva: WHO.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 : SOP Pemeliharaan Hewan Uji

Prosedur Pemeliharaan Hewan Uji Fakultas Kedokteran Universitas Jember	
Tujuan	Mengatur standar pemeliharaan hwan uji.
Prosedur	<p>Alat</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pelindung diri (jas lab, masker, dan sarung tangan) 2. Kandang (<i>Box</i> dan Kawat strimin penutup kandang) 3. Pembersih (sikat dan sapu) <p>Bahan</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pelet 2. Disinfektan (sabun pel dan alkohol) <p>Tata Laksana</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pemberian Makan Hewan Uji <ol style="list-style-type: none"> a. Menyiapkan pakan hewan uji berupa pelet b. Mengambil 1 <i>cup</i> takaran pakan. Pastikan pakan tidak tercecer di ruangan c. Menuangkan pakan di atas permukaan kawat strimin penutup kandang <i>box</i>. Pastikan kandang dalam keadaan kering sehingga pakan tidak rusak. d. Memastikan hewan uji sudah diberi pakan setiap harinya, kecuali untuk tujuan pembedahaan, hewan uji sebelumnya dipuaskan terlebih dahulu selama 24 jam. 2. Penggantian dan pencucian Botol Minum <ol style="list-style-type: none"> a. Mengambil botol minuman yang isinya akan diganti. Membuan air di dalam botol tersebut. b. Membersihkan permukaan luar dan dalam botol maupun penutup dan ujungnya dengan menggunakan

	<p>air, sabun, dan sikat. Kemudian membilas dengan air mengalir. Memastikan tidak ada sisa kotoran pada permukaan luar dan dalam botol dan penutupnya serta tidak ada sisa sabun di botol penutupnya.</p> <ol style="list-style-type: none">c. Mengisikan air ke dalam botol. Memastikan ada sedikit ruang udara di dalam botol kemudian tutup rapat dengan penutupnya. Memastikan tutup tidak lepas pada saat botol dibalikkan.d. Menempatkan botol minuman yang telah diisi ke dalam kandang melalui lubang pada kawat strimin. Memastikan tutup botol tidak bocor dan membasahi kandang. <p>3. Sanitasi Kandang:</p> <ol style="list-style-type: none">a. Menuangkan sekam ke dalam kandang baru sampai ketinggian sekam sekitar 1,5 cm. Memastikan ketebalan sekam pada kandang tidak terlalu tinggi dan tidak terlalu rendah.b. Memindahkan hewan uji satu persatu ke dalam kandang baru kemudian tutup rapat kandang dengan penutup kawat setelah semua hewan uji dipindahkan. Memastikan penandaan yang tertera pada kandang baru sudah benar. Memastikan pula pada saat memindahkan hewan uji ke kandang baru tutup kawat tidak dibuka lebar agar tidak ada hewan uji yang lepas dari kandangnya.c. Meletakkan hewan uji pada kandang baru pada rak pemeliharanya.d. Membuang kotoran hewan di kandang lama ke dalam karung plastik untuk wadah pembuangan. Memastikan bahwa karung pembuangan ini selalu tertutup dan
--	--

	<p>berada dalam kondisi kering.</p> <p>e. Mencuci kandang kotor dengan air mengalir menggunakan sikat dan sabun. Memastikan tidak ada sisa kotoran yang menempel kemudian mengeringkan dan meletakkan di tempat penyimpanan kandang yang sudah tersanitasi.</p> <p>4. Sanitasi Kawat Strimin Penutup Kandang</p> <p>a. Mengambil kawat strimin. Menyikat dengan sikat pembersih kawat strimin, air, dan sabun. Memastikan tidak ada sisa kotoran dan sisa tempat hidup serangga. Memastikan kawat strimin sudah benar-benar bersih dan kering sebelum dipakai atau disimpan.</p> <p>b. Sanitasi dilakukan setiap minggu atau jika kondisi kawat sudah kotor.</p> <p>5. Sanitasi Ruangan Kandang.</p> <p>a. Menyiapkan peralatan sanitasi yang diperlukan, berupa sapu, lap pel, sabun pel, tempat sampah, dan alkohol.</p> <p>b. Memisahkan barang sampah yang terpapar karsinogen dengan sampah lain. Sampah karsinogen dipisahkan dan dibuang sendiri.</p> <p>c. Membersihkan area kandang dari kotoran sisa perlakuan hewan uji menggunakan sapu. Sisa kotoran hewan uji dibuang pada kantong kotoran. Sampah lain dibuang pada tempat sampah.</p> <p>d. Mengepel lantai dan area pembuangan dengan kain pel dan sabun pel.</p> <p>e. Membersihkan peralatan sanitasi dan meletakkan kembali pada tempatnya.</p>
Tenaga	Mahasiswa Keris Lab Farmako

Lampiran 3.2 : SOP Pembuatan Larutan Bioinsektisida Bt

Prosedur Pembuatan Larutan Bioinsektisida Bt	
Tujuan	Mengatur standar pembuatan larutan bioinsektisida Bt.
Prosedur	<p>Alat</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Neraca Ukur 2. Sendok 3. <i>Beaker glass</i> 4. <i>Magnetic stirer</i> 5. Pulpen <p>Bahan</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Bioinsektisida Bt merk dagang Dipel WG dari PT. Nufarm Indonesia 2. Aquadest 3. Kertas label <p>Tata Laksana</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Menyiapkan alat dan bahan 2. Memberi label pada masing-masing <i>beaker glass</i> dengan tanda sebagai berikut: <ol style="list-style-type: none"> a. Gelas 1 = 8 g/L b. Gelas 2 = 10 g/L c. Gelas 3 = 12 g/L 3. Menimbang masa bubuk bioinsektisida Bt menggunakan neraca ukur sebagai berikut: <ol style="list-style-type: none"> a. Gelas 1 = 160 mg b. Gelas 2 = 200 mg c. Gelas 3 = 240 mg 4. Mengukur volume aquadest dengan menggunakan tabung ukur sebanyak 20 mL untuk masing-masing konsentrasi.

	<p>5. Menyampur aquadest dengan bubuk bioinsektisida Bt sehingga didapatkan ukuran sebagai berikut:</p> <ul style="list-style-type: none">a. Gelas 1 = 160 mg/20 mLb. Gelas 2 = 200 mg/20 mLc. Gelas 3 = 240 mg/20 mL <p>6. Menghomogenkan larutan menggunakan <i>magnetic stirrer</i> dengan kecepatan 400 ppm selama 5 menit.</p>
Tenaga	Mahasiswa Keris Lab Farmako



Lampiran 3.3: SOP Anestesi Tikus Pra-Perlakuan**Alat**

1. Spuit 30 G

Bahan

1. *Ketamine Hydrochloride* 10%
2. Akuadest

Tata Laksana

1. Membuat larutan anestesi menggunakan *Ketamine Hydrochloride* 10 % dengan dosis terapi 75-100 mg/kgBB. Karena tikus yang dipakai memiliki berat rata-rata 200 g maka jumlah anestesi yang diberikan sebanyak 15-20 mg. Dalam 1 ml ketamin cair mengandung bahan aktif sebanyak 10 mg sehingga ketamin yang diberikan sebanyak 1,5-2ml.
2. Memegang tikus 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.
3. Melakukan injeksi dengan lubang jarum menghadap ke atas dan menusukkan pada *lower right quadrant* pada abdomen tikus dengan sudut 30-40°.
4. Mengamati tikus apakah terdapat tanda-tanda sakit atau tidak nyaman karena injeksi, seperti menjilati atau menggaruk daerah injeksi dan tikus membentuk postur membungkuk.
5. Mengevaluasi hasil anestesi menggunakan refleks pedal 5 menit setelah injeksi dilakukan, yaitu dengan mencubit regio metacarpal pada kaki belakang di antara jari telunjuk dan jari jempol tikus.

Lampiran 3.4 : SOP Induksi Bioinsektisida Bt

Prosedur Induksi Bioinsektisida Bt	
Tujuan	Mengatur standar penginduksian larutan bioinsektida Bt
Prosedur	<p>Alat</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pinset 2. <i>Stopwatch</i> 3. Spuit 3 cc <p>Bahan</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <i>Ketamine Hydrochloride</i> 10% dengan dosis 80 mg/kgBB. 2. Akuadest 3. Larutan Bioinsektisida Bt konsentrasi 8 g/L, 10 g/L, dan 12 g/L <p>Tata Laksana</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Menganestesi hewan uji menggunakan Ketamin: hydrochloride seperti pada lampiran 3.3. 2. Mengambil larutan bioinsektisida Bt dengan konsentrasi 8 g/L menggunakan spuit sebanyak 3 ml. 3. Menetesi hewan uji dengan bioinsektisida sebanyak 3 ml yang dihabiskan dalam 2 menit pada mata kanan bagian tengah mata hewan uji. 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

	<p>tikus kemudian ditempelkan hingga menutupi mata kanan tikus dan pada ujung lainnya ditempelkan pada regio frontal kepala tikus.</p> <ol style="list-style-type: none">8. Mata kanan tikus diplester selama 30 menit.9. Setelah 30 menit, plester dilepaskan dan tikus dikembalikan ke kandang10. Mengembalikan hewan uji yang telah diinduksi ke dalam kandang perlakuan11. Melakukan induksi dengan konsentrasi 10 g/L dan 12 g/L pada kelompok percobaan lainnya sesuai langkah 1-9.12. Mengulangi pelakuan selama 7 hari pada jam yang sama.
Tenaga	Mahasiswa Keris Lab Farmako dan Laboran Lab Farmako

Lampiran 3.5 : SOP Terminasi

Prosedur Terminasi Hewan Uji	
Tujuan	Mengatur standar kerja terminasi hewan uji
Prosedur	<p>Alat</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Jas Lab <p>Bahan</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Sarung tangan 2. Masker <p>Tata Laksana</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Menyiapkan alat dan bahan 2. Melakukan terminasi dengan teknik <i>cervical dislocation</i> dengan cara memberikan tekanan pada bagian posterior basis cranii dan sumsum tulang belakang. 3. Menarik bagian ujung ekor tikus ke arah caudal hingga sumsum tulang belakang terpisah dari otak dengan cepat. Jika cara ini berhasil, refleks kedip akan menghilang dengan segera.
Tenaga	Mahasiswa dan Laboran Lab Farmako

Lampiran 3.6 : SOP E nukleasi

Prosedur E nukleasi	
Tujuan	Mengatur standar kerja pengambilan bola mata
Prosedur	<p>Alat</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Jas Lab 2. Pisau Bedah 3. Pinset 4. Gunting <p>Bahan</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Masker 2. <i>Handscoen</i> 3. Masker <p>Tata Laksana</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Membuat sayatan melingkar pada palpebra tikus dimulai dari tepi kantung lateralis. 2. Melanjutkan sayatan dengan menyayat M. Orbicularis oculi bagian superior dan inferior sehingga didapatkan bola mata yang terbebas dari palpebra. 3. Bola mata dibilas dengan bufer normal formalin 10% kemudian dimasukkan ke dalam botol yang berisi bufer normal formalin 10%. 4. Botol diberi label dan disimpan ditempat yang terhindar dari cahaya.
Tenaga	Mahasiswa, Dosen, Laboran Lab. Farmako

Lampiran 3.7 : SOP Pembuatan Preparat dan Pewarnaan HE

Prosedur Pewarnaan HE

1. Memfiksasi jaringan ke dalam *normal buffer formaline* 10% selama 24 jam.
2. Merendam jaringan pada air selama 15 menit dan dilanjutkan perendaman pada alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, dan 100% dengan masing-masing selama 3x10 menit (dehidrasi).
3. Merendam jaringan pada alokohol toluene dan toluene murni selama 13 menit dan 16 menit (penjernihan).
4. Merendam jaringan pada parafin cair bersuhu 60 °C I, II, dan II masing-masing selama 5 menit (infiltrasi parafin).
5. Melakukan pengeblokan di parafin cair bersuhu 60 °C sampai membeku.
6. Memotong jaringan menggunakan mikrotom geser setebal 5µm dengan potongan sagital. Jaringan yang dipakai merupakan bagian pusat/tengah dari kornea.
7. Merendam pada Xilol I, II, dan III masing-masing selama 10 menit. Dilanjutkan irigasi dengan air mengalir selama 3 menit.
8. Melakukan perendaman pada alkohol 100%, 100%, 90%, 80%, dan 70% dengan masing-masing selama 1 menit.
9. Melanjutkan perendaman pada larutan hematoksilin selama 2 menit, *acid alcohol* 1 x pencelupan, dan diirigasi air selama 2 menit.
10. Merendam pada larutan eosin selama 1 menit dilanjutkan alkohol 70%, 80%, 90% 100%, dan 100% dengan masing-masing selama 30 detik.
11. Merendam dengan xilol I, II, dan II masing-masing selama 5 menit.
12. Menutup jaringan dengan pemberian entellen/DPX (perekat) sebanyak 2 tetes pada *object glass* dan ditutup dengan *cover glass*.
13. Mengamati di bawah mikroskop.

Lampiran 3.8 : SOP Pembacaan Preparat

Prosedur pembacaan jumlah neutrofil

Pembacaan preparat dilakukan dengan metode *direct count* dan sistem *double blind* sebagai berikut:

1. Memberikan kode secara acak pada preparat agar pembaca tidak mengetahui perlakuan pada preparat yang sedang dibaca. Kode dicatat oleh peneliti agar tidak salah dalam memasukkan data.
2. Meletakkan preparat yang telah diterima dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.
3. Menyesuaikan titik fokus mikroskop sampai preparat terlihat dengan jelas.
4. Mengatur posisi preparat dan menghitung jumlah neutrofilnya pada satu lapang pandang.
5. Mengambil tangkapan mikroskop menggunakan kamera/optilab sebagai dokumentasi dan ditandai nama file nya sesuai kode preparat.
6. Memasukkan hasil hitung dimasukkan ke dalam laporan pencatatan data.
7. Setelah pembacaan satu preparat selesai, pembacaan dilakukan dengan langkah yang sama pada lapang pandang lain.
8. Setelah didapat hasil pembacaan pada 5 lapang pandang, preparat diganti dengan preparat lain dan melakukan pembacaan sesuai langkah 1-6.

Lampiran 3.9 : Persetujuan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI 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 : 1343/H25.1.11/KE/2019

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 :

PENINGKATAN JUMLAH NEUTROFIL PADA KORNEA TIKUS (*Rattus norvegicus strain wistar*) YANG DIPAPAR OLEH BIOINSEKTISIDA *Bacillus thuringiensis*

Nama Peneliti Utama : Ahmad Asrori Al Kamal
Name of the principal investigator

NIM : 162010101101

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

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

Jember, 20 Desember 2019

Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, 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. 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. Mohon diperhatikan penyimpanan *bacillus thuringiensis (Bt)* yang digunakan dalam penelitian disimpan dilaboratorium yang sesuai agar tidak mempengaruhi hasil penelitian.
3. Mohon diperhatikan saat penelitian, peneliti menggunakan alat pelindung diri (APD) untuk keamanan penelitian dan menurunkan resiko akibat penelitian.
4. Untuk pengambilan / ekstraksi kornea dari hewan coba harus dilakukan tenaga ahli yang kompeten.
5. Mohon diperhatikan antibodi TNF α yang digunakan untuk pewarnaan IHC sesuai dengan sampel agar tidak terjadi bias penelitian
6. Untuk pengamatan distribusi *bacillus thuringiensis (Bt)* harap dilakukan oleh tenaga ahli kompeten.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 19 Desember 2019

Reviewer

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Lampiran 3.10 : Dokumentasi Penelitian



Pencampuran aquades dan bubuk bioinsektisida Bt



Proses homogenisasi larutan



Anestesi hewan coba



Proses Induksi Larutan Bt



Proses penutupan mata hewan coba



Proses terminasi dengan teknik *cervical dislocation*



Proses E nukleasi

Lampiran 3.11 : 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, *Faksimili (0331) 337877
E mail : fk@unej.ac.id/[Laman://www.fk.unej.ac.id](http://www.fk.unej.ac.id)

SURAT REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI

Nomor : 936 /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 : Ahmad Asrori Al Kamal
NIM. : 162010101101
Angkatan : 2016

Judul Skripsi : Peningkatan Jumlah Neutrofil pada Kornea Tikus (*Rattus Norvegicus*) Strain Wistar yang Dipapar Oleh Bioinsektisida *Bacillus Thuringiensis*

Bersama ini kami merekomendasikan dan menyatakan “ Bebas Plagiasi “

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

Mengetahui.


dr. Ancah Caesarina Novi M. Ph.D

12 MAR 2020

Komisi Bimbingan KTI & Publikasi


Dr. dr. Yunita Armivanti, M.Kes

Lampiran 4.1 : Hasil Perhitungan Jumlah Neutrofil

Hasil Pembacaan Neutrofil												
Nama sampel	Kode	Pengamat 1					Pengamat 2					
		LP1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	
1K-	P	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	
2K-	E	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3K-	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4K-	X	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5K-	B	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	
6K-	Y	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	
7P1	N	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	
8P1	O	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	
9P1	W	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	
10P1	T	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	
11P1	I	0	1	0	1	0	0	1	2	1	0	
12P1	Z	4	1	2	1	1	2	1	1	1	1	
13P2	A	0	1	0	0	0	1	0	0	2	0	
14P2	G	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	
15P2	V	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	
16P2	F	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	
17P2	J	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	
18P2	M	0	1	0	0	0	0	1	2	0	2	
19P3	K	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	
20P3	D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
21P3	H	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	
22P3	U	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	
23P3	Q	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
24P3	L	1	3	1	1	1	1	1	2	2	1	

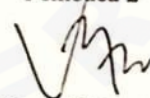
Keterangan :

LP : Lapang pandang

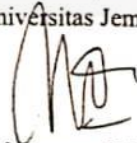
Pembaca 1


Ahmad Asrori Al Kamal
162010101101

Pembaca 2


Aldi Nawaf Nurul Amin
162010101105

Mengetahui,

Dosen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran
Universitas Jember

dr. Rena Normasari, M.Biomed
NIP. 19830512 200812 2 002

Lampiran 4.2 : Hasil Analisis Data**Hasil rerata perhitungan jumlah neutrofil**

Sampel	Rerata Jumlah Neutrofil±Standar Deviasi			
	K-	P1	P2	P3
1	0,2±0	0,3±0,14	0,4±0,28	0,3±0,14
2	0,1±0,14	0,2±0,28	0,3±0,42	0±0
3	0±0	0,3±0,14	0,4±0,57	0,3±0,14
4	0±0	0,3±0,14	0,5±0,14	0,2±0
5	0,3±0,14	0,6±0,28	0,2±0,28	0,1±0,14
6	0,4±0,28	1,5±0,42	0,6±0,57	1,4±0
Rata-rata	0,17±0,16	0,53±0,49	0,4±0,14	0,38±0,51

Uji Normalitas**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kontrol Negatif	,180	6	,200*	,920	6	,505
Konsentrasi 8g/L	,349	6	,022	,698	6	,006
Konsentrasi 10g/L	,167	6	,200*	,982	6	,960
Konsentrasi 12g/L	,398	6	,003	,712	6	,008

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Kruskal-Wallis**NPar Tests****Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Jumlah Neutrofil	24	,3708	,37122	,00	1,50
Konsentrasi Bt	24	2,5000	1,14208	1,00	4,00

Kruskal-Wallis Test**Ranks**

	Konsentrasi Bt	N	Mean Rank
Jumlah Neutrofil	Kontrol negatif	6	7,83
	Konsentrasi 8g/L	6	15,33
	Konsentrasi 10g/L	6	16,33
	Konsentrasi 12g/L	6	10,50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	Jumlah Neutrofil
Chi-Square	6,019
df	3
Asymp. Sig.	,111

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Konsentrasi Bt