



**ANALISIS KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA KORNEA
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI BIOINSEKTISIDA
*Bacillus thuringiensis***

SKRIPSI

Oleh

**Hashinatul Hurriyyah
NIM 162010101061**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2021**



**ANALISIS KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA KORNEA
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI BIOINSEKTISIDA
*Bacillus thuringiensis***

SKRIPSI

Disusun untuk melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Oleh

**Hashinatul Hurriyyah
NIM 162010101061**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2021**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ibu saya Siti Zulaikah, Bapak saya Sollahudin, dan Kakak saya Rosida Ika Pratiwi, yang senantiasa memberikan doa, semangat, dan dukungan untuk kelancaran pendidikan saya;
2. Para guru saya yang telah mendidik dan memberikan bimbingan kepada saya sejak sekolah taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi dengan penuh kesabaran;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTTO

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

(Al-Insyirah: 6)

“Berlomba-lombalah dalam berbuat baik...”

(Al Baqarah:148, Al-Maidah:51)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Hashinatul Hurriyyah

NIM : 162010101061

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Analisis Kadar Malondialdehid (MDA) pada Kornea Tikus Wistar yang Diinduksi Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang telah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 13 Januari 2021

Yang menyatakan,

Hashinatul Hurriyyah

NIM 162010101061

SKRIPSI

**ANALISIS KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA KORNEA
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI BIOINSEKTISIDA
*Bacillus thuringiensis***

SKRIPSI

Oleh

**Hashinatul Hurriyyah
NIM 162010101061**

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Kristianningrum Dian Sofiana, M.Biomed

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Analisis Kadar Malondialdehid (MDA) pada Kornea Tikus Wistar yang Diinduksi Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*” karya Hashinatul Hurriyyah telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Selasa, 12 Januari 2021

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,



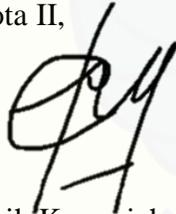
dr. Zahrah Febianti, M.Biomed
NIP. 19880202 201404 2 001

Anggota I,



dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si
NIP. 19840916 200801 2 003

Anggota II,



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

Anggota III,



dr. Kristianningrum Dian Sofiana, M.Biomed
NIP. 19860906 201212 2 001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Analisis Kadar Malondialdehid (MDA) pada Kornea Tikus Wistar yang Diinduksi Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*; Hashinatul Hurriyyah, 162010101061; 2021; 63 halaman; Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Bioinsektisida adalah pestisida berbahan aktif mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai agen pengendalian hama serangga. Bioinsektisida Bt menyebabkan trauma kimia mata dikarenakan sifat asam dari bioinsektisida Bt yang menyebabkan reaksi inflamasi akut. Pada inflamasi akut akan terjadi infiltrasi oleh sel PMN sehingga kadar PMN di jaringan kornea meningkat. Karena kadar sel PMN meningkat, maka produksi ROS juga meningkat yang menyebabkan terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan sehingga terjadi stress oksidatif. Stress oksidatif menyebabkan terjadinya kerusakan lipid melalui proses peroksidasi lipid dan menghasilkan produk salah satunya adalah MDA. MDA merupakan ketoaldehid fisiologis yang diproduksi melalui proses peroksidasi lipid dari asam lemak tidak jenuh (PUFA) yang digunakan sebagai indikator terjadinya stress oksidatif dan kerusakan jaringan. Penelitian mengenai pengaruh paparan bioinsektisida Bt terhadap kadar MDA belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan ingin mengetahui pengaruh paparan bioinsektisida Bt terhadap kadar MDA kornea.

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian *true experimental* dengan rancangan *post test only control group*. Jumlah hewan coba yang digunakan ditentukan menggunakan rumus *Federer*. Hewan coba penelitian ini menggunakan tikus *Rattus norvegicus strain* Wistar jantan yang dikelompokkan dalam empat kelompok. Kelompok tersebut terdiri dari kelompok kontrol yaitu kelompok yang korneanya dipapar dengan akuades, kelompok perlakuan satu (P1) yaitu kornea dipapar dengan larutan bioinsektisida Bt konsentrasi 8 g/l, kelompok perlakuan dua

(P2) yaitu kornea dipapar dengan konsentrasi 10 g/l, dan kelompok perlakuan tiga (P3) yaitu kornea dipapar dengan konsentrasi 12 g/l sel. Pemaparan kornea tikus dilakukan dengan cara mengirigasi 3 ml akuades selama 2 menit pada kelompok kontrol dan 3 ml larutan bioinsektisida bt selama 2 menit pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi sesuai masing-masing kelompok perlakuan. Setelah perlakuan selama tujuh hari, tikus diterminasi kemudian dilakukan pengambilan sampel jaringan kornea. Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar MDA menggunakan metode MDA-TBA. Setelah didapatkan hasil absorbansi dari spektrofotometri, dilakukan konversi ke konsentrasi MDA menggunakan rumus yang didapat dari persamaan kurva standar MDA. Kemudian, dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Saphiro-Wilk* dan didapatkan hasil $p < 0,05$ pada beberapa kelompok yang berarti persebaran data tidak normal, sehingga diperlukan untuk dilakukan transformasi data. Data hasil transformasi akan dilakukan uji normalitas. Hasil dari uji normalitas memiliki nilai signifikansi 0,026 yang berarti $p < 0,05$ sehingga hasil uji normalitas pada data transformasi tidak signifikan. Oleh karena hasil uji normalitas tetap tidak signifikan, maka selanjutnya uji statistik digunakan adalah uji *Kruskal-Wallis*. Hasil yang didapatkan pada uji *Kruskal-Wallis* memiliki nilai signifikansi $p > 0,05$ yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Melalui kedua uji analisis data yang dilakukan pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa paparan bioinsektisida Bt pada kornea mata tidak dapat menyebabkan peningkatan kadar MDA kornea.

PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT karena atas berkat rahmat dan kuasa-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Kadar Malondialdehid (MDA) pada Kornea Tikus Wistar yang Diinduksi 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. Kristianningrum Dian Sofiana, 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. Zahrah Febianti, M.Biomed dan dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si, selaku dosen penguji atas segala waktu dan masukan yang telah diberikan dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Rena Normasari, M.Biomed, selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, solusi, masukan, dan dukungan selama proses perkuliahan;
5. Kedua orang tua saya Ibu Siti Zulaikah dan Bapak Sollahudin, kakak saya, Rosida Ika Pratiwi, dan nenek saya, Mas’udah, yang selalu memberikan semangat, dukungan, doa, dan bimbingan kepada saya serta menguatkan saya;
6. Teman-teman seperjuangan penelitian, Ahmad Asrori Al Kamal, Siti Aminah Daeng Ndiko, Fathiah Ulil Albab, dan Aldi Nawaf Nurul Amin, yang telah

saling menguatkan, mendukung, menyemangati, dan membantu dalam proses penelitian ini;

7. Seluruh teman angkatan 2016 tercinta, yang sama-sama berjuang dalam menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
8. dr. Erfan Effendy, Sp.An dan dr. Ancah Caesarina N.M, Ph.D, yang telah membantu dalam proses dan kelancaran penelitian;
9. Seluruh civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Jember, terutama Mbak Lilik, Mbak Nuris, Pak Sumadi, Pak Miski, Pak Anton, Bu Heni, dan Bu Elris yang telah membantu dalam pemrosesan administrasi, peminjaman alat dan ruangan selama penelitian.
10. Keluarga besar BPM, ARTERI, dan SRCR, yang telah mengajari saya banyak hal dalam dunia perkuliahan;
11. Para sahabat saya, Imaniar Rusyadi dan Alifia Rahayu Lestari, yang telah memberikan kekuatan, semangat, dukungan, dan doa kepada saya;
12. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terima kasih atas dukungan doa dan 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.

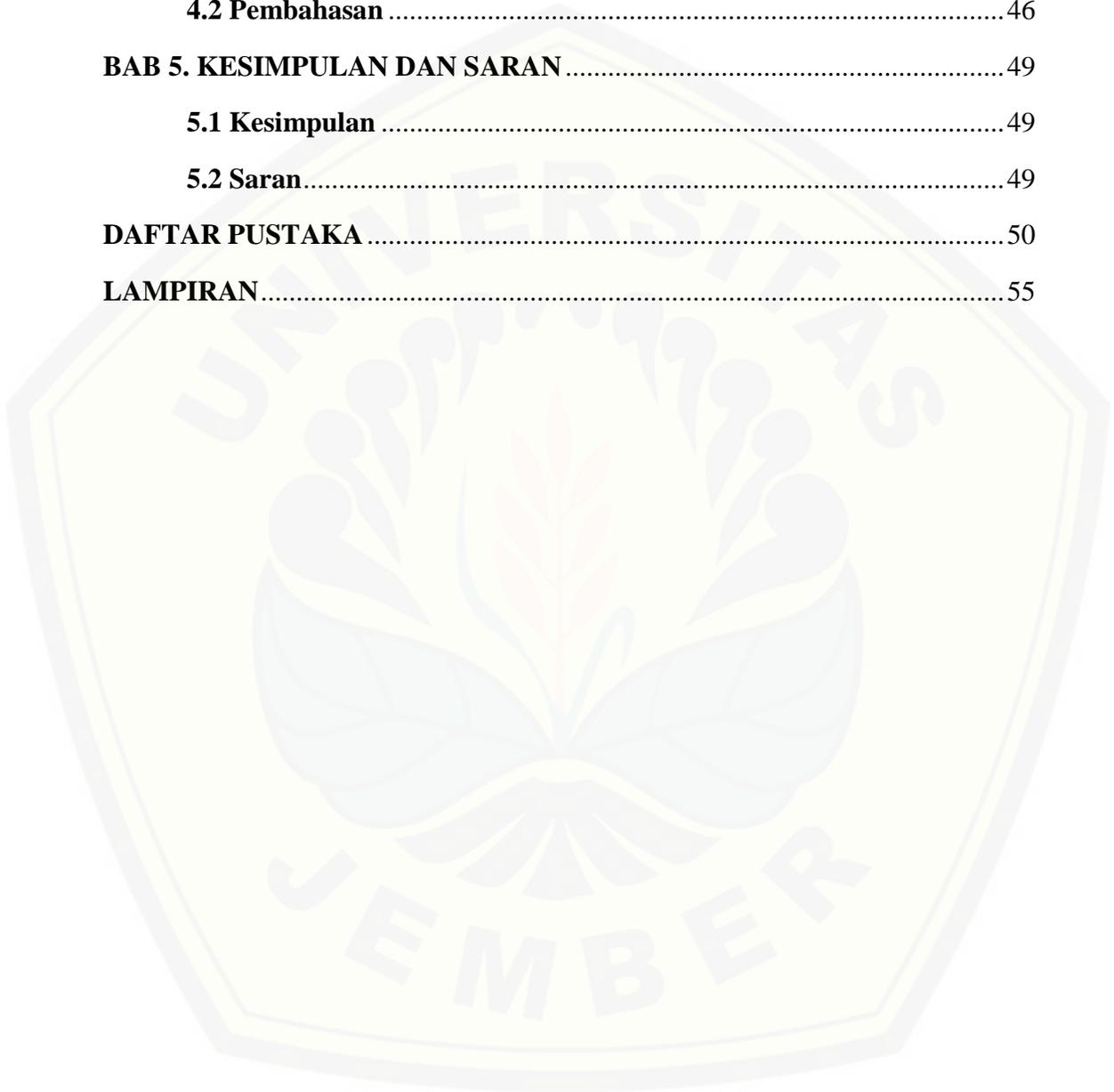
DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN SAMBUNG.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTO.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN BIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN.....	viii
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Mata.....	4
2.1.1 Anatomi dan Fisiologi Mata Manusia.....	4
2.1.2 Anatomi Mata dan Fisiologi Tikus.....	6
2.2. Kornea.....	7
2.2.1 Anatomi dan Histologi Kornea Manusia.....	7
2.2.2 Anatomi dan Histologi Kornea Tikus.....	9
2.2.3 Fisiologi.....	10
2.2.4 Vaskularisasi dan Inervasi.....	10
2.3 Trauma Kimia Mata.....	11
2.3.1 Definisi.....	11

2.3.2 Prevalensi	11
2.3.3. Etiologi dan Patofisiologi.....	11
2.3.4 Derajat Kerusakan Mata.....	13
2.3.5 Gejala Klinis.....	14
2.3.6 Diagnosis.....	14
2.3.7 Tata Laksana	15
2.3.8 Komplikasi	15
2.4 Bacillus thuringiensis	16
2.4.1 Morfologi	16
2.4.2 Deskripsi dan Cara Kerja	17
2.4.3 Karakteristik Toksin	18
2.5 Bioinsektisida Bt	18
2.5.1 Deskripsi.....	18
2.6 Stress Oksidatif.....	18
2.6.1 Definisi.....	18
2.7 Peroksidasi Lipid.....	20
2.7.1 Definisi.....	20
2.7.2 Proses	20
2.7.3 Parameter Stres Oksidatif dari Peroksidasi Lipid	21
2.8 Malondialdehid (MDA).....	22
2.8.1 Definisi.....	23
2.8.2 Peningkatan Kadar MDA Kornea pada Trauma Kimia Mata karena Bioinsektisida Bt	24
2.8.2 Metode Pengukuran Kadar MDA	25
2.9 Kerangka Teori Penelitian	27

2.10 Kerangka Konseptual Penelitian	28
2.11 Hipotesis Penelitian	29
BAB 3. METODE PENELITIAN	30
3.1 Jenis Penelitian	30
3.2 Rancangan Penelitian	30
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	31
3.4 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	32
3.5 Variabel Penelitian	33
3.6 Definisi Operasional	33
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	34
3.8 Prosedur Penelitian	34
3.8.1 Uji Kelayakan Etik	34
3.8.2 Pemilihan Hewan Coba	35
3.8.3 Adaptasi Hewan Coba	35
3.8.4 Pembagian Kelompok Penelitian	35
3.8.5 Pembuatan Larutan Bioinsektisida Bt	36
3.8.6 Anestesi	36
3.8.7 Pemaparan Larutan Bt	38
3.8.8 Terminasi Hewan Coba	38
3.8.9 Pengambilan Jaringan Kornea	39
3.8.10 Pengukuran Kadar MDA Kornea	39
3.9 Analisis Data Penelitian	40
3.10 Alur Penelitian	41

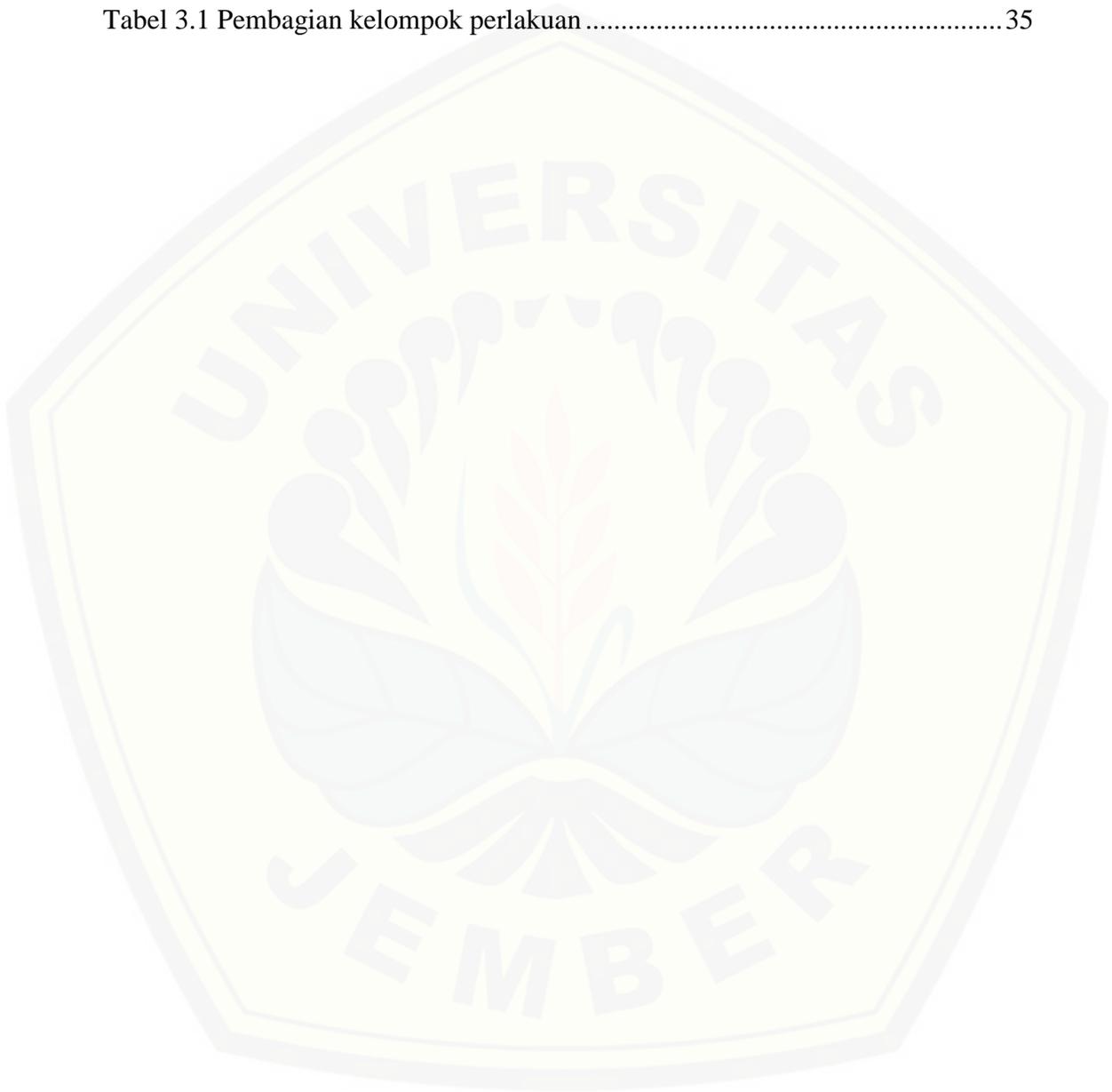
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1 Hasil Penelitian	42
4.2 Pembahasan	46
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	49
5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	55



DAFTAR TABEL

halaman

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan35



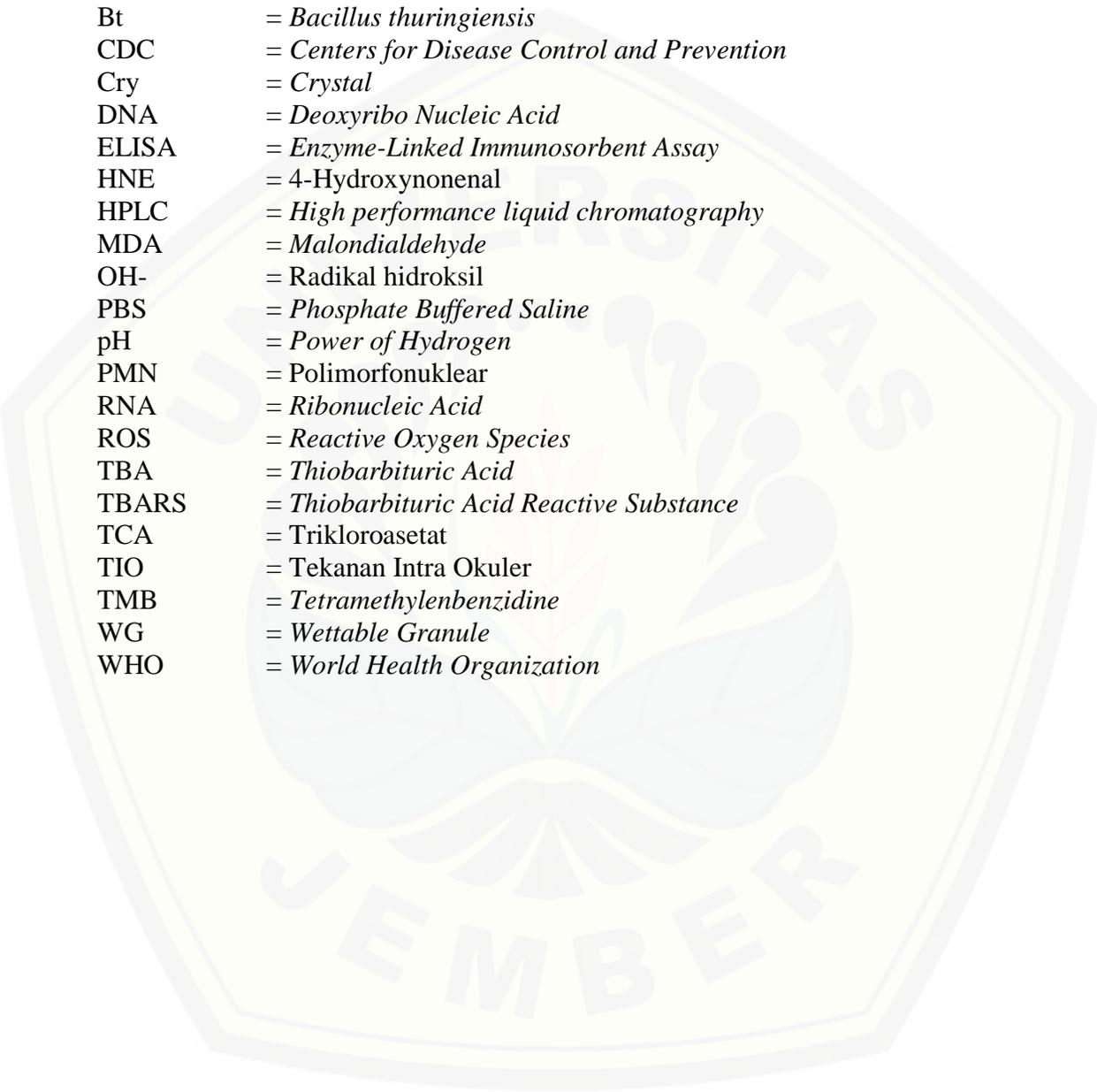
DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 2.1 Anatomi mata manusia.....	4
Gambar 2.2 Perbandingan anatomi mata tikus dan manusia	6
Gambar 2.3 Histologi kornea manusia.....	9
Gambar 2.4 Histologi kornea tikus	9
Gambar 2.5 Morfologi <i>Bacillus thuringiensis</i>	17
Gambar 2.6 Skema proses peroksidasi lipid	21
Gambar 2.7 Kerangka teori penelitian	27
Gambar 2.8 Kerangka konsep penelitian	28
Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian.....	30
Gambar 3.2 Cara pemegangan tikus	37
Gambar 3.3 Skema alur penelitian.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran 3.1 Persetujuan Etik.....	55
Lampiran 3.2 Dokumentasi Penelitian.....	57
Lampiran 3.3 Surat Keterangan Bebas Plagiasi.....	59
Lampiran 4.1 Data Kadar MDA Kornea.....	60
Lampiran 4.2 Hasil Uji Normalitas <i>Saphiro-Wilk</i>	61
Lampiran 4.3 Hasil Transformasi Data.....	61
Lampiran 4.4 Hasil Uji Normalitas pada Transformasi Data	62
Lampiran 4.5 Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	62

DAFTAR SINGKATAN



Bt	= <i>Bacillus thuringiensis</i>
CDC	= <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
Cry	= <i>Crystal</i>
DNA	= <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
ELISA	= <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
HNE	= <i>4-Hydroxynonenal</i>
HPLC	= <i>High performance liquid chromatography</i>
MDA	= <i>Malondialdehyde</i>
OH-	= Radikal hidroksil
PBS	= <i>Phosphate Buffered Saline</i>
pH	= <i>Power of Hydrogen</i>
PMN	= Polimorfonuklear
RNA	= <i>Ribonucleic Acid</i>
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
TBA	= <i>Thiobarbituric Acid</i>
TBARS	= <i>Thiobarbituric Acid Reactive Substance</i>
TCA	= Trikloroasetat
TIO	= Tekanan Intra Okuler
TMB	= <i>Tetramethylenbenzidine</i>
WG	= <i>Wetable Granule</i>
WHO	= <i>World Health Organization</i>

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bioinsektisida adalah pestisida berbahan aktif mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai agen pengendalian hama serangga. Sebesar 90-95% bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* (Bt) digunakan para petani di berbagai negara (Bahagiawati, 2002). Bt pertama kali ditemukan oleh Ishiwata pada tahun 1920 dan dilaporkan sebagai mikroorganisme yang menyebabkan kerusakan pada industri sutra di Jepang (Melo *et al.*, 2014). Bioinsektisida berbahan Bt menempati 97% bioinsektisida yang ada di pasar dunia (Kumar *et al.*, 2019).

Bioinsektisida merupakan bahan kimia yang berisiko menyebabkan trauma kimia pada mata. Trauma kimia pada mata merupakan salah satu keadaan kedaruratan oftalmologi karena dapat menyebabkan cedera mata baik ringan hingga berat dan menyebabkan penurunan penglihatan hingga hilangnya penglihatan. Berdasarkan data WHO tahun 1998, presentase trauma kimia mata sebesar 84% dari semua trauma okular yang dapat berakibat kebutaan unilateral sebanyak 19 juta orang, 2,3 juta mengalami penurunan visus bilateral, dan 1,6 juta mengalami kebutaan bilateral akibat cedera mata. Penelitian tentang pengaruh dari paparan bioinsektisida Bt dilakukan karena terdapat beberapa laporan kasus yang menyatakan bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* dapat menyebabkan trauma pada mata meskipun cenderung dikatakan aman bagi manusia. Cedera pada mata yang disebabkan oleh bioinsektisida Bt sudah pernah dilaporkan pada beberapa kasus seperti pada tahun 1983 terdapat kasus ulkus kornea pada petani yang disebabkan oleh bioinsektisida Bt (Samples dan Buettner, 1983). Pada tahun 2016, dua per tiga petani yang menggunakan bioinsektisida Bt mengalami keluhan iritatif pada mata, hidung, dan kerongkongan (Rubio-Infante dan Moreno-Fierros, 2015). Terdapat laporan kasus yang terjadi pada tahun 2017 bahwa bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*

menyebabkan terjadinya *recurrent conjunctivitis* (Borgman, 2017). Bioinsektisida lebih dipilih untuk diteliti karena efek samping yang ditimbulkan kepada manusia belum terlalu jelas. Selain itu, insektisida kimia mengandung bahan aktif amitraz yang bersifat basa dengan pH 9-10 (Achmadi, 2008). Apabila insektisida kimia terkena mata sudah dapat diketahui akan menyebabkan erosi epitel, kekeruhan kornea, hingga yang paling parah adalah iskemik limbus (Drake *et al.*, 2012).

Meskipun efek samping yang ditimbulkan pada manusia belum jelas, namun diketahui bahwa bioinsektisida Bt bersifat asam. Oleh sebab itu, jika bioinsektisida Bt mengenai mata dikhawatirkan akan menyebabkan inflamasi akut dan kerusakan pada sel kornea. Kerusakan akut pada sel kornea akan didominasi oleh sel polimorfonuklear (PMN) yang akan memproduksi *reactive oxygen species* (ROS) dan menyebabkan terjadi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan, sehingga terjadi akumulasi radikal bebas dan kerusakan lipid melalui proses peroksidasi lipid. Sebagai bentuk akhir peroksidasi lipid kadar MDA kornea akan meningkat (Alio *et al.*, 1995).

Penelitian mengenai pengaruh paparan bioinsektisida Bt terhadap peningkatan kadar MDA kornea belum pernah dilakukan, oleh sebab itu peneliti tertarik untuk menganalisis pengaruh paparan bioinsektisida Bt terhadap peningkatan kadar MDA kornea.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar tersebut, maka rumusan masalah penelitian ini adalah apakah paparan bioinsektisida Bt dapat meningkatkan kadar MDA kornea tikus *Rattus norvegicus* strain wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, tujuan penelitian ini dilakukan adalah untuk mengetahui pengaruh paparan bioinsektisida Bt terhadap kadar MDA kornea tikus *Rattus norvegicus* strain wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat teoritis

1. Mengetahui pengaruh paparan bioinsektisida Bt terhadap peningkatan kadar MDA kornea sehingga dapat dilakukan pemilihan cara pencegahan dan tata laksana yang tepat.
2. Menjadi landasan teori dan rekomendasi untuk penelitian selanjutnya terkait bioinsektisida Bt.

Manfaat Aplikatif

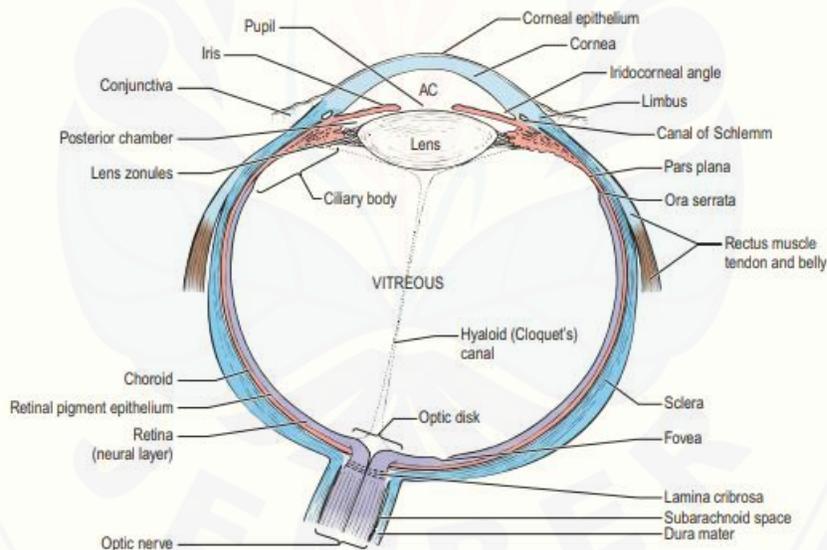
1. Menjadi pertimbangan bagi para petani sebagai alternatif lain penggunaan insektisida selain insektisida kimia mengingat bioinsektisida lebih aman bagi manusia.
2. Memberikan informasi kepada petani bahwa masih terdapat efek samping dari paparan bioinsektisida Bt meski cenderung aman bagi manusia, sehingga diharapkan ketika petani melakukan penyemprotan tetap menggunakan alat pelindung diri yang sesuai.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mata

2.1.1 Anatomi dan Fisiologi Mata Manusia

Anatomi mata dibagi menjadi dua bagian, yaitu adneksa dan bola mata. Fungsi mata adalah untuk menerima rangsangan berkas cahaya pada retina lalu dengan perantara serabut-serabut nervus optikus, rangsangan tersebut akan diarahkan ke pusat penglihatan pada otak di bagian hipotalamus untuk diterjemahkan. Mata kira-kira memiliki diameter 2,5 cm dengan volume 6,5 ml (Forrester *et al.*, 2016). Anatomi mata dapat ditinjau pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Anatomi mata manusia (Forrester *et al.*, 2016)

Pada Gambar 2.1 tampak bahwa bagian-bagian bola mata terdiri dari kornea, sklera, bilik mata depan, uvea, pupil, badan kaca (*vitreus*), retina, dan papil saraf optik. Menurut Forrester (2016), anatomi dari bagian-bagian mata adalah sebagai berikut :

1. Kornea merupakan selaput bening mata yang berfungsi sebagai pelindung struktur yang berada dibelakangnya serta membantu memfokuskan bayangan pada retina. Sifat tembus pandang kornea merupakan hal yang penting karena kornea memiliki posisi yang terbuka dan berhubungan langsung dengan trauma maupun infeksi.
2. Sklera merupakan lapisan berwarna putih di bawah konjungtiva serta merupakan bagian yang memiliki konsistensi lebih keras karena terdiri dari jaringan fibrosa . Sklera berfungsi untuk melindungi isi intraokuler dan mempertahankan bentuk bola mata ketika terjadi distensi instrinsik karena tekanan okular.
3. Limbus merupakan batas zona antara kornea dan sklera. Limbus memiliki beberapa fungsi yaitu sebagai pelindung kornea perifer, penyembuhan luka pada kornea, dan sebagai kontrol tekanan intraokuler.
4. Bilik mata depan merupakan sebuah rongga yang berisi cairan yang memudahkan pergerakan iris.
5. Badan kaca (*vitreus*) merupakan bagian terbesar yang mengisi bola mata. Badan kaca memiliki konsistensi yang mirip gel dan warna bening yang dapat meneruskan cahaya yang masuk sampai ke retina. Retina merupakan reseptor yang peka terhadap cahaya dan sebuah mekanisme persyarafan untuk penglihatan.
6. Uvea merupakan lapisan vaskuler berpigmen yang terdiri atas iris, badan siliar, dan koroid.
7. Iris berfungsi untuk mengatur banyak sedikitnya cahaya yang masuk ke mata.
8. Badan siliar berfungsi untuk menghasilkan cairan yang mengisi bagian bilik mata, cairan yang dihasilkan yaitu *aqueous humour* dan *vitreous humour*.
9. Koroid merupakan lapisan yang memiliki banyak pembuluh darah dan berfungsi untuk memberi nutrisi pada mata.
10. Pupil merupakan sebuah lubang untuk jalan masuk cahaya ke dalam mata yang pergerakannya diatur oleh gerakan iris. Bila cahaya lemah iris akan

berkontraksi dan pupil akan midriasis atau membesar sehingga cahaya yang masuk lebih banyak. Sebaliknya apabila cahaya terang maka iris akan berelaksasi dan pupil menjadi miosis atau mengecil sehingga cahaya yang masuk tidak berlebihan.

11. Lensa adalah struktur mata yang transparan dan cekung. Lensa berfungsi untuk membiaskan berkas cahaya yang terpantul dari objek yang dilihat serta pengatur fokus cahaya sehingga menjadi sebuah bayangan yang jelas pada retina.
12. Retina merupakan reseptor yang peka terhadap cahaya dan merupakan sebuah mekanisme persyarafan untuk pengelihatn karena pada retina memuat ujung-ujung saraf optikus.

2.1.2 Anatomi dan Fisiologi Mata Tikus

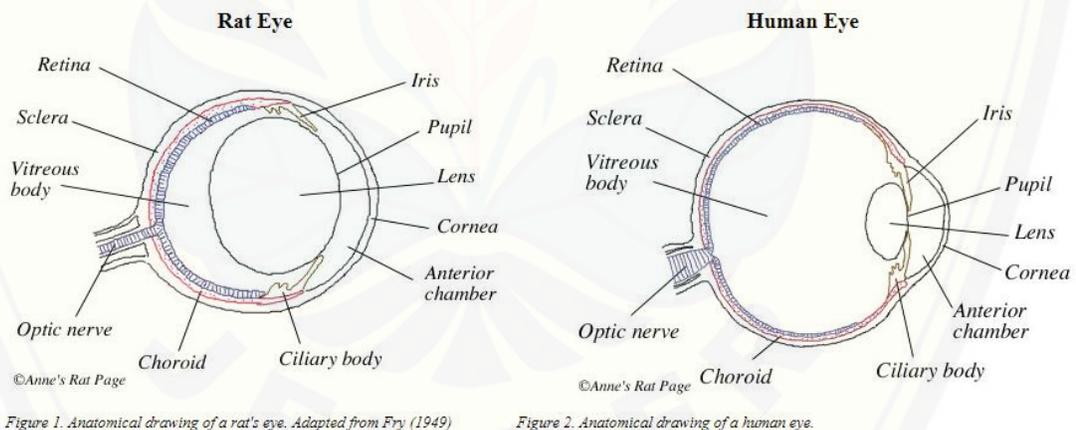


Figure 1. Anatomical drawing of a rat's eye. Adapted from Fry (1949)

Figure 2. Anatomical drawing of a human eye.

Gambar 2.2 Perbandingan anatomi mata tikus dan manusia

Sumber : <http://www.ratbehavior.org/Eves.htm>

Mata tikus mempunyai panjang aksial 5,98 mm, ketebalan kornea 0,25mm, kedalaman bilik depan 0,87 mm, ketebalan lensa 3,87 mm, dan kedalaman vitreus 1,51 mm (Massof dan Chang, 1972). Mata tikus mempunyai bagian-bagian dan fungsi yang sama dengan mata manusia. Hal yang membedakan antara mata manusia

dengan mata tikus adalah pada kornea tikus tidak menipis di bagian periferinya. Tikus memiliki bagian lensa yang lebih besar jika dibandingkan dengan manusia, namun fungsi dari lensa tikus tidak sebaik lensa manusia. Fungsi lensa pada manusia adalah sebagai pembias cahaya, pengatur fokus cahaya, dan mencegah sinar ultraviolet masuk. Berbeda dengan tikus yang memungkinkan semua cahaya akan masuk ditambah 50% sinar ultraviolet A yang dapat melewati lensa. Otot siliaris tikus kurang berkembang sehingga mempengaruhi keadaan dan fungsi lensa yang tidak sebaik lensa manusia. Tikus tidak dapat melihat pada keadaan gelap tidak seperti manusia, namun tikus mempunyai kumis yang membantu navigasi mereka. Perbedaan yang lain adalah pada sel kerucut manusia dan tikus. Manusia memiliki tiga jenis sel kerucut yaitu hijau, biru, dan merah, sedangkan tikus hanya memiliki dua jenis sel kerucut yaitu hijau dan biru yang menyebabkan tikus tidak dapat melihat warna merah. Oleh karena itu persepsi warna pada tikus lebih redup jika dibandingkan dengan manusia.

2.2 Kornea

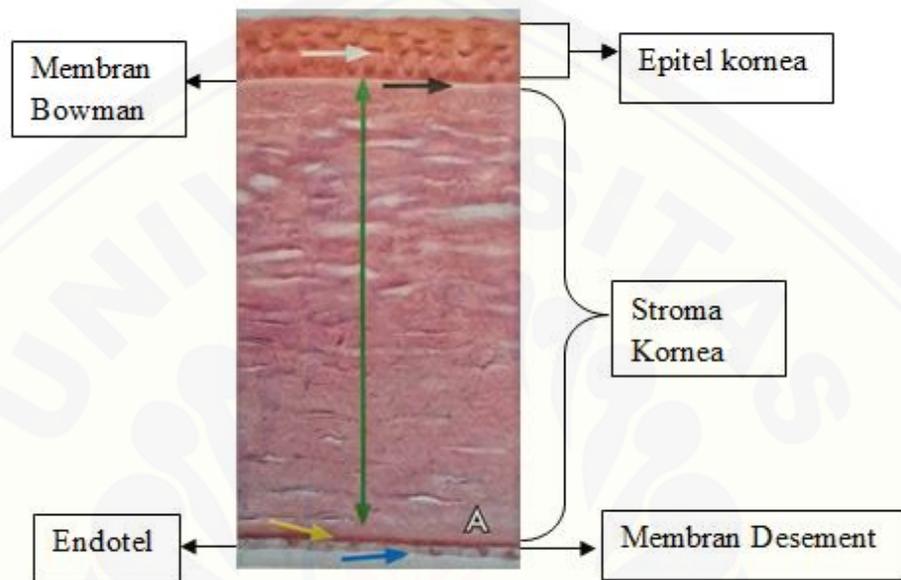
2.2.1 Anatomi dan Histologi Kornea Manusia

Kornea merupakan jaringan avaskuler dan transparan yang membentuk permukaan anterior bola mata dengan ukuran horizontal 11-12 mm dan vertikal 10-11 mm. Bagian sentral pada kornea memiliki ketebalan 0,5 mm, sedangkan kornea bagian perifer memiliki ketebalan 1 mm (Delmonte *et al.*, 2011). Sifat kornea yang avaskuler menyebabkan kornea mendapatkan nutrisi dari jaringan di sekitarnya melalui proses difusi glukosa dari *aqueous humour* dan oksigen yang berdifusi melalui lapisan air mata serta pembuluh darah limbus sebagai penyuplai oksigen untuk kornea perifer (Riordan-Eva dan Witcher, 2010).

Secara histologi, struktur kornea terdiri atas lima lapisan dimana tiga lapisan seluler dan dua lapisan penghubung yaitu membrane Bowman dan membrane Desement (Delmonte *et al.*, 2011).

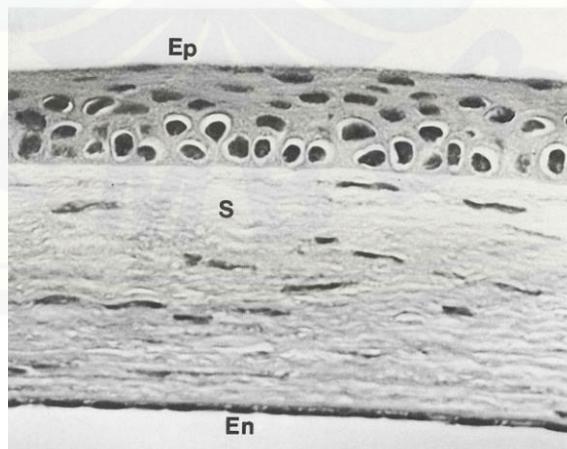
- a. Epitel kornea merupakan lapisan terluar yang ada pada kornea memiliki 4-6 lapisan skuamosa dengan ketebalan 40-50 μm . Epitel kornea berfungsi sebagai pelindung mata dari partikel asing, seperti debu, air, atau bakteri. Epitel juga dapat menyerap oksigen dan nutrisi dari air mata untuk kornea. Epitel kornea juga dilapisi oleh film air mata yang merupakan pelindung utama permukaan kornea dari invasi mikroba, bahan kimia, serta kerusakan karena benda asing. Film air mata juga memasok faktor imunologis dan *growth factor* yang berperan untuk menjaga kesehatan epitel, proliferasi, dan perbaikan epitel. Epitel kornea memiliki siklus hidup rata-rata sekitar 7-10 hari dan secara rutin berapoptosis untuk digantikan dengan sel epitel yang baru.
- b. Membran bowman merupakan lapisan aseluler yang dibentuk oleh serat kolagen dengan ketebalan 15 μm . Membran bowman berfungsi untuk mempertahankan bentuk kornea. Lapisan ini tidak dapat mengalami regenerasi dan akan digantikan oleh jaringan parut apabila terjadi trauma.
- c. Stroma kornea menyusun 80-85% dari seluruh ketebalan kornea. Stroma tersusun atas fibril kolagen dengan ukuran yang sama, meluas di seluruh permukaan kornea dan membentuk kelompok yang disebut lamela. Selain itu, stroma juga tersusun atas sel keratosit dan matriks ekstraseluler yang terdiri dari glikoprotein dan glikosaminoglikan. Stroma berfungsi untuk mempertahankan bentuk kornea agar tetap elastis, padat, dan kuat.
- d. Membran desement merupakan lamina basalis sel endotel kornea yang terutama tersusun dari kolagen tipe IV dan memiliki ketebalan 10-12 μm . Membran desement berfungsi sebagai tempat melekatnya sel-sel endotel serta melindungi sel endotel dari cedera.
- e. Endotel merupakan lapisan paling dalam yang terdiri atas satu lapis sel berbentuk heksagonal yang sel-selnya tidak dapat membelah. Endotel kornea mempunyai pengaruh yang besar dalam transparansi kornea karena lapisan ini berfungsi untuk menjaga kornea agar tetap jernih dan mengatur kadar air mata dengan cara

menyerap air dari stroma (American Academy of Ophthalmology, 2011-2012). Lapisan kornea secara histologi dapat ditinjau pada Gambar 2.4.



Gambar 2.3 Histologi kornea manusia (Semihardjo, 2012)

2.2.2 Anatomi dan Histologi Kornea Tikus



Gambar 2.4 Histologi kornea tikus (Molon-Noblot dan Piere, 1991)

Pada epitel anterior terdiri atas lamina basalis, satu lapis sel kolumnar, dua lapis sel intermediet, dan enam sampai sepuluh lapis sel skuamosa pipih. Lamina basalis merupakan lapisan yang disekresi oleh sel basal yang bersifat osmiofilik yang memiliki serabut yang memisahkan stroma dengan epitel (Molon-Noblot dan Piere, 1991)

2.2.3 Fisiologi

Sifat kornea yang transparan dan tembus cahaya ini disebabkan oleh struktur kornea yang uniform, avaskuler, dan diturgesens atau keadaan dehidrasi relatif jaringan kornea. Pompa bikarbonat aktif pada endotel mempertahankan fungsi sawar epitel dan endotel. Endotel lebih berperan daripada epitel dalam mencegah dehidrasi, dan trauma kimia atau fisik pada endotel lebih berat daripada trauma yang terjadi pada epitel. Endotel tidak mempunyai daya regenerasi, sehingga kerusakan sel-sel endotel dapat menyebabkan sifat transparan pada kornea hilang dan edema kornea karena trauma dapat mengakibatkan terganggunya sistem pompa endotel, sehingga terjadi dekomposisi endotel serta edema kornea. Epitel memiliki kemampuan regenerasi seiring berjalannya waktu, oleh karena itu trauma pada epitel hanya akan menyebabkan edema lokal yang bersifat sesaat karena akan menghilang seiring dengan regenerasi epitel (Delmonte *et al.*, 2011).

Kornea dipersarafi oleh nervus trigeminus yang berfungsi sebagai media penglihatan. Kornea juga merupakan salah satu bagian mata yang mempunyai sistem imunologik yang tidak lengkap di mana hanya mempunyai sedikit immunoglobulin. Peradangan tidak terjadi pada kornea yang utuh, namun dapat terjadi pada daerah limbus atau adanya bagian yang rusak atau sudah tidak kompak (Delmonte *et al.*, 2011).

2.2.4 Vaskularisasi dan Inervasi

Kornea mendapatkan suplai nutrisi dari *aqueous humour*, lapisan air mata, dan pembuluh darah limbus (Delmonte *et al.*, 2011). Saraf sensorik kornea berasal dari nervus ophthalmicus dan nervus trigeminus (Riordan-Eva dan Witcher, 2010).

2.3 Trauma Kimia Mata

2.3.1 Definisi

Trauma kimia pada mata merupakan kegawatdaruratan di bidang oftalmologi karena dapat menyebabkan cedera ringan pada mata hingga kehilangan penglihatan. Trauma kimia pada mata merupakan trauma yang mengenai bola mata akibat terpaparnya substansi bersifat kimia basa atau asam yang dapat merusak struktur mata bola tersebut (Rakhmasari *et al.*, 2015).

2.3.2 Prevalensi

Berdasarkan data CDC pada tahun 2000, kurang lebih sekitar 1 juta orang Amerika Serikat mengalami gangguan penglihatan akibat trauma. 75% mengalami buta pada satu mata, dan sekitar 50.000 menderita cedera serius yang mengancam penglihatan setiap tahunnya. Dari data WHO tahun 1998 trauma okular berakibat kebutaan unilateral sebanyak 19 juta orang, 2,3 juta mengalami penurunan visus bilateral, dan 1,6 juta mengalami kebutaan bilateral akibat cedera mata. Sebagian besar (84%) merupakan trauma kimia. Dampak dari trauma kimia basa empat kali lebih parah jika dibandingkan dengan trauma kimia asam. Secara internasional, 80% dari trauma kimia dikarenakan oleh paparan karena pekerjaan (Riordan-Eva dan Witcher, 2010).

2.3.3 Etiologi dan Patofisiologi

Trauma kimia dapat disebabkan oleh 2 macam bahan kimia yaitu yang bersifat asam dan yang bersifat basa. Bahan dengan sifat asam mempunyai pH kurang dari 7, sedangkan bahan dengan sifat basa mempunyai pH lebih dari 7 (Ilyas dan Yulianti, 2013).

a. Trauma Kimia Asam

Trauma kimia asam dibagi menjadi dua mekanisme, yaitu ion hidrogen yang akan merusak permukaan okular dengan mengubah pH dan anion dalam kornea yang merusak dengan cara denaturasi protein, presipitasi, dan koagulasi. Koagulasi protein

umumnya mencegah penetrasi yang lebih lanjut dari zat yang bersifat asam dan akan muncul tampilan *ground glass* dari stroma kornea sehingga trauma asam cenderung lebih ringan. Kornea yang terpapar oleh bahan kimia asam akan terjadi presipitasi sehingga terjadi koagulasi. Bahan asam yang mengenai mata akan segera menimbulkan koagulasi protein epitel kornea yang mengakibatkan terjadinya kekeruhan pada kornea, biasanya kerusakannya hanya pada bagian superfisial saja (Lubis R, 2014). Peningkatan kadar MDA kornea karena trauma kimia asam terjadi karena adanya proses inflamasi akut karena zat asam dimana sel akan didominasi oleh sel PMN. Sel PMN dengan jumlah yang banyak akan menghasilkan radikal bebas hidroksil dengan jumlah yang banyak juga sehingga menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan dan terjadilah stress oksidatif. Stress oksidatif terjadi apabila jumlah radikal bebas lebih banyak daripada antioksidan. Radikal bebas akan mengikat PUFA dan terjadilah proses peroksidasi lipid yang menghasilkan produk akhir yaitu MDA.

b. Trauma Kimia Basa

Bahan dengan sifat basa apabila masuk dan mengenai permukaan mata, maka basa akan terdisosiasi menjadi ion hidroksil dan kation. Ion hidroksil menyebabkan reaksi saponifikasi pada membran sel asam lemak, sedangkan kation berinteraksi dengan kolagen stroma dan glikosaminoglikan. Respon inflamasi yang dipicu oleh jaringan yang rusak akan merangsang pelepasan enzim proteolitik, sehingga memperberat kerusakan jaringan. Interaksi ini yang menyebabkan penetrasi lebih dalam melalui kornea dan segmen anterior. Hidrasi dari glikosaminoglikan menyebabkan kekeruhan kornea. Kolagen yang terbentuk dan terus berlanjut akan memperberat kerusakan kornea dan menyebabkan terjadinya perlunakan pada kornea (Lubis R, 2014).

2.3.4 Derajat Kerusakan Mata

Trauma kimia mata dapat diklasifikasikan sesuai dengan derajat keparahan yang ditimbulkan akibat bahan kimia penyebab trauma. Adanya klasifikasi bertujuan untuk memberikan tata laksana yang sesuai dengan kerusakan yang muncul serta penentuan prognosis. Klasifikasi ditetapkan berdasarkan tingkat kejernihan kornea dan keparahan iskemik limbus (Drake *et al.*, 2012; Tsai *et al.*, 2011).

Klasifikasi yang biasa digunakan menurut Drake (2012) adalah sebagai berikut :

1) Klasifikasi Hughes

- a) Ringan : Erosi epitel kornea, kornea sedikit kabur, tidak ada nekrosis iskemik konjungtiva atau sklera.
- b) Sedang : Opasitas kornea mengaburkan detail iris, nekrosis iskemik yang minimal di konjungtiva atau sklera.
- c) Berat : Garis pupil kabur, iskemik nekrosis konjungtiva atau sklera yang signifikan.

2) Klasifikasi Thoft

- a) Grade 1 : Kerusakan epitel kornea, tidak ada iskemik.
- b) Grade 2 : Kornea kabur, tapi iris masih bisa terlihat, iskemik kecil 1/3 dari limbus.
- c) Grade 3 : Epitel kornea hilang total, stroma kabur sehingga iris juga terlihat kabur, iskemik 1/3 sampai 1/2 limbus.
- d) Grade 4 : Kornea opak, iskemik lebih dari 1/2 limbus.

2.3.5 Gejala Klinis

Menurut *American Academy of Ophthalmology* (2012) beberapa gejala klinis yang dapat timbul antara lain :

- a. Penurunan visus mendadak akibat defek pada kornea yang dapat terjadi pada epitel kornea atau lapisan yang lebih dalam lagi.
- b. Edema pada kelopak mata yang disebabkan karena adanya peningkatan permeabilitas kapiler pembuluh darah yang menyebabkan kerusakan pada jaringan kelopak mata sehingga mata tidak dapat menutup sempurna dan terbentuknya jaringan parut pada kelopak mata.
- c. Hiperemis konjungtiva hingga terbentuknya kemosis.
- d. Kerusakan pada kornea dari yang paling ringan yaitu keratitis puntata superfisial hingga defek luas berupa ulkus kornea.
- e. Kornea dapat terlihat jernih atau opasifikasi sempurna.
- f. Iskemik limbus yang merupakan indikator untuk prognosis penyembuhan kornea. Semakin luas iskemik limbus maka prognosis juga semakin buruk.
- g. Reaksi peradangan pada bagian anterior.
- h. Peningkatan tekanan intra okuler (TIO) dapat terjadi mendadak akibat deformasi dan pengurangan serabut kolagen serta keterlibatan prostalglandin. Peningkatan TIO yang berlanjut akan berdampak pada kerusakan segmen anterior akibat peradangan.

2.3.6 Diagnosis

Diagnosis dapat ditegakkan melalui gejala klinis, anamnesis, pemeriksaan fisik dan penunjang. Diagnosis trauma biasanya didasarkan pada anamnesis singkat karena trauma kimia mata merupakan keadaan gawat darurat. Pasien biasanya merasakan nyeri, fotofobia, penurunan pengelihatn serta adanya halo disekitar cahaya, rasa mengganjal di mata, pandangan kabur, mata merah, dan rasa terbakar.

2.3.7 Tata Laksana

Trauma kimia mata membutuhkan tatalaksana segera dengan tujuan terapi yaitu untuk meredakan inflamasi, nyeri, dan risiko inflamasi.

Tata laksana yang diberikan menurut *American Academy of Ophthalmology* (2012) yaitu :

1. Irigasi mata menggunakan normal salin atau ringer laktat selama 30 menit.
2. Lima sampai sepuluh menit setelah irigasi dihentikan ukur pH menggunakan kertas lakmus. Irigasi dilanjutkan hingga mencapai pH netral.
3. Jika pH belum netral, konjungtiva forniks diswab dengan *moistened cotton-tipped applicator*. Penggunaan *Desmares Eyelid Retractor* dapat membantu dalam pembersihan partikel dari forniks dalam.

Tata laksana untuk trauma kimia derajat berat setelah dilakukan irigasi meliputi :

1. Rujuk ke rumah sakit untuk dilakukan monitor secara intensif pada TIO dan penyembuhan kornea.
2. Debridemen jaringan nekrotik yang terdapat benda asing.
3. Diberikan obat siklopegik seperti scopolamin 0,25%; atropine 1% 3-4 kali sehari.
4. Antibiotik topical seperti eritromisin 2-4 kali sehari.
5. Steroid topical dapat menggunakan prednisolone 1% atau dexamethasone 0,1% 4-9 kali sehari. Steroid dapat mengurangi inflamasi dan infiltrasi neutrofil namun hanya boleh digunakan 7-10 hari pertama, karena jika lebih dari itu akan menghambat sintesis kolagen dan migrasi fibroblast sehingga proses penyembuhan terhambat serta meningkatkan risiko keratolisis.

2.3.8 Komplikasi

Komplikasi dari trauma mata tergantung pada derajat keparahan dan jenis trauma yang terjadi. Komplikasi yang terjadi pada trauma kimia mata berat antara lain :

- a. Simblefaron adalah gejala ketika mata terasa terganggu saat bergerak, diploopia, lagofthalmus, sehingga kornea dan penglihatan terganggu.
- b. Kornea keruh, edema, dan tampak neovaskularisasi.
- c. Sindroma mata kering
- d. Katarak traumatik yang terjadi akibat trauma basa
- e. Glaukoma sudut tertutup
- f. Entropion dan phthisis bulbi

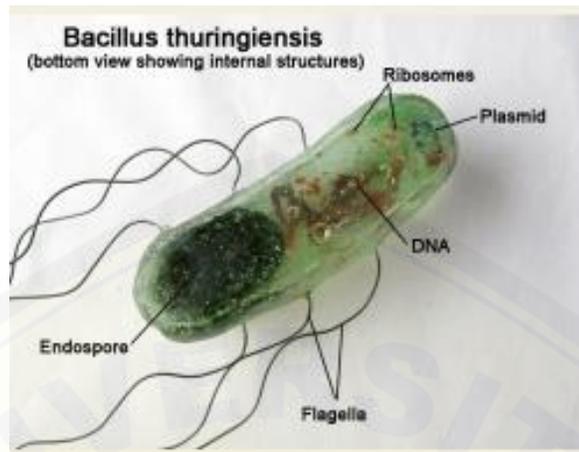
2.4 *Bacillus thuringiensis*

2.4.1 Morfologi

Bt merupakan bakteri yang bersifat gram positif, berbentuk batang, berflagel, membentuk spora secara anaerob dan selama sporulasi membentuk kristal protein δ -endotoksin yang berfungsi sebagai insektisida (Bahagiawati, 2002). Spora yang dihasilkan oleh *Bt* memiliki bentuk oval dan berwarna terang, rata-rata memiliki ukuran 1,0 – 1,3 μm . *Bt* dapat ditumbuhkan pada medium padat yang akan menghasilkan koloni dengan bentuk bulat dengan tepian berkerut, memiliki diameter 5 – 10 mm, berwarna putih, elevasi timbul pada permukaan koloni kasar (Bahagiawati, 2002; Ibrahim *et al.*, 2010). Bentuk dan morfologi *Bacillus thuringiensis* dapat ditinjau pada Gambar 2.3.

Bt memiliki taksonomi sebagai berikut (Ibrahim *et al.*, 2010) :

Kingdom	: Eubacteria
Divisi	: Bakteria
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Bacillaceae
Genus	: Bacillus
Spesies	: Bacillus thuringiensis



Gambar 2.5 Morfologi *Bacillus thuringiensis* (Safitra, 2015)

2.4.1 Deskripsi dan Cara Kerja

Bacillus thuringiensis (Bt) merupakan bakteri yang dapat memproduksi kristal protein di *inclusion body*nya saat bakteri tersebut bersporulasi. Bt dapat tumbuh pada fase vegetatif apabila nutrisi tempat dia hidup sangat kaya, namun apabila suplai makanannya menurun maka Bt akan membentuk spora dorman yang mengandung satu atau lebih jenis kristal protein yang disebut delta endotoksin (δ -endotoksin) atau protein *Cry* yang bersifat mematikan jika termakan oleh serangga (Bahagiawati, 2002; Melo *et al.*, 2014).

Bt dapat menghasilkan kristal protein yang hanya merupakan protoxin jika larut dalam usus serangga akan berubah menjadi polipeptida yang lebih pendek (27-149 kd) serta mempunyai sifat insektisidal. Faktor utama yang menyebabkan kristal protein aktif yaitu terdapat perbedaan pH di *midgut* serangga. Toksin akan aktif saat berinteraksi dengan sel-sel epitelium di perut serangga yang menyebabkan terbentuknya pori-pori di sel membran di saluran pencernaan serangga dan mengganggu keseimbangan osmotik dari sel-sel tersebut sehingga sel menjadi edema dan ruptur yang menyebabkan serangga mati (Mafazah dan Enny, 2017).

2.4.3 Karakteristik Toksin

Efektifitas dari toksin Bt dipengaruhi oleh kelarutan, afinitas terhadap reseptor, dan pemecahan proteolitik ke dalam toksin. Selain faktor tersebut, spesifikasi dari mikroorganisme dan kerentanan serangga sasaran juga dapat mempengaruhi efektivitas kerja Bt. Gen Cry (Crystal) merupakan gen yang mengkode Kristal protein yang dihasilkan oleh Bt. Gen Cry adalah paraspora yang mengandung Kristal protein Bt yang bersifat toksik terhadap organisme sasaran. Gen Cry terbagi menjadi 4 kelompok yaitu CryI, CryII, CryIII, dan CryIV yang dibagi berdasarkan kesamaan struktur asam amino dan aktifitas insektisidanya. Masing-masing jenis gen tersebut dapat menentukan sifat toksik dari kristal protein yang memberikan dampak spesifik terhadap larva serangga (Hermanto *et al.*, 2013).

2.5 Bioinsektisida Bt

2.5.1 Deskripsi

Bioinsektisida merupakan produk yang pembunuh hama serangga dan vektor pembawa penyakit yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Bioinsektisida disebut sebagai racun biologis yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang dapat membunuh serangga (*entomopathogen*). Sebagai *entomopathogen*, bioinsektisida dapat dikembangkan dari bakteri, virus, fungi, dan protozoa. Bakteri yang paling banyak digunakan untuk memproduksi bioinsektisida adalah *Bacillus* karena mampu membentuk δ -endotoksin yang bersifat toksin terhadap serangga (Melo *et al.*, 2014)

2.6 Stres Oksidatif

2.6.1 Definisi

Stress oksidatif ialah suatu kondisi ketika terjadi ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas atau *reactive oxygen spesies* (ROS) dan antioksidan, dengan kadar radikal bebas lebih tinggi daripada antioksidan (Daniel *et al.*, 2010; Kurkcu, 2010). Secara alamiah di dalam sel terdapat berbagai antioksidan enzimatis atau non enzimatis yang berfungsi sebagai pertahanan bagi organel sel dari pengaruh kerusakan akibat radikal bebas (Marciniak, 2009). Radikal bebas merupakan senyawa

atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit luarnya, sehingga sangat reaktif dalam mencari pasangan. Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh sebagai bagian dari proses metabolisme normal atau karena proses patologis seperti inflamasi, zat kimia, asap rokok, dan paparan ozon (Lobo *et al.*, 2010). Dalam mencari pasangannya, radikal bebas mencari elektron dari senyawa atau molekul lain yang berada disekitarnya. Radikal bebas akan bersifat berbahaya apabila terikat pada senyawa berikatan kovalen seperti lipid, protein, dan DNA. Interaksi antara ROS dengan basa dari DNA dapat menyebabkan perubahan struktur kimia pada DNA dan apabila tidak direparasi akan mengalami mutasi yang dapat diturunkan, terutama pada DNA sel germinal yaitu sel penghasil sperma pada testis dan ovum pada ovarium. DNA pada sel somatik apabila berinteraksi dengan ROS akan mengarah pada inisiasi keganasan (Lobo *et al.*, 2010). Reaksi ROS terhadap lemak tak jenuh membran sel dan plasma lipoprotein menyebabkan pembentukan lipid peroksida (MDA) yang secara kimia dapat memodifikasi protein dan basa asam nukleat. Selain itu ROS secara kimia dapat memodifikasi secara langsung asam amino dalam protein sehingga protein dikenal sebagai benda asing oleh sistem imun, sehingga antibodi yang dihasilkan akan bereaksi silang dengan protein jaringan normal sebagai awal dari munculnya penyakit autoimun (Lobo *et al.*, 2010; dan Miquel, 2009). Akibat dari jumlah radikal bebas yang terlalu banyak adalah terjadi gangguan produksi DNA, kerusakan lapisan lipid pada membrane sel, gangguan pada pembuluh darah, produksi prostaglandin, kerusakan sel, dan mengurangi kemampuan sel untuk beradaptasi terhadap lingkungan sekitarnya (Pratiwi, 2010).

Menurut Yudaristy dan Wahyuni (2012), kerusakan sel karena radikal bebas reaktif didahului oleh terjadinya kerusakan pada membran sel dengan rangkaian proses sebagai berikut :

- a. Radikal bebas dan komponen membran membentuk ikatan kovalen, sehingga terjadi perubahan struktur dan fungsi reseptor.
- b. Oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas menyebabkan proses transportasi lintas membrane terganggu.

- c. Reaksi peroksidasi lipid dan kolestrol membran yang mengandung asam lemak tak jenuh majemuk atau *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) menghasilkan kerusakan sel, antara lain dengan mengubah fluiditas, *cross linking*, strukturidan fungsi membrane serta menyebabkan kematian sel.

2.7 Peroksidasi Lipid

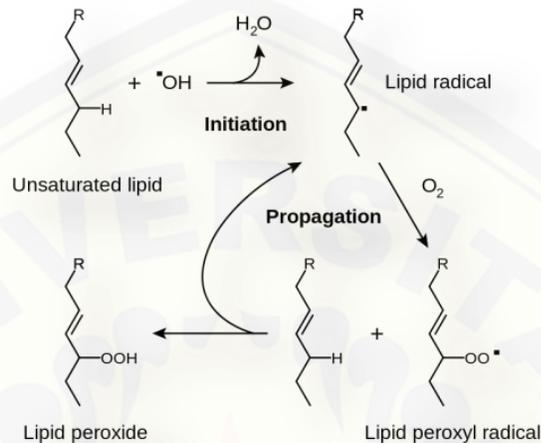
2.7.1 Definisi

Peroksidasi lipid adalah degradasi lipid oksidatif yang merupakan proses ketika elektron dari lipid dalam membran sel terlepas disebabkan oleh radikal bebas sehingga terjadi kerusakan sel. Proses ini paling sering mempengaruhi asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel. Membran sel kaya akan sumber *poly unsaturated fatty acid* (PUFA), yang mudah dirusak oleh bahan-bahan pengoksidasi, dengan demikian proses tersebut dinamakan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid juga dapat mempengaruhi fungsi protein membran terikat enzim dan reseptor. Kerusakan langsung pada protein disebabkan oleh radikal bebas yang dapat mempengaruhi berbagai jenis protein, mengganggu aktivitas enzim, dan fungsi protein struktural (Sinaga, 2016). Hal ini bersifat sangat merusak karena merupakan proses yang berkelanjutan.

2.7.2 Proses

Proses peroksidasi lipid dibagi menjadi 3 fase dimulai dari inisiasi, propagasi, dan terminasi. Peroksidasi dimulai (inisiasi) dari abstraksi atom hidrogen pada gugus metilen oleh ROS membentuk radikal karbon (L.). Apabila radikal karbon bereaksi dengan oksigen maka akan terbentuk radikal peroksil (LOO.) Reaksi berikutnya adalah abstraksi atom hidrogen lipid lain oleh radikal peroksil membentuk lipid hidroperoksida yang bersifat sitotoksik (LOOH), sehingga terjadi reaksi berantai. Reaksi akan berakhir (terminasi) jika radikal karbon yang terbentuk pada tahap inisiasi ataupun radikal lain yang terbentuk pada reaksi propagasi bereaksi dengan radikal lain menjadi produk non radikal dan menghasilkan produk akhir berupa

malondialdehid (Ayala *et al.*, 2014). Proses peroksidasi lipid dapat ditinjau pada Gambar 2.4.



Gambar 2.6 Skema proses peroksidasi lipid

Sumber : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lipid_peroxidation.svg

2.7.3 Parameter Stres Oksidatif dari Peroksidasi Lipid

Beberapa parameter stress oksidatif dari hasil peroksidasi lipid adalah sebagai berikut :

a. Malondialdehid

Malondialdehid merupakan ketoaldehid fisiologis yang diproduksi proses peroksidasi dari asam lemak tidak jenuh (PUFA) sebagai hasil dari metabolisme arakidonat. MDA diproduksi sebagai hasil dari kerusakan jaringan. MDA dapat memodifikasi asam amino protein yang menyebabkan struktur kimiawi protein berubah sehingga protein dikenal sebagai benda asing oleh tubuh dan bersifat immunogenic (Dalle-Donne *et al.*, 2006).

b. 4-hidroksinonenal (HNE)

4-hidroksinonenal atau HNE aldehid yang bersifat toxic yang dihasilkan oleh radikal bebas yang menyerang PUFA. HNE dapat bereaksi dengan beberapa zat seperti protein, peptida, fosfolipid, dan asam nukleotida. Kadar HNE yang tinggi

di dalam tubuh dapat menimbulkan peningkatan sitotoksik, mutasi, genotoksik. Selain itu, HNE juga dapat menyebabkan inhibisi sintesis protein oleh DNA, inaktivasi enzim, stimulasi fosfolipase C, dan mereduksi komunikasi pada gap-junction. Pada keadaan fisiologis HNE memiliki kadar 0,1 – 3 mikromol/L di dalam tubuh. Peningkatan kadar HNE secara signifikan berhubungan dengan adanya proses peroksidasi lipid (Dalle-Donne *et al.*, 2006).

c. Akrolein

Akrolein merupakan senyawa aldehyd tak jenuh yang bersifat elektrofilik yaitu senyawa yang reaktif untuk mengikat elektron. Akrolein dapat digunakan sebagai herbisida, bahan awal untuk polimer akrilat, serta dalam produksi asam akrilat yang membuatnya berpotensi untuk bersifat berbahaya. Selain itu, akrolein banyak ditemukan di asap rokok, knalpot, mesin pembakaran, dan uap minyak goreng yang terlalu lama dipanaskan (Moghe *et al.*, 2015).

d. Isoprostane

Isoprostan adalah kelompok senyawa kompleks yang dihasilkan asam arakidonat yang dikatalisis radikal bebas. Isoprostan menjadi salah satu marker adanya stress oksidatif (Janicka *et al.*, 2010). Beberapa jenis senyawa isoprostan memiliki aktivitas biologis sebagai vasokonstriktor paru dan ginjal serta modulator aktivasi trombosit. Secara umum, isoprostan memiliki waktu paruh pendek (Dalle-Donne *et al.*, 2006). Penyakit yang erat kaitannya dengan peningkatan kadar isoprostan adalah iskemia perfusi, aterosklerosis, dan inflamasi (Janicka *et al.*, 2010).

2.8 Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid (MDA) dihasilkan melalui proses peroksidasi lemak dan merupakan produk akhir dari peroksidasi lemak. Proses pembentukan MDA melalui 3 tahap pada peroksidasi lipid yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Tahap inisiasi adalah ketika radikal bebas hidroksil (OH⁻) menyerang asam lemak tidak jenuh

dengan mengambil elektronnya sehingga menjadi asam lemak radikal. Kemudian dilanjutkan ke tahap propagasi yaitu asam lemak radikal bereaksi dengan O₂ dan berubah menjadi lipid peroxil. Tahap terminasi terjadi ketika 2 radikal bebas bereaksi dan membentuk molekul yang stabil, yaitu reaksi antara lipid peroxil radikal dan PUFA yang akan menghasilkan produk akhir berupa MDA (Dalle-Donne *et al.*, 2006).

2.8.1 Definisi

Malondialdehid (MDA) merupakan produk akhir dari proses peroksidasi lipid yang digunakan sebagai indikator terjadinya stress oksidatif dan indikator kerusakan oksidatif membrane sel. MDA dapat mengganggu sintesis protein dengan membentuk adhesi dengan DNA, RNA, dan protein (Aprini *et al.*, 2019) MDA merupakan produk akhir enzim dan peroksidasi lipid lipoksik radikal bebas dari asam lemak tak jenuh ganda termasuk asam arakidonat. MDA dihasilkan oleh radikal bebas melalui proses peroksidasi lipid yang merupakan reaksi antara radikal bebas yang menyerang lipid yang mengandung ikatan karbon ganda terutama pada PUFA. Peroksidasi lipid melibatkan pemisahan hidrogen dari rantai karbon yang digantikan oleh oksigen untuk menjadikan *lipid peroxyl radicals* dan lipid hidroperoksida. Radikal hidroksil merupakan radikal bebas yang paling reaktif yang dengan mudah menempel pada membran sel karena pada membran sel terdapat PUFA yang dapat menginduksi reaksi peroksidasi lipid (Ayala *et al.*, 2014).

Pada kelainan kornea mata, stres oksidatif dapat dikaitkan dengan proses inflamasi akut yang terjadi pada epitel kornea yang disebabkan karena terpapar oleh suatu benda asing sehingga terjadi kerusakan dari sel-sel epitel kornea dan dapat dikaitkan dengan meningkatnya risiko terjadi stress oksidatif (Cejka dan Cejkova, 2015).

2.8.2 Peningkatan Kadar MDA Kornea Pada Trauma Kimia Mata karena Bioinsektisida Bt

Bioinsektisida Bt menyebabkan trauma kimia mata dikarenakan sifat asam dari bioinsektisida Bt yang menyebabkan reaksi inflamasi akut. Pada inflamasi akut akan terjadi infiltrasi oleh sel PMN sehingga kadar PMN di jaringan kornea meningkat. Karena kadar sel PMN meningkat, maka produksi ROS juga meningkat yang menyebabkan terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan sehingga terjadi stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan terjadinya kerusakan lipid melalui proses peroksidasi lipid dan menghasilkan produk salah satunya adalah MDA, sehingga kadar MDA akan meningkat pada inflamasi akut karena trauma kimia mata yang disebabkan oleh bioinsektisida Bt (Alio *et al.*, 1995; Daniel *et al.*, 2010; Kurkcu, 2010).

Inflamasi kornea ditandai dengan meningkatnya kadar leukosit, terjadi edema, dan pada akhirnya akan terjadi pecairan kornea dan neovaskularisasi. Pada inflamasi kornea, terjadi peningkatan terutama neutrofil polimorfonuklear (PMN) yang menginvasi jaringan kornea, dan secara berurutan memproduksi asam arakidonat, enzim proteolitik, dan *reactive oxygen species* (ROS). Selama fase inflamasi akut, proses oksidasi lokal terjadi secara intens dan memproduksi radikal bebas. Produksi radikal bebas diikuti dengan aktivasi dari PMN dan metabolisme prostaglandin oleh enzim prostaglandin hidroperoksidase. Luas jaringan kornea yang mengalami inflamasi dapat mempengaruhi keseimbangan antara radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan lokal (Alio *et al.*, 1995)

2.8.3 Metode Pengukuran Kadar MDA

1. Metode TBARS (*thiobarbituric acid reactive substance*)

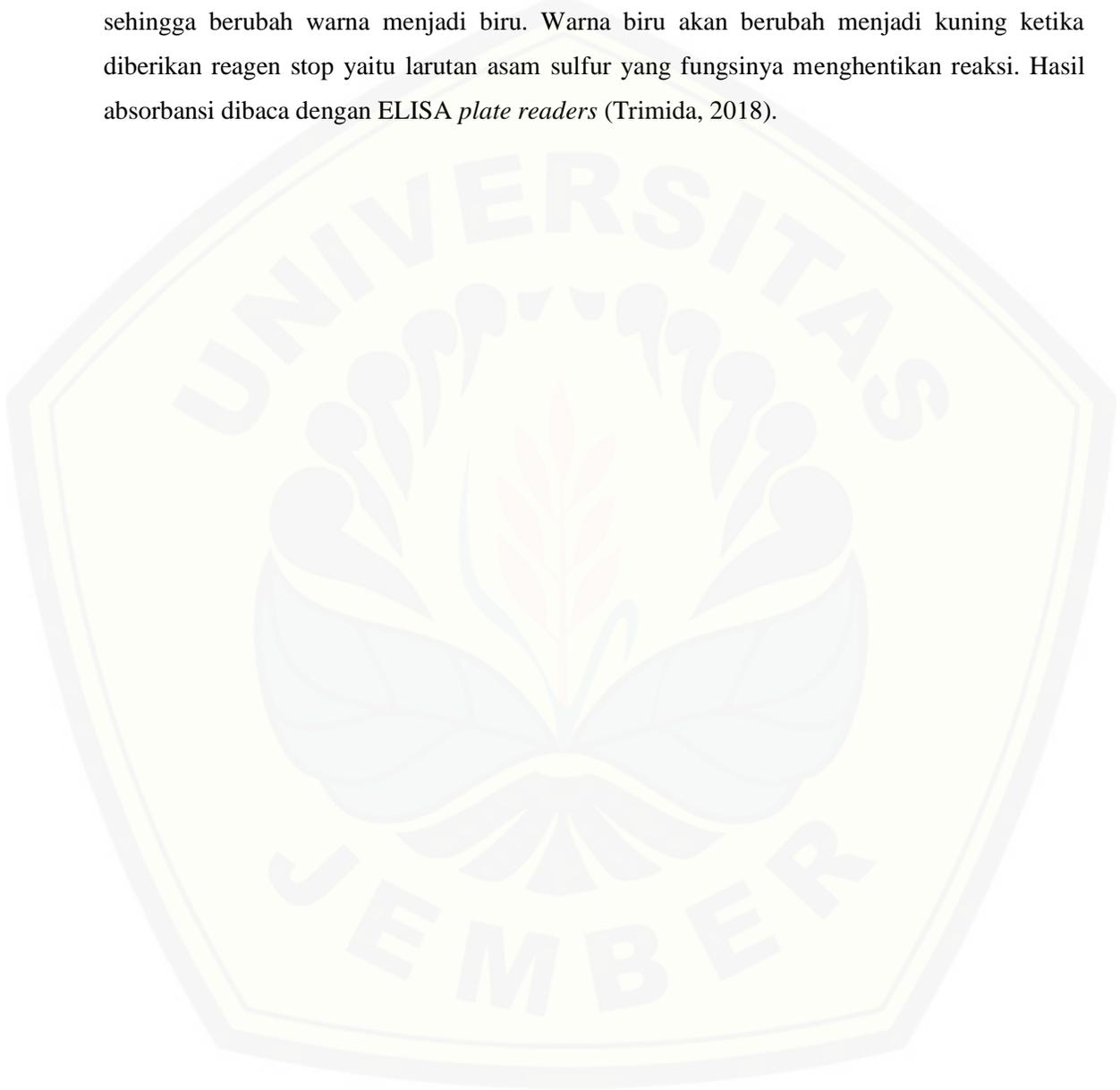
Dasar pemeriksaan TBARS adalah reaksi spektrofotometrik sederhana dimana satu molekul MDA akan dipecah menjadi 2 molekul 2-asam thiobarbiturat. TBA akan menghasilkan warna merah muda yang dapat diperiksa secara spektrofotometrik. Beberapa metode pengukuran TBA adalah sebagai berikut (Dalle-Donne *et al.*, 2006; Konig dan Berg, 2002) :

- a. Pengukuran reaksi TBA dengan metode kolorimetri
Pengukuran kadar MDA dengan metode kolorimetri merupakan metode yang paling sering digunakan. Metode ini mudah dilakukan namun bersifat tidak spesifik karena mengukur produk aldehid lainnya.
- b. Pengukuran reaksi TBA dengan metode fluoresens
Pada metode ini pemeriksaan dilakukan dengan spektroflluometri. Selain itu, metode ini juga memiliki kelebihan dibanding dengan metode kolorimetri karena tidak terganggu oleh beberapa substansi produk reaksi TBA yang larut air sehingga hasil yang diperoleh lebih spesifik.
- c. Pengukuran MDA-TBA dengan HPLC (*High performance liquid chromatography*)
Metode ini secara spesifik mengukur kompleks MDA-TBA sehingga pengukuran kadar MDA lebih akurat. Namun metode ini membutuhkan kondisi asam dan suhu tinggi sehingga terdapat kemungkinan terbentuknya MDA bukan karena peroksidasi lipid.

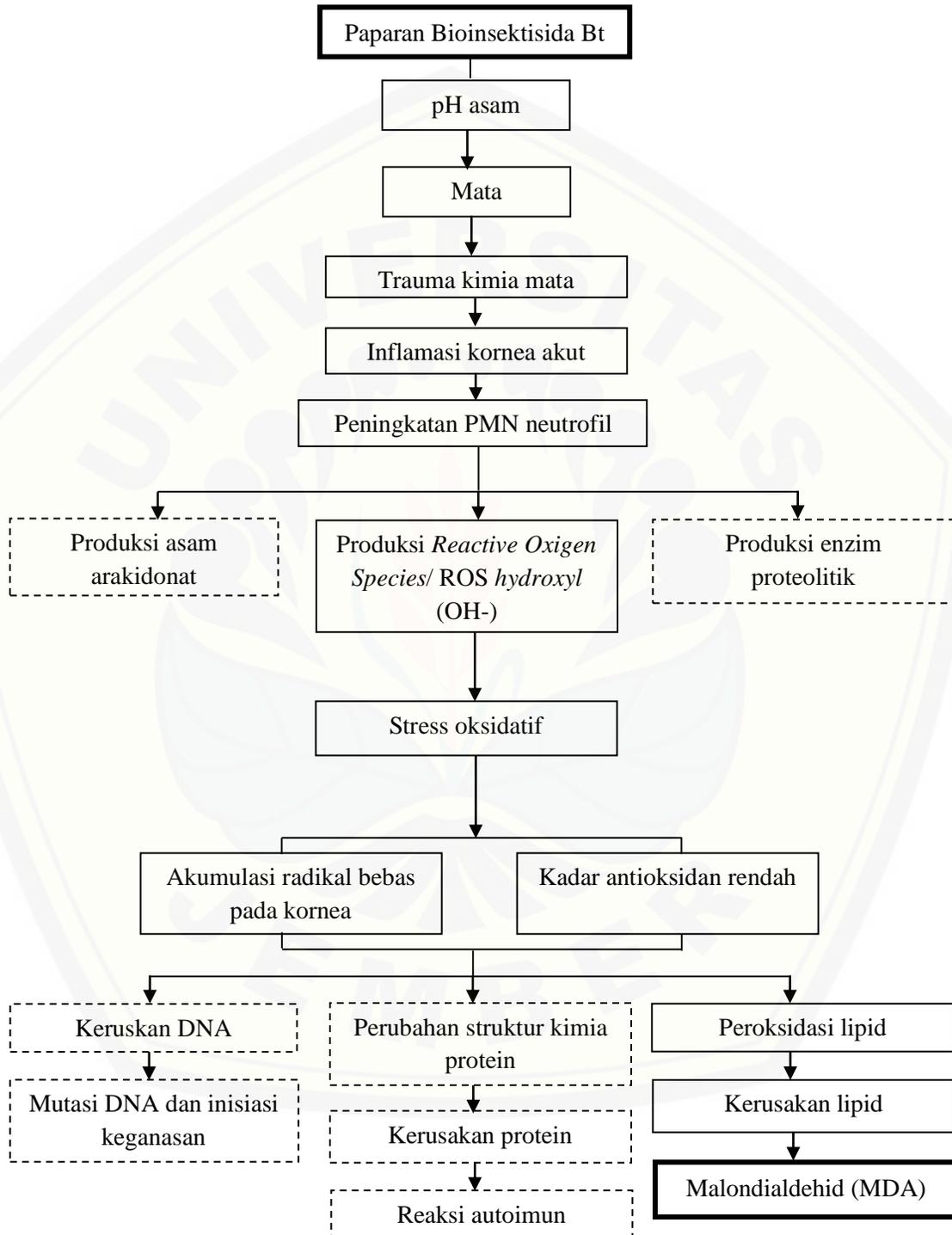
2. Metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)

Prinsip dari metode ELISA ini adalah pada alat yaitu *microtiter plate* atau sumuran yang sudah dilapisi MDA. Ketika diberikan sample dan reagen antibody dalam jumlah yang

sama, maka MDA sample akan berikatan secara spesifik dengan antibody. Sedangkan yang tidak berikatan akan terbuang saat pencucian. Setelah pencucian selesai kemudian diberikan reagen (*Horseradish Peroxidase*) dan reagen substrat yaitu TMB (*Tetramethylenbenzidine*) sehingga berubah warna menjadi biru. Warna biru akan berubah menjadi kuning ketika diberikan reagen stop yaitu larutan asam sulfur yang fungsinya menghentikan reaksi. Hasil absorbansi dibaca dengan ELISA *plate readers* (Trimida, 2018).

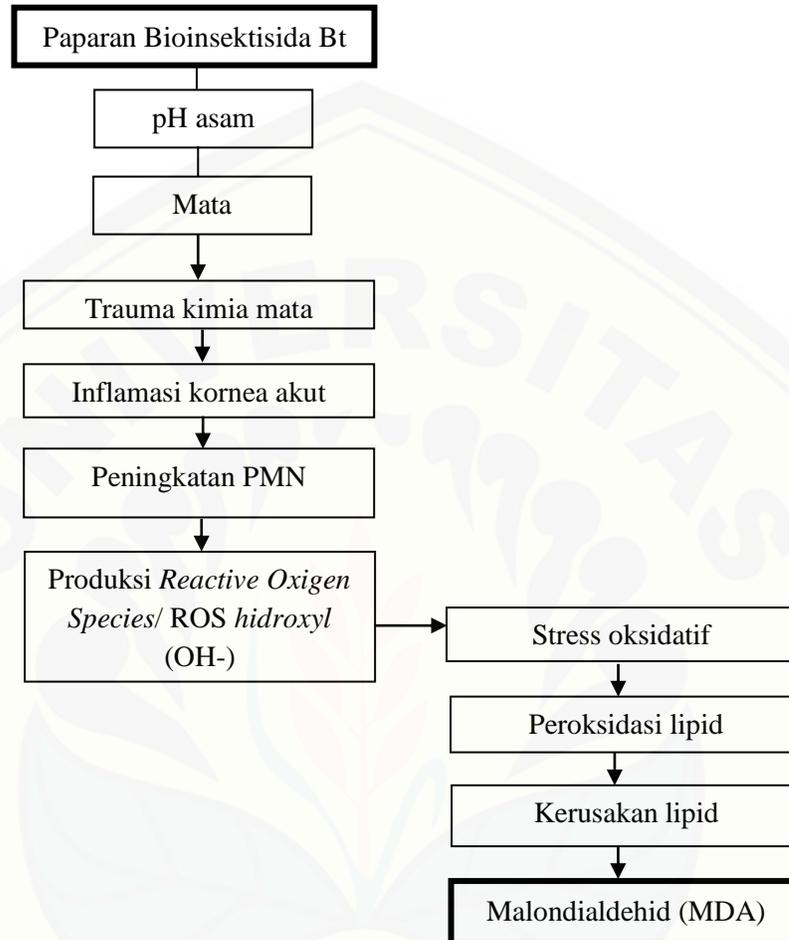


2.9 Kerangka Teori Penelitian



Gambar 2.7 Kerangka teori penelitian

2.10 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 2.8 Kerangka konsep penelitian

Keterangan :

: diteliti

: tidak diteliti

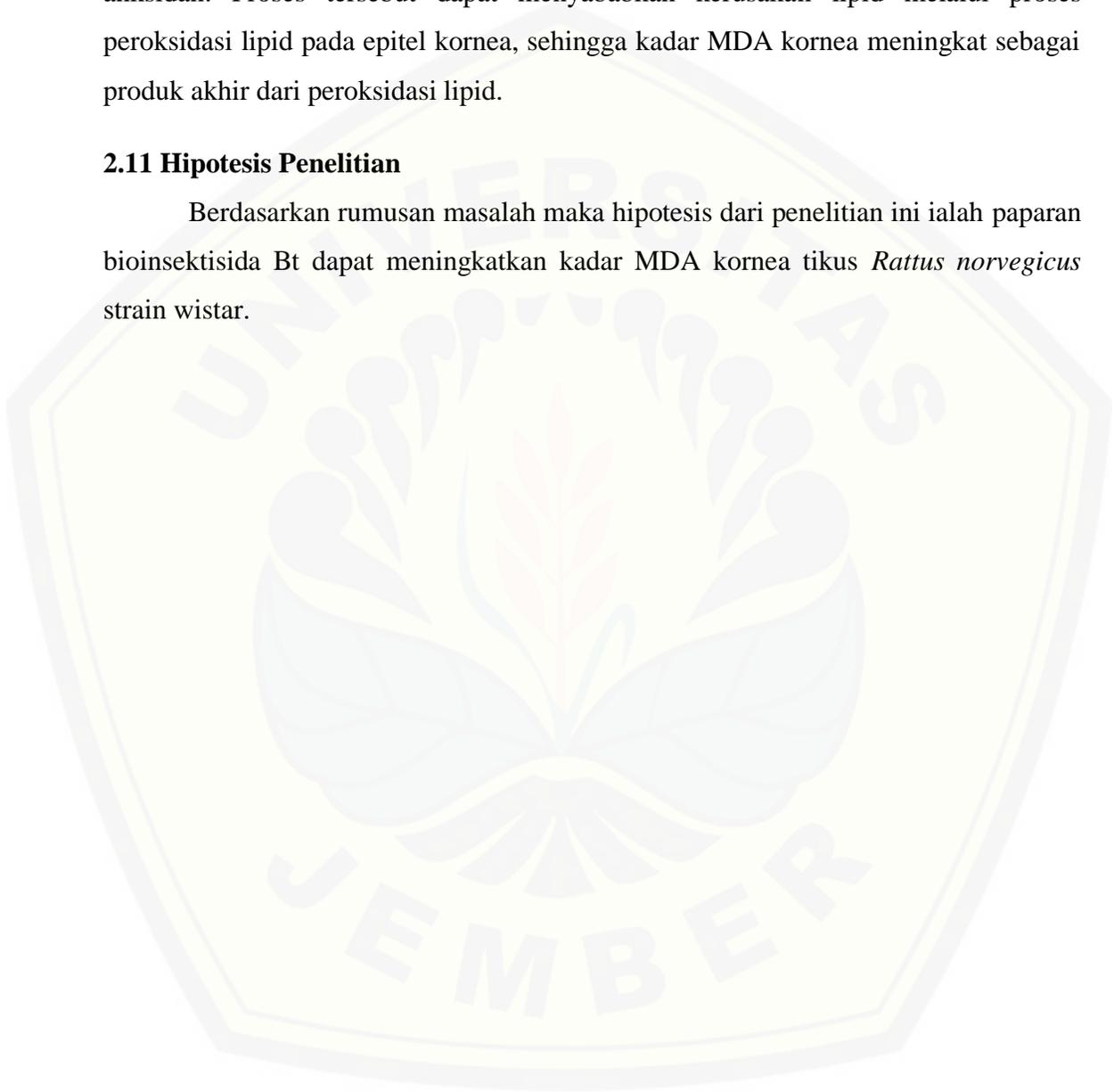
→ : menyebabkan

Paparan bioinsektisida Bt pada mata yang bersifat asam dapat menyebabkan inflamasi akut pada epitel kornea sehingga menyebabkan kerusakan sel-sel pada epitel kornea. Sel PMN neutrofil akan menginvasi kornea sebagai reaksi dari inflamasi akut yang terjadi dan sel PMN akan memproduksi ROS. ROS yang

diproduksi merupakan ROS *hydroxyl* (OH⁻) yang bersifat sangat reaktif. Kadar ROS OH⁻ yang tinggi akan menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan antara oksidan dan anksidan. Proses tersebut dapat menyebabkan kerusakan lipid melalui proses peroksidasi lipid pada epitel kornea, sehingga kadar MDA kornea meningkat sebagai produk akhir dari peroksidasi lipid.

2.11 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah maka hipotesis dari penelitian ini ialah paparan bioinsektisida Bt dapat meningkatkan kadar MDA kornea tikus *Rattus norvegicus* strain wistar.



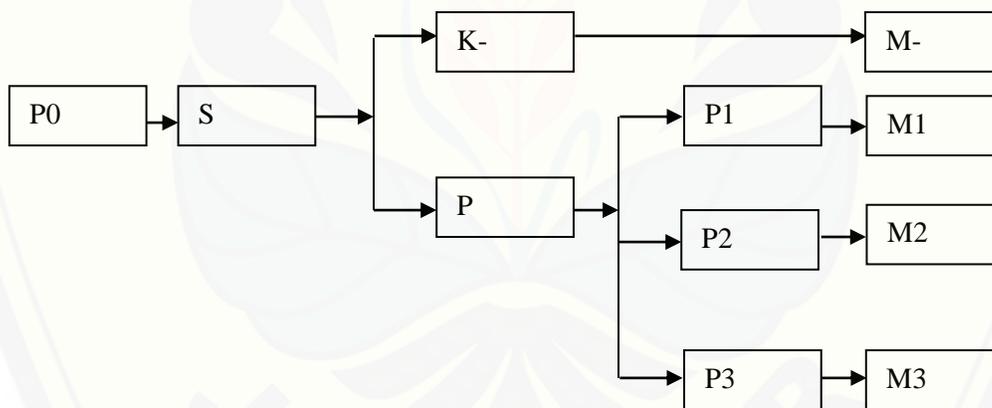
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental* karena peneliti dengan sengaja memberikan perlakuan kepada subjek penelitian dengan tujuan untuk mengetahui dan mempelajari efek dari perlakuan tersebut. Penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan sebagai sampel dengan kriteria inklusi dan eksklusi.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini ialah *post test only control group* yaitu dengan membandingkan hasil kelompok perlakuan dengan hasil kelompok kontrol di akhir penelitian. Secara sistematis dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

P0 : Populasi

S : Sampel

K- : Kelompok kontrol negatif (mata dibilas dengan aquades selama 7 hari)

P : Kelompok perlakuan

- P1 : Kelompok perlakuan 1 (tikus dipapar oleh larutan Bt dengan konsentrasi 8 g/l selama 7 hari)
- P2 : Kelompok perlakuan 2 (tikus dipapar oleh larutan Bt dengan konsentrasi 10 g/l selama 7 hari)
- P3 : Kelompok perlakuan 3 (tikus dipapar oleh larutan Bt dengan konsentrasi 12 g/l selama 7 hari)
- M- : Kadar MDA pada kontrol negatif
- M1 : Kadar MDA pada perlakuan 1
- M2 : Kadar MDA pada perlakuan 2
- M3 : Kadar MDA pada perlakuan 3

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi penelitian ialah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang didapatkan dari sebuah peternakan tikus bernama Wistar Farm di Desa Sumber Sekar, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang. Berikut kriteria inklusi dan eksklusi yang menunjukkan kelayakan sampel digunakan.

Kriteria Inklusi

- 1) Tikus wistar jantan
- 2) Bergerak aktif
- 3) Usia kurang lebih 3 bulan
- 4) Berat kurang lebih 150-200 gram
- 5) Belum pernah mendapatkan perlakuan apapun dalam penelitian apapun
- 6) Tidak terdapat kelainan pada mata

Kriteria Eksklusi

Tikus yang mati saat penelitian

3.3.2 Jumlah Hewan Coba

Jumlah hewan coba dihitung berdasarkan rumus *Federer* (1955), yaitu :

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

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

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

$$3r \geq 18$$

$$r \geq 18/3$$

$$r = 6$$

Keterangan :

r : Jumlah hewan coba dalam setiap kelompok

n : Jumlah kelompok perlakuan

Dari hasil perhitungan yang menggunakan rumus *Federer*, jumlah hewan coba yang digunakan pada tiap kelompok sebanyak 6 ekor tikus. Jumlah kelompok perlakuan pada penelitian ini adalah 4 kelompok, sehingga jumlah hewan coba seluruhnya sebanyak 24 ekor tikus.

3.4 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian dilakukan di beberapa tempat yakni :

- Adaptasi subjek yaitu tikus wistar dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Pemberian perlakuan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Pengambilan jaringan kornea dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Pengukuran MDA dengan menggunakan uji spektrofotometri dengan reagen *Thiobarbiturate Acid* (TBA) di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.5 Variable Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini kadar MDA kornea tikus.

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Bioinsektisida Bt

Pengenceran bioinsektisida Bt dengan merk dagang Dipel WG dari PT Nufarm Indonesia dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan mencampurkan 0.16 gram bioinsektisida Bt pada 20 ml aquades untuk konsentrasi 8 g/l; 0.2 gram bioinsektisida Bt pada 20 ml aquades untuk konsentrasi 10 g/l; dan 0.24 gram pada 20 ml aquades untuk konsentrasi 12 g/l. Setelah itu, larutan campuran dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Konsentrasi bioinsektisida Bt menggunakan skala data ordinal.

3.6.2 MDA Kornea

Kadar MDA kornea diukur dengan spektrofotometri dan dinyatakan dengan satuan nmol/g. Pengukuran kadar MDA kornea dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Kadar MDA kornea diukur dengan metode MDA-TBA dengan metode kolorimetri. Metode ini lebih dipilih karena prosedurnya sederhana, banyak dilakukan, dan biaya yang relatif murah daripada metode yang lain. Reaksi MDA-TBA akan menghasilkan warna merah muda yang akan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 533 nm. Kadar MDA kornea menggunakan skala data rasio.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini ialah sebagai berikut :

- a. Alat-alat pemeliharaan tikus terdiri dari bak plastik, kawat penutup bak, botol minum, dan label kandang.
- b. Alat-alat pemberian paparan bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* terdiri dari spuit irigasi.
- c. Alat-alat anestesi terdiri atas spuit 26G.
- d. Alat-alat untuk mengukur kadar MDA terdiri dari *centrifuge*, tabung *centrifuge*, rak, mikropipet, mikrotip, tabung mikro, cuvet dan spektrofotometri.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah sebagai berikut :

- a. Bahan pemeliharaan tikus terdiri dari pakan pelet berjenis turbo, air, dan sekam.
- b. Bahan untuk pemberian paparan adalah *Wetable Granule* Bionsektisida *Bacillus thuringiensis* dengan merk Dipel WG dari PT Nufarm Indonesia.
- c. Bahan pemberian anestesi adalah ketamine HCl 10%.
- d. Bahan untuk mengukur kadar MDA terdiri dari jaringan kornea tikus, PBS, NaCl 0.9%, aquades steril, HCl 1N, trikloroasetat (TCA) 100% dan *thiobarbiturate acid* (TBA) 0,6%.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Uji Kelayakan Etik

Subyek yang digunakan dalam penelitian yaitu tikus wistar (*Rattus norvegicus*) adalah tikus yang dalam pelaksanaan penelitian harus mendapat surat keterangan kelayakan etik, sehingga perlu diajukan ke komisi etik kedokteran.

Prosedur ini diharapkan akan menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan coba, serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti.

3.8.2 Pemilihan Hewan Coba

Pemilihan hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini ialah tikus jantan karena relatif lebih kuat, tidak dipengaruhi aktivitas hormonal, dan tidak terganggu oleh adanya kehamilan. Diambil tikus dengan usia kurang lebih 3 bulan karena pada usia tersebut hewan coba telah matur. Ditentukan berat badan tikus kurang lebih 150-200 gram karena merupakan berat badan ideal hewan. Jumlah hewan coba sebanyak 24 ekor.

3.8.3 Adaptasi Hewan Coba

Perawatan hewan coba yang dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember dimulai dengan melakukan adaptasi terhadap hewan coba selama 7 hari sehingga tikus dapat beradaptasi dengan lingkungan yang baru. Hewan coba dirawat dan dipelihara di dalam kandang yang berukuran panjang 50 cm, lebar 30 cm, dan tinggi 10 cm yang diberi alas sekam atau serbuk kayu kering secukupnya. Masing-masing kandang terdapat 3 hewan coba dengan 1 botol minum berisi air biasa serta makanan pelet.

3.8.4 Pembagian Kelompok Perlakuan

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan yang Diberikan
Kelompok K-	Pemberian aquades selama 7 hari
Kelompok P1	Pemberian bioinsektisida Bt dengan konsentrasi 8 g/l selama 7 hari
Kelompok P2	Pemberian bioinsektisida Bt dengan konsentrasi 10 g/l selama 7 hari
Kelompok P3	Pemberian bioinsektisida Bt dengan

konsentrasi 12 g/l selama 7 hari

3.8.5 Pembuatan Larutan Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*

Pembuatan larutan bioinsektisida bt dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan menggunakan produk merk dagang Dipel WG dari PT Nufarm Indonesia. Langkah-langkah pembuatan larutan adalah sebagai berikut :

1. Siapkan alat dan bahan yaitu ;
 - Bioinsektisida bt Dipel WG dari Nufarm Indonesia
 - Gelas *beaker* 100 ml sebanyak 3 buah
 - Neraca ohaus
 - Sendok
 - *Magnetic stirrer*
 - Aquades
2. Berikan label ke masing-masing gelas *beaker* dengan label 8 g/l, 10 g/l, dan 12 g/l.
3. Timbang bubuk bt menggunakan neraca ohaus dengan masing masing berat 0.16 g, 0.2 g, dan 0.24 g.
4. Tambahkan 20 ml aquades ke dalam masing-masing gelas *beaker* yang telah terisi bubuk bt.
5. Homogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 500 rpm selama 3 menit.

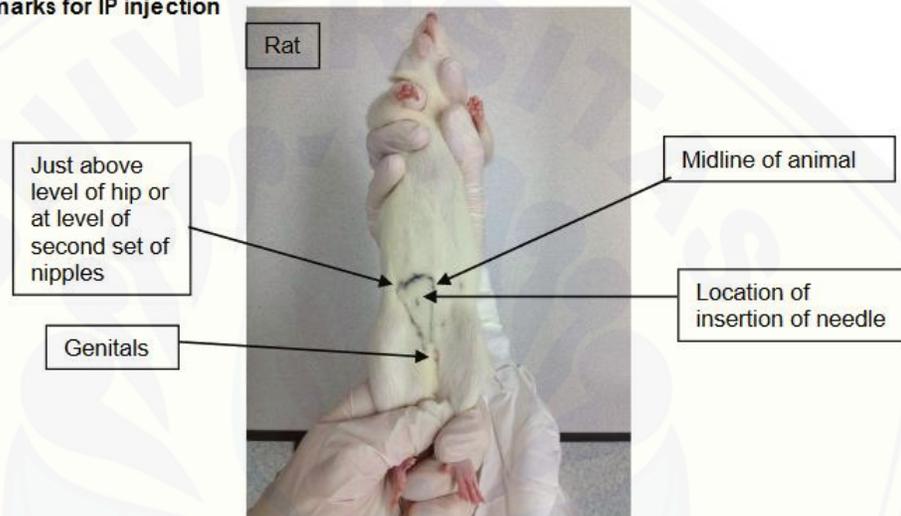
3.8.6 Anestesi

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. Ketamin diambil menggunakan spuit 26G sebanyak 1,3 ml.

3. Tikus dipegang dengan cara jari tengah dan jari telunjuk 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°

Landmarks for IP injection



Gambar 3.2 Cara pemegangan tikus

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.

3.8.7 Pemaparan larutan 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, teteskan pantocain 5% pada kedua mata dan tunggu sekitar 1 menit, kemudian dilakukan pemaparan bioinsektisida Bt menggunakan larutan sesuai prosedur yang telah ada.
3. Larutan bioinsektisida Bt diteteskan pada kornea menggunakan spuit sebanyak 3 mL dalam 2 menit.
4. Setelah dilakukan pemaparan, dilanjutkan dengan menutup mata tikus menggunakan plester agar paparan lebih intens dan didapatkan perlukaan kornea dengan permukaan yang lebih luas.
5. Plester digunting dengan ukuran 1 cm x 5 cm 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.
9. Setelah 30 menit, plester dilepaskan dan tikus dikembalikan ke kandang.
10. Pemaparan dilakukan selama 7 hari untuk mendapatkan tanda inflamasi.

3.8.8 Terminasi Hewan Coba

Setelah perlakuan selama 7 hari selesai, dilakukan terminasi pada hari ke 8 sesuai dengan cara yang diatur dalam etik penggunaan hewan coba. Terminasi dilakukan dengan menganestesi tikus menggunakan ketamine. Setelah efek anestesi tercapai, leher tikus dipatahkan dengan metode *cervical dislocation*.

3.8.9 Pengambilan Jaringan Kornea

Pengambilan Jaringan dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Ketika terminasi sudah dilakukan pada hewan coba, posisikan kepala hewan secara horizontal pada papan dan kencangkan kepala hewan menggunakan selotip pada bagian leher untuk memastikan bahwa mata tetap berada pada posisi horizontal selama perlakuan.
2. Buka palpebral atas dan bawah kemudian tahan dengan jarum agar bola mata sepenuhnya menonjol keluar.
3. Gunakan pisau bedah yang tajam untuk menembus kornea secara keseluruhan
4. Ambil jaringan kornea dan letakkan pada vial yang telah diisi PBS

3.8.10 Pengukuran Kadar MDA Kornea

Pengukuran kadar MDA lensa mata menggunakan reagen pereaksi TBA yang akan membentuk produk MDA-TBA berwarna merah muda cerah dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri dengan cara seperti berikut :

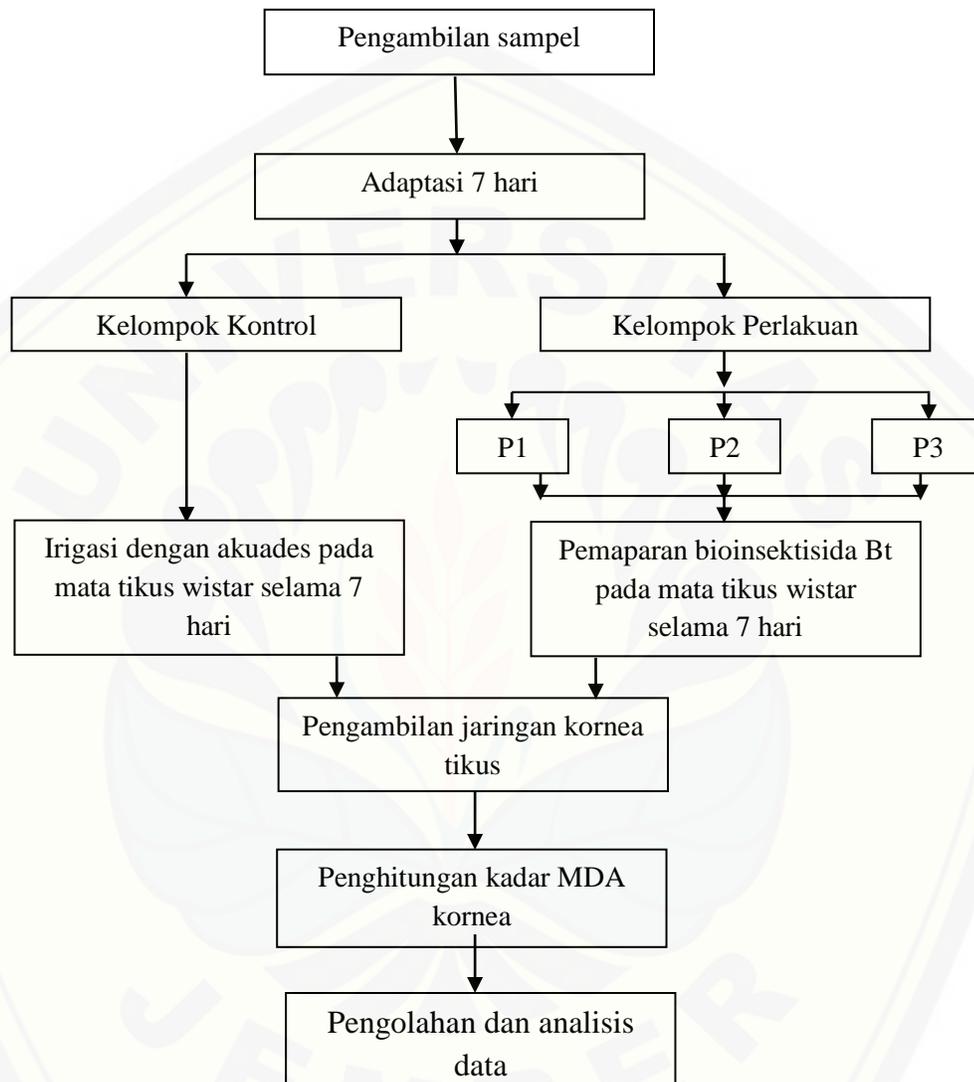
1. Jaringan kornea dibilas dengan *Phospate Buffer Saline* (PBS)
2. Kornea digerus dimortar diatas balok es
3. Ditambahkan NaCl 0,9% dingin dengan perbandingan 1:9 jaringan kornea dibanding NaCl
4. Letakkan ke tabung mikro menggunakan mikrotip
5. Campuran disentrifus dengan kecepatan 8.000 rpm selama 20 menit.
6. Ambil 100µl supernatan ke dalam tabung reaksi
7. Tambahkan 500µl aquades steril dan 100µl TCA 100%
8. Tambahkan 250µl HCl 1M dan 100µl TBA 0,67%
9. Sentrifus dengan kecepatan 500rpm selama 10 menit
10. Ambil supernatant dan pindahkan ke tabung reaksi yang baru
11. Inkubasi pada suhu 100°C selama 30 menit hingga menghasilkan warna merah muda, kemudian dinginkan pada suhu ruangan

12. Pindahkan ke cuvet dan ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 533 nm.

3.9 Analisis Data Penelitian

Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS. Uji yang dilakukan terhadap kadar MDA yaitu uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena sampel berjumlah kurang dari 50 dan untuk mengetahui distribusi data, terdistribusi normal atau tidak. Jika nilai signifikansi $p > 0,05$ maka data penelitian terdistribusi normal. Apabila data tidak terdistribusi normal dapat dilakukan uji non parametrik *Kruskal-Wallis* karena jumlah perlakuan lebih dari 2 kelompok. Kemudian dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene test* untuk menilai kesetaraan varian untuk variable yang dihitung untuk dua kelompok atau lebih. Jika nilai signifikansi $p > 0,05$ maka data penelitian homogen. Apabila data didapatkan terdistribusi normal dan homogen, maka selanjutnya dilakukan uji komparatif *One Way Anova* ($p < 0,05$) untuk mengetahui perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan karena jumlah perlakuan lebih dari dua. Uji hipotesis menggunakan uji analisis *Post Hoc* yang bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan pada setiap kelompok perlakuan.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Skema alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa paparan bioinsektisida Bt tidak dapat meningkatkan kadar MDA kornea tikus *Rattus norvegicus* strain wistar.

5.2 Saran

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

1. Perlu adanya uji lebih lanjut mengenai bahan utama penyebab peningkatan kadar MDA dari produk yang digunakan. Selain itu, dapat dilakukan penelitian lain dengan menggunakan produk bioinsektisida yang diketahui komposisinya secara spesifik.
2. Perlu dilakukan perubahan waktu penelitian menjadi 3 hari karena puncak infiltrasi neutrofil adalah 1-4 hari setelah cedera dan pengambilan sampel dapat dilakukan pada hari ke 3 atau 4, sehingga kemungkinan dapat diperoleh hasil yang signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., A.H. Lichtman dan S. Pilai. 2010. *Cellular and Molecular Immunology*, 6th Ed. Philadelphia:W. B. Company.
- Achmadi, UF. 2008. Manajemen penyakit berbasis wilayah. Jakarta: Universitas Jakarta Press.
- Alio, J., M. J. Ayala., M. E. Mulet., A. Artola., J. M. Ruiz, dan J. Bellot. 1995. Antioxidant therapy in the treatment of experimental acute corneal inflammation. *Ophthalmic Research*. 27(3):136-143.
- American Academy of Ophthalmology. 2011. Glaucoma. San Fransisco : American Academy of Ophthalmology.
- American Academy of Ophthalmology. 2012. Clinical Aspects Of Toxic and Traumatic Injuries of The Anterior Segment: External Disease and Cornea. BSSC. 8:353-359.
- Ansharullah, B. A. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Murbei (*Morus alba L.*) Terhadap Kadar MDA (Malondialdehyde) Lensa Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) Model Hipertensi Okuli. *Skripsi*. Jember: Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Aprini, U. R., N. Virhan., Z. Mistika. 2019. Pengaruh pemberian astaxanthin terhadap kadar malondialdehid pada kerusakan jaringan testis tikus putih yang diinduksi formaldehid secara oral. *Jurnal Cerebellum*. Pontianak: Program Studi Kedokteran. FK Universitas Tanjungpura. 5(1):1234-1246.
- Ayala, A., M. F. Munoz., S. Argelles. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanism of malondialdehyde and 4-hidroxy-2-noneal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-31.
- Bahagiawati. 2002. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai Bioinsektisida. *Bulletin AgroBio*. 5(1):21-28.
- Borgman, C. J. 2017. Recurrent conjunctivitis secondary to gram-positive bacillus, *Bacillus thuringiensis*. *Clinical and Experimental Optometry*. 101(4):594-595.
- Cejka, C., dan J. Cejkova. 2015. Oxidative stress to the cornea, changes in corneal optical properties, and advances in treatment of corneal oxidative injuries. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-10.

- Dalle-Donne, I., R. Rossi., R. Colombo., D. Giustarini., dan A. Milzani. 2006. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry*. 52(4):601-623.
- Daniel, R. M., S. Stelian., dan C. Dragomir. 2010. The effect of acute physical exercise on the antioksidant status of the skeletal and cardiac muscle in the wistar rat. *Romanian Biotechnological Letters*. 15(3):56-61.
- Delmonte, D. W., dan T. Kim. 2011. Anatomy and physiology of the cornea. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. 37(3):588-598.
- Drake, B., R. Peterson., G. Tabin., F. ButlerF., dan T. Cuhing. 2012. Treatment of Eye Injuries and Illnesses in the Wilderness. Denver Health Medical Center. *Denver, wilderness and enviromental medicine*. 23:325-336.
- Fawziyah, E. 2018. Efek Ekstrak Daun Murbei (*Morus alba. L*) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Lensa Mata pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Katarak. *Skripsi*. Jember: Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Forrester, J. V., A. D. Dick., P. G. McMenamin., F. Roberts., dan E. Pearlman. 2016. *Anatomy of the Eye and Orbit*. 4th ed. Edinburgh, UK: WB. Saunders. 1-102.
- Fuente, M. D., dan J. Miquel. 2009. An update of the oxidation-inflammation theory of aging: the involvement of the immune system in oxi-inflamm-aging. *Current Pharmaceutical Design*. 15:3003-3026.
- Hermanto, S., J. Eddy., dan M. J. Shiddiqi. 2013. Eksplorasi Protein Toksin Bacillus thuringiensis dari Tanah di Kabupaten Tangerang. Jakarta: Program Studi Kimia FST UIN Syarif Hidayatullah Jakarta 3(1):48-56.
- Ibrahim, M. A., N. Griko., M. Junker., dan A. L. Bulla. 2010. Bacillus thuringiensis a genomics and proteomics perspective. *Bioengineered Bugs*. 1(1):31-50
- Ilyas, S., dan S. R. Yulianti. 2015. *Ilmu Penyakit Mata*. Edisi kelima. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Janicka, M., A. Kot-Wasik., J. Kot., dan J. Namiesnik. 2010. Isoprostanes-biomarkers of lipid peroxidation: their utility in evaluating oxidative stress and analysis. *International Journal of Molecular Science*. 11(11):4631-4659.
- Jawahar, K., A. Rajput., S. Mantha., A. Chaudary., dan K. Prasad. 1992. Oxygen free radicals producing activity of polimorphonuclear leukocytes in patients with Parkinson's disease. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 112(2).

- Kompa, S., C. Redbrake, C. Hilgers, H. Wustemeyer, N. Schrage, dan A. Remky. 2005. Effect of Different Irrigating Solutions on Aqueous Humor pH Changes, Intraocular Pressure, and Histological Findings after Induced Alkali Burns. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*.83: 467-470.
- Kumar, L. R., A. Ndao., J. Valero., dan R. D. Tyagi. 2019. Production of bacillus thuringiensis based biopesticide formulation using stratch industry wastewater (SIW) as a substrate: *A Techno-Economic Evaluation. Bioresource Technology*.
- Kurkcü, R. 2010. The effect of short-term exercise on the parameters of oxidant and antioxidant system in handball players. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 4(7):448-452.
- Lobo, V., A. Patil., A. Phatak, dan N. Chandra. 2010. Free radicals, antioxidant and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews* 4(8):118-126.
- Lubis, R. R., dr. 2014. Trauma Kimia. Departemen Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara
- Mafazah, A., & Z. Enny. 2017. Potensi Bacillus thuringiensis dari Tanah Perkebunan Batu Malang sebagai Bioinsektisida terhadap Larva Spodoptera litura F. Departemen Biologi, Fakultas Ilmu Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember. 6(2):2337-3520.
- Marciniak, A., J. Brzeszezynska., K. Gwodzinski., dan A. Jegier. 2009. Antioxidant Capacity and Physical Exercise. *Biology of Sport*. 26(3):197-213.
- Massof, R. W., dan F. W. Chang. 1972. A revision of the rat schematic eye. *Vision Research*. 12(5):793-796
- Melo, A. L., V. T. Soccol., dan C. R. Soccol. 2014. Bacillus thuringiensis: Mechanism of Action, Resistance, and New Application: a Review. *Critical Reviews in Biotechnology*. 36(2):317-326.
- 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.
- Mena, K. D., dan C. P. Gerba. 2009. Risk assessment of Pseudomonas aeruginosa in water. *Reviews of Enviromental Contamination and Toxicology*. 71-115.

- Moghe, A., S. Ghare., B. Lamoreau., M. Mohammad., S. Barve., C. McClain., dan S. Joshi-Barve. 2015. Molecular mechanism of acrolein toxicity: Relevance to human disease. *Toxicological Science*. 142(2)242-255.
- Molon-Noblot, S. M., dan P. Duprat. 1991. Anatomy of the ocular surfaces, cornea, and conjunctiva, rat and mouse. *Eye and Ear*. 3-19.
- Pratiwi, A. S. 2010. Respon Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Dikontaminasi Radikal Bebas terhadap Pemberian Tepung Delima (*Punica granatum L.*) sebagai Sumber Antioksidan. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rakhmasari, A. Y., S. Inakawati, S. Sundari, Winarto, E. Sasmito. 2015. Comparison of topical and subconjunctival curcumin injection on corneal neovascularization on alkali injuries of wistar's cornea. *Ophthalmol Ina*. 41:1.
- Riordan-Eva, P., dan J. P. Witcher. 2010. *Vaughan & Asbury's General Ophthalmology*, 17th ed. London: McGraw-Hill Companies.
- Rubio-Infante, N., dan L. Moreno-Fierros. 2015. An overview of the safety and biological effects of *Bacillus thuringiensis* cry toxin in mammals. *Journal of Applied Toxicology*. 36(5):630-648.
- Safitra, D. R. 2015. *Bacillus thuringiensis* Pelindung Kecil yang Mematikan. <https://lamasamyblog.wordpress.com/2015/05/30/bacillus-thuringiensis-pelindung-kecil-yang-mematikan/> (diakses pada 20 Desember 2019).
- Samples, J. R., dan H. Buettner. 1983. Corneal Ulcer Caused by a Biologic Insecticide (*Bacillus thuringiensis*). *American Journal of Ophthalmology*. 95(2): 258-260.
- Semihardjo, Halim. 2012. *Buku Panduan Praktikum Histologi*. Jakarta: EGC
- Sinaga, F. A. 2016. Stress Oksidatif dan Status Antioksidan pada Aktivitas Fisik Maksimal. Jurusan Generasi Kampus. Medan: Jurusan Ilmu Keolaharagaan, FIK Universitas Medan.
- Tallab RT, dan DU Stone. 2016. *Corticosteroid as a therapy for bacterial keratitis: an evidence-based review of 'who, when, why'*. *Br J Ophthalmol*. 100:731-735.
- Trimida. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bawang. *Skripsi thesis*. Surakarta: Universitas Setia Budi Surakarta.
- Tsai, J. C., A. K. Denniston., dan P. I. Murray. 2011. *Oxford American Handbook of Ophthalmology*. Oxford University Press Inc. 84-85.

Yudaristy, H., & L. Wahyuni. 2012. Hubungan antara Malondialdehid pada Lensa terhadap Patofisiologi Katarak Senilis. *Karya Tulis Ilmiah*. Palembang: Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.



LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Persetujuan Etik



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 APPROVAL

Nomor : 1460 /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 :

PENGARUH PAPANAN BIOINSEKTISIDA *Bacillus thuringiensis* TERHADAP KADAR Malondialdehyde (MDA) KORNEA TIKUS *Rattus norvegicus* strain WISTAR

Nama Peneliti Utama : Hashinatul.Hurriyyah.
Name of the principal investigator

NIM : 162010101061

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

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

Jember, 21 Juli 2020
Ketua Komisi Etik Penelitian



K. Kurniawati, 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 dengan hewan coba wajib memegang prinsip 3R (*Reduced, Reuse, Redefined*)
2. Pengambilan sampel kornea hewan coba dilakukan oleh tenaga ahli yang kompeten
3. Pengukuran kadar MDA dilakukan oleh tenaga ahli yang kompeten dan di laboratorium yang sesuai.
4. Pembuatan kurva standar MDA dilakukan oleh tenaga ahli yang kompeten dan di laboratorium yang sesuai agar tidak menjadi bias dalam penelitian.
5. Pengukuran kadar MDA menggunakan spektrofotometer yang sudah dikalibrasi agar tidak menjadi bias dalam penelitian ini.
6. Mohon diperhatikan kualitas kontrol Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* agar tidak membahayakan peneliti dan bias dalam penelitian.
7. Mohon diperhatikan peneliti, saat penelitian wajib memegang prinsip *safety first* dengan menggunakan Alat Pelindung Diri (APD) yang sesuai/menerapkan protokol kesehatan.
8. Mohon diperhatikan peneliti, pembuangan limbah dan sisa medis agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Kim Kusanti, Sp.PK

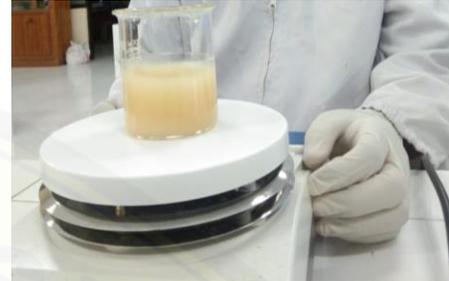
Jember, 27 Juli 2020
Review

dr. Ayu Munawaroh Aziz, M.Biomed

Lampiran 3.2 Dokumentasi Penelitian



Pencampuran bioinsektisida Bt dengan aquades



Proses homogenisasi



Anestesi hewan coba



Pemaparan larutan bioinsektisida Bt



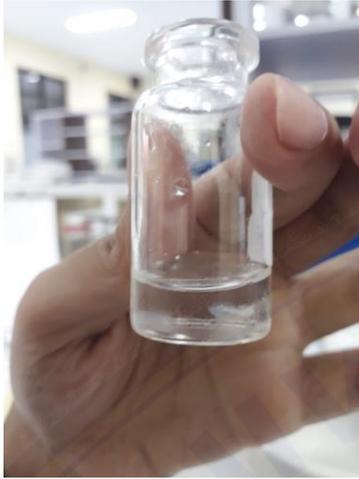
Penutupan mata



Terminasi



Pengambilan jaringan kornea



Persiapan jaringan dan dihaluskan



Dipindahkan ke *microtube*



Sentrifugasi



Pemindahan ke tabung reaksi dan penambahan reagen



Pemanasan



Tampak perubahan warna menjadi merah muda



Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 553nm

Lampiran 3.3 Surat Keterangan Bebas Plagiasi

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERANJalan Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto, Kotak Pos Jember 68121
Telepon (0331) 337877, 324446, Faksimile (0331) 337877
Laman: fk.unej.ac.id Email: fk@unej.ac.idSURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI
Nomor : 2108 /UN25.11/ET/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 : Hashinatul Hurriyyah
NIM : 162010101061
Angkatan : 2016
Judul Skripsi : Pengaruh Paparan Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Kornea Tikus *Rattus norvegicus strain* Wistar

Bersama ini bahwa hasil uji turnitin kami menyatakan "Bebas Plagiasi"
Demikian surat rekomendasi ini dibuat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.



Mengetahui,
Wakil Dekan I,

dr. Ancah Caesarina Novi M. Ph.D.
NIP 198203092008122002

Jember, 09 SEP 2020
Komisi Bimbingan KTI dan Publikasi
Ketua,

Dr. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes.
NIP 197406042001122002

Lampiran 4.1 Data Kadar MDA Kornea

Kelompok	Nomor	Absorbansi	Konsentrasi MDA	Rata-rata Konsentrasi MDA
K-	1	0,27	6,173	6.328
	2	0,206	4,191	
	3	0,188	3,634	
	4	0,222	4,687	
	5	0,371	9,300	
	6	0,393	9,981	
P1	1	0,203	4,099	4.749
	2	0,201	4,037	
	3	0,206	4,191	
	4	0,2	4,006	
	5	0,199	3,975	
	6	0,335	8,185	
P2	1	0,188	3,634	7.030
	2	0,171	3,108	
	3	0,226	4,811	
	4	0,483	12,767	
	5	0,159	2,736	
	6	0,559	15,120	
P3	1	0,515	13,758	5.936
	2	0,208	4,253	
	3	0,156	2,643	
	4	0,146	2,334	
	5	0,177	3,294	
	6	0,372	9,331	

Lampiran 4.2 Hasil Uji Normalitas *Saphiro-Wilk*

Kelompok	Rata-rata kadar MDA kornea (nmol/g ± SD)
K-	6,328 ± 2,7
P1	4,749 ± 1,6
P2	7,030 ± 5,4
P3	5,936 ± 4,6

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.228	6	.200*	.868	6	.219
P1	.463	6	.000	.538	6	.000
P2	.325	6	.047	.781	6	.040
P3	.309	6	.076	.815	6	.079

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

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 4.3 Hasil Transformasi Data

Kelompok	Nomor	Konsentrasi MDA	Hasil Transformasi Data
K-	1	6,173	0,79
	2	4,191	0,62
	3	3,634	0,56
	4	4,687	0,67
	5	9,300	0,97
	6	9,981	1
P1	1	4,099	0,61
	2	4,037	0,61
	3	4,191	0,62
	4	4,006	0,6

	5	3,975	0,6
	6	8,185	0,91
P2	1	3,634	0,56
	2	3,108	0,49
	3	4,811	0,68
	4	12,767	1,11
	5	2,736	0,44
	6	15,120	1,18
P3	1	13,758	1,14
	2	4,253	0,63
	3	2,643	0,42
	4	2,334	0,31
	5	3,294	0,52
	6	9,331	0,97

Lampiran 4.4 Hasil Uji Normalitas pada Transformasi Data

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadarmdatrans	.219	24	.004	.904	24	.026

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 4.5 Hasil Uji Kruskal-Wallis

Ranks

	Bioinsektisida Bt	N	Mean Rank
MDA	Kontrol	6	15.17
	Konsentrasi 8 g/l	6	11.42
	Konsentrasi 10 g/l	6	12.58
	Konsentrasi 12 g/l	6	10.83
	Total		24

Test Statistics^{a,b}

	MDA
Kruskal-Wallis H	1.329
df	3
Asymp. Sig.	.722

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Bioinsektisida Bt

