



**EFEK EKSTRAK BAWANG BOMBAY (*Allium cepa* L.)
TERHADAP NEOVASKULARISASI KORNEA PADA
KELINCI MODEL ULKUS KORNEA
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh

**Asyifa Hilda Hapsari
NIM 152010101109**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**EFEK EKSTRAK BAWANG BOMBAY (*Allium cepa* L.)
TERHADAP NEOVASKULARISASI KORNEA PADA
KELINCI MODEL ULKUS KORNEA
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

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

Oleh

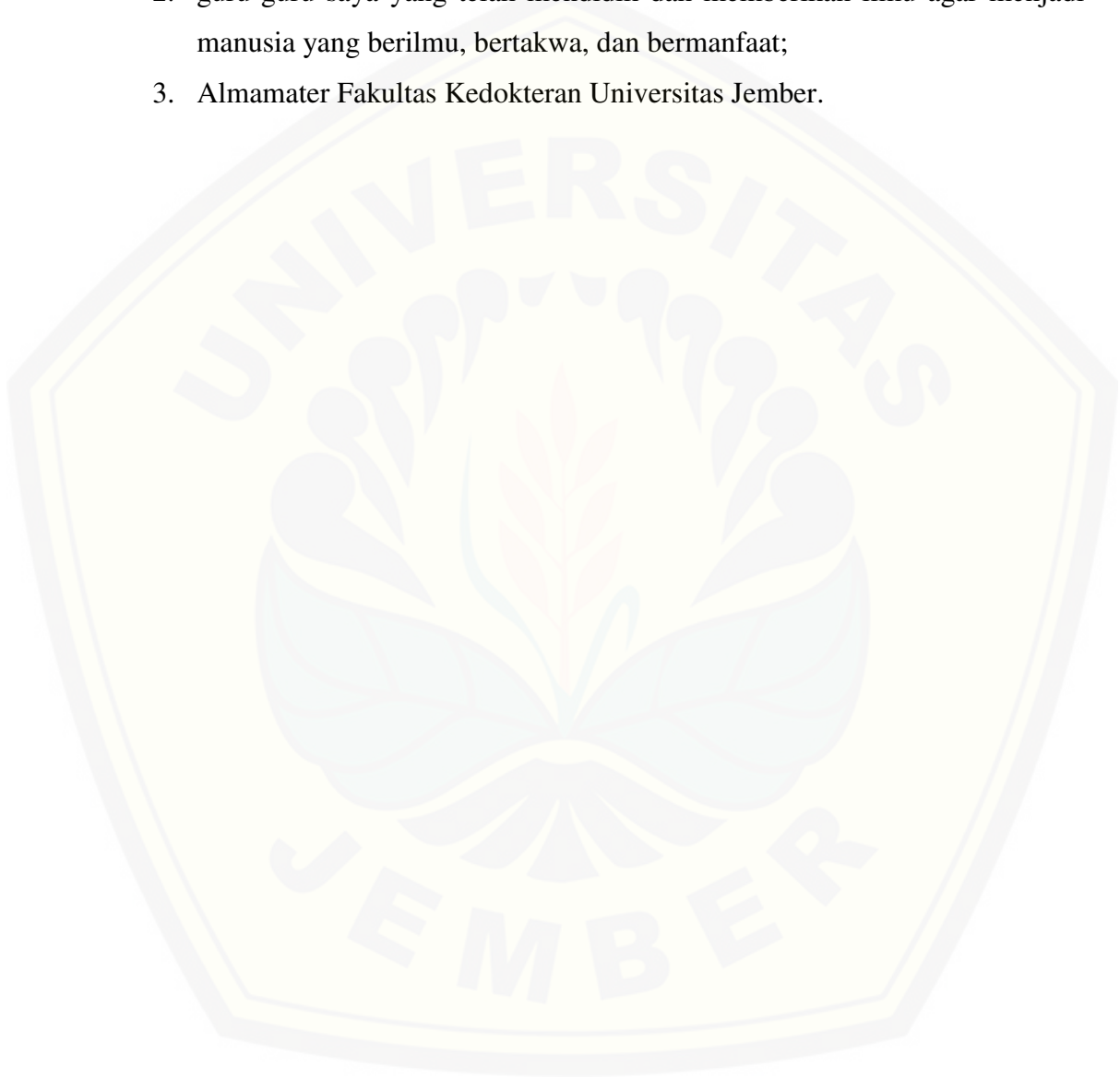
**Asyifa Hilda Hapsari
NIM 152010101109**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua saya tercinta, ibu Siti Aisyah dan bapak Achmad Mi'an;
2. guru-guru saya yang telah mendidik dan memberikan ilmu agar menjadi manusia yang berilmu, bertakwa, dan bermanfaat;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



MOTO

Apa gunanya ilmu kalau tidak memperluas jiwa seseorang sehingga ia berlaku seperti samudera yang menampung sampah-sampah? Apa gunanya kepandaian kalau tidak memperbesar kepribadian manusia sehingga ia makin sanggup memahami orang lain? *)



*) Emha Ainun Nadjib. 2017. *Ilmu Apa Gunanya*. <http://www.caknun.com/2017/ilmu-apa-gunanya/> (Diakses pada 24 Januari 2019).

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Asyifa Hilda Hapsari

NIM : 152010101109

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Efek Ekstrak Bawang Bombay (*Allium cepa* L.) terhadap Neovaskularisasi Kornea pada Kelinci Model Ulkus Kornea *Staphylococcus aureus*" 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, 30 Januari 2019

Yang Menyatakan,

Asyifa Hilda Hapsari

NIM. 152010101109

SKRIPSI

**EFEK EKSTRAK BAWANG BOMBAY (*Allium cepa* L.)
TERHADAP NEOVASKULARISASI KORNEA PADA KELINCI
MODEL ULKUS KORNEA *Staphylococcus aureus***

Oleh

Asyifa Hilda Hapsari

NIM 152010101109

Pembimbing

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Efek Ekstrak Bawang Bombay (*Allium cepa* L.) terhadap Neovaskularisasi Kornea pada Kelinci Model Ulkus Kornea *Staphylococcus aureus*" karya Asyifa Hilda Hapsari telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 31 Januari 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

dr. Edy Junaedi, M.Sc., Sp.M
NIP 197508012003121003

dr. Muhammad Hasan, M.Kes., Sp.OT
NIP 196904111999031001

Anggota II,

Anggota III,

dr. Cicih Komariah, Sp.M
NIP 197409282005012001

dr. Kristianningrum Dian S., M. Biomed.
NIP 198609062012122001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA
NIP 1973042419990310002

RINGKASAN

Efek Ekstrak Bawang Bombay (*Allium cepa* L.) terhadap Neovaskularisasi Kornea pada Kelinci Model Ulkus Kornea *Staphylococcus aureus*; Asyifa Hilda Hapsari, 152010101109; 2018; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Ulkus kornea adalah kondisi patologis dari kornea yang ditandai dengan adanya infiltrasi supuratif dan diskontinuitas jaringan kornea mulai dari epitel ke stroma. Infeksi merupakan penyebab tersering ulkus kornea, baik karena bakteri, fungi, virus ataupun *Achantamoeba*. Adapun bakteri yang sering ditemui dalam ulkus kornea antara lain *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococci*. Berbagai studi menunjukkan bahwa *S. aureus* berkembang menjadi resisten terhadap antibiotik sehingga infeksi yang diakibatkan oleh bakteri ini menjadi sulit untuk ditangani. Apabila ulkus kornea tidak ditangani dengan baik maka akan berkembang menjadi jaringan parut dan dijumpai adanya neovaskularisasi yang dapat menyebabkan kebutaan parsial atau total. Ketika terdapat inflamasi pada kornea, makrofag akan membersihkan debris dan melakukan apoptosis sel. Selain itu, makrofag juga mengekspresikan mediator angiogenesis, yaitu VEGF-A, VEGF-C, dan VEGF-D apabila inflamasi berlangsung lama. Saat ini pengobatan tanaman herbal mulai berkembang. Salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan ialah tanaman bawang (*Allium sp.*). Bawang terkenal sebagai tanaman obat karena kaya akan flavonoid, yaitu flavonol quercetin. Bawang bombay (*Allium cepa* L.) memiliki kandungan quercetin yang paling banyak dibandingkan jenis bawang lainnya yaitu sebesar 54-286 mg/kg. Sebuah studi mengatakan bahwa quercetin dapat menghambat *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dalam menginduksi angiogenesis choroidal dan retina secara invitro (Li *et al.*, 2015). Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui pengaruh ekstrak bawang bombay (*Allium cepa* L.) terhadap neovaskularisasi kornea kelinci model ulkus kornea *Staphylococcus aureus*.

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *true experimental* jenis *post-test only control group*. Terdapat 30 sampel penelitian yang dibagi menjadi dua

kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan. Populasi pada penelitian ini adalah seluruh kelinci jantan. Kriteria inklusi meliputi kelinci jantan yang sehat (telinga tegak, mata tidak mengeluarkan sekret, bulu bersih), umur 3-6 bulan, dan memiliki berat 1-2 kg. Kriteria eksklusi ialah kelinci yang mati yang selama penelitian. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak bawang bombay. Variabel terikat pada penelitian ini adalah luas area neovaskularisasi kornea kelinci.

Ulkus kornea pada kelinci dibuat dengan cara diberikan 4 goresan menggunakan jarum steril 27 gauge kemudian diberikan injeksi 0,05 ml bakteri *Staphylococcus aureus* ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) secara intrastroma menggunakan spuit tuberkulin ukuran 30 gauge. Penilaian ulkus kornea pada kelinci dilakukan 2 hari paska injeksi menggunakan uji fluorescein. Kelinci yang telah mengalami ulkus kornea ditunjukkan dengan munculnya warna hijau ketika uji fluorescein. Setelah ulkus kornea terbentuk, kelinci diberikan terapi sesuai kelompok perlakuan selama 7 hari. Kemudian, dilakukan pengukuran luas area neovaskularisasi kornea pada kelinci.

Data yang didapat berupa luas area neovaskularisasi kornea dengan satuan mm^2 . Hasil pengukuran rata-rata luas area neovaskularisasi kornea didapatkan 39,179; 0,231; 21,629; 2,961; 47,263; dan 30,040. Hasil pengukuran rata-rata luas area neovaskularisasi kornea dianalisis dengan uji *One Way Anova* dan dilanjutkan uji *Post Hoc* dengan tes LSD (*Least Significant Difference*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bawang bombay (*Allium cepa* L.) memiliki pengaruh terhadap luas area neovaskularisasi kornea pada kelinci model ulkus kornea *Staphylococcus aureus* dan didapatkan konsentrasi ekstrak bawang bombay yang efektif terdapat pada ekstrak bawang bombay 3%.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Ekstrak Bawang Bombay (*Allium cepa* L.) terhadap Neovaskularisasi Kornea pada Kelinci Model Ulkus Kornea *Staphylococcus aureus*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas selama masa perkuliahan;
2. dr. Cicih Komariah, Sp.M selaku Dosen Pembimbing Utama, dan dr. Kristianningrum Dian Sofiana, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. dr. Edy Junaedi, M.Sc., Sp.M dan dr. Muhammad Hasan, M.Kes., Sp.OT sebagai dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran demi kebaikan skripsi ini;
4. Seluruh dosen pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
5. Kedua orang tua, Bapak Achmad Mi'an dan Ibu Siti Aisyah atas doa, nasehat, semangat, dukungan, kasih sayang yang tak terhingga yang telah diberikan kepada penulis;
6. Keluarga besar, Taufiqirrahman, Siscayani, Afrizal Sofi, dan Haidar Ananta Kusuma yang selalu memberi dukungan, semangat, dan canda tawa kepada penulis.
7. Keluarga besar H. Djuhri yang selalu memberikan dukungan moril dan materiil selama penulis kuliah di Universitas Jember.

8. Fatkhiya Kurniawati, Asti Widya Oktavia Kurnialloh, Adisty Norandari, dan Prilia Widiyana Putri yang selalu bersedia mendengar keluh kesah dan memberikan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini;
9. Kawan penelitian Allium cepa, Rana Salsabila dan Sixma Rizky Kurnia Putri yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini dalam suka dan duka;
10. Teman-teman Coccyx yang telah menemani, membantu, memberi dukungan dan semangat dalam masa perkuliahan;
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukannya.

Jember, Januari 2019

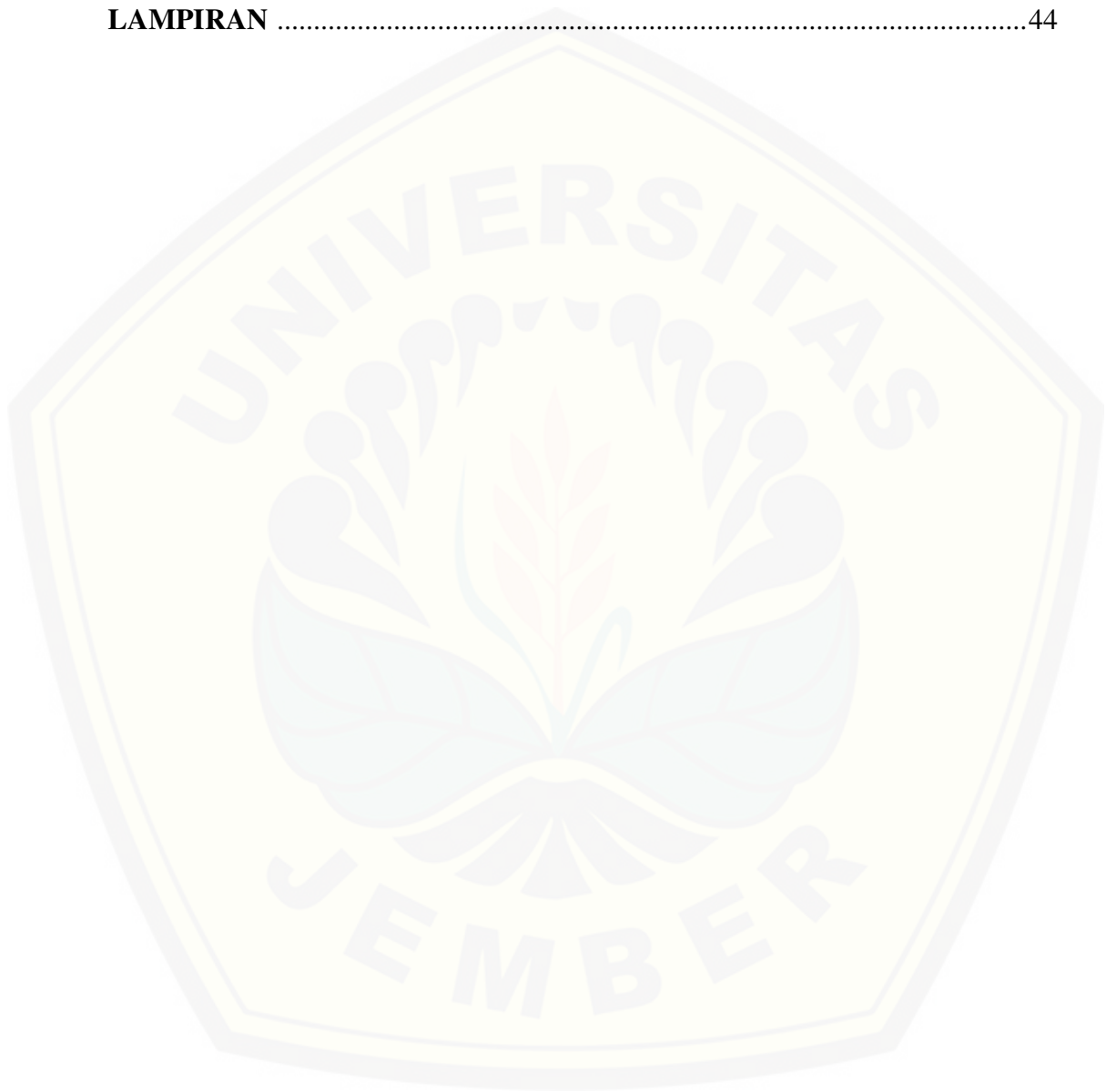
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
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 Kornea	4
2.1.1 Anatomi Kornea	4
2.1.2 Histologi Kornea	4
2.2 Ulkus Kornea Bakteri	6
2.2.1 Definisi	6
2.2.2 Insidensi	6
2.2.3 Etiologi	7
2.2.4 Faktor Risiko	7
2.2.5 Patogenesis	8
2.2.6 Gambaran Klinis	9
2.2.7 Diagnosis	9
2.2.8 Penatalaksanaan	9
2.2.9 Komplikasi	10
2.3 Corneal Wound Healing	10
2.4 Neovaskularisasi Kornea (NV)	12
2.4.1 Definisi	12
2.4.2 Etiologi	12
2.4.3 Patogenesis	12
2.4.4 Gambaran Klinis	14
2.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.5.1 Morfologi dan Karakteristik <i>S. aureus</i>	14
2.5.2 Mekanisme <i>S. aureus</i> terhadap Patogenesis Ulkus Kornea Bakteri	15
2.6 Moksifloksasin HCl 0,5%	16

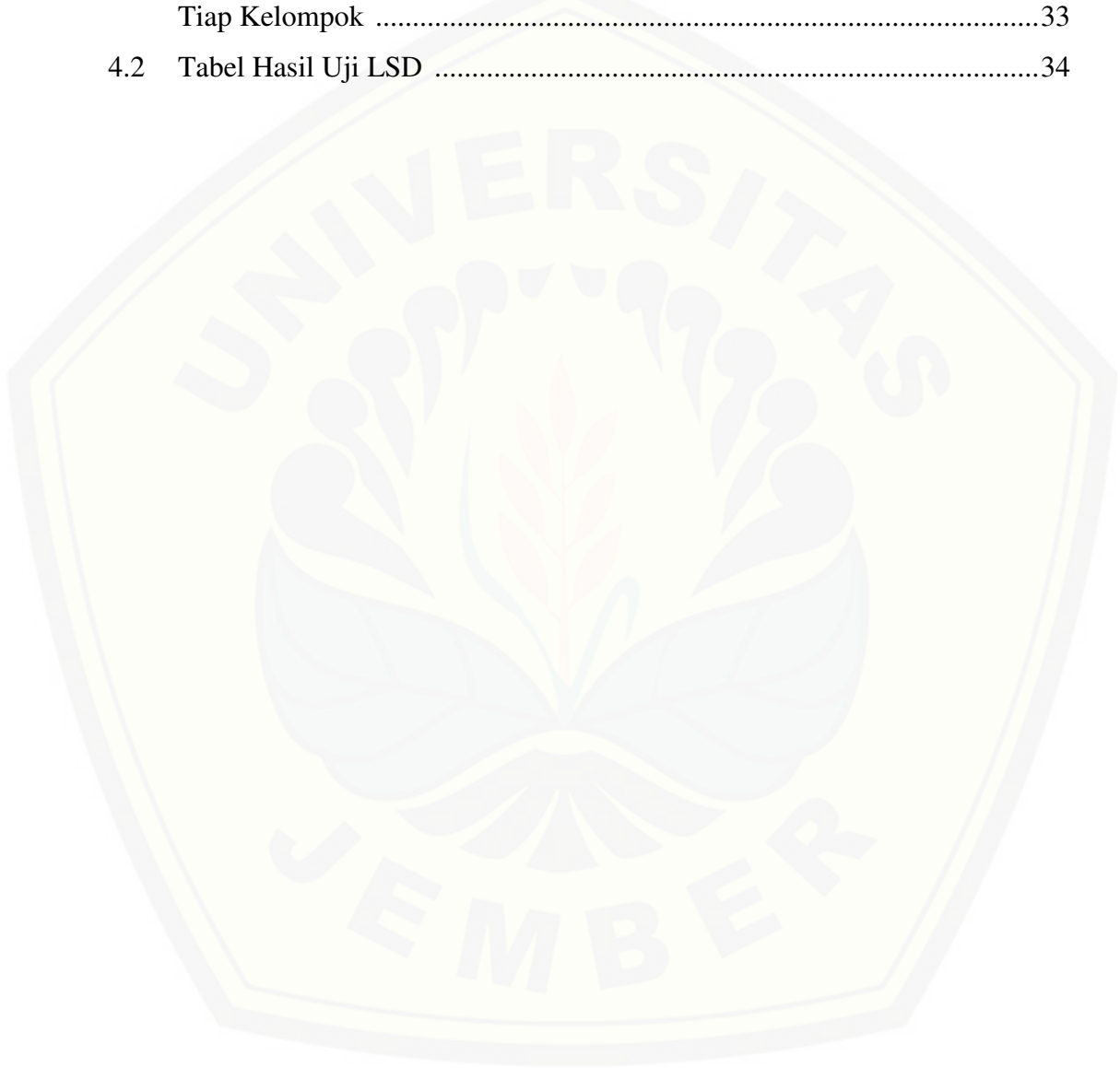
2.6.1 Definisi	16
2.6.2 Mekanisme Kerja	16
2.6.3 Farmakokinetik	17
2.6.4 Indikasi dan Kontraindikasi	17
2.7 Bawang Bombay (<i>Allium cepa</i> L.)	17
2.7.1 Taksonomi	17
2.7.2 Kandungan Kimia	18
2.7.3 Manfaat	18
2.8 Mekanisme Quercetin Menghambat Neovaskularisasi	20
2.9 Kerangka Konsep	20
2.10 Hipotesis	21
BAB 3. METODE PENELITIAN	22
3.1 Rancangan Penelitian	22
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.3 Populasi dan Sampel	23
3.3.1 Populasi	23
3.3.2 Sampel	23
3.3.3 Besar Sampel	23
3.3.3 Teknik Pengambilan Sampel	25
3.4 Variabel Penelitian	25
3.4.1 Variabel Bebas	25
3.4.2 Variabel Terikat	25
3.4.3 Variabel Terkendali	25
3.5 Definisi Operasional	25
3.5.1 Ulkus Kornea	25
3.5.2 Ekstrak Bawang Bombay	26
3.5.3 Luas Area Neovaskularisasi	26
3.6 Alat dan Bahan	27
3.6.1 Alat	27
3.6.2 Bahan	27
3.7 Prosedur Penelitian	28
3.7.1 Uji Kelayakan Etik	28
3.7.2 Aklimatisasi dan Pemeliharaan Hewan Coba	28
3.7.3 Pemilihan Hewan Coba	28
3.7.4 Kultur Bakteri	29
3.7.5 Persiapan Inokulum Bakteri	29
3.7.6 Anestesi Hewan Coba	29
3.7.7 Pembuatan Ulkus Kornea pada Kelinci	29
3.7.8 Pembuatan Ekstrak Bawang Bombay	30
3.7.9 Pemberian Antibiotik	31
3.7.10 Pemberian Ekstrak Bawang Bombay	31
3.7.11 Pengukuran Luas Area Neovaskularisasi Kornea	31
3.7.12 Terminasi Hewan Coba	31
3.8 Analisis Data	31
3.9 Alur Penelitian	32
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	33

4.1 Hasil Penelitian	33
4.2 Analisis Data	33
4.3 Pembahasan	34
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	44



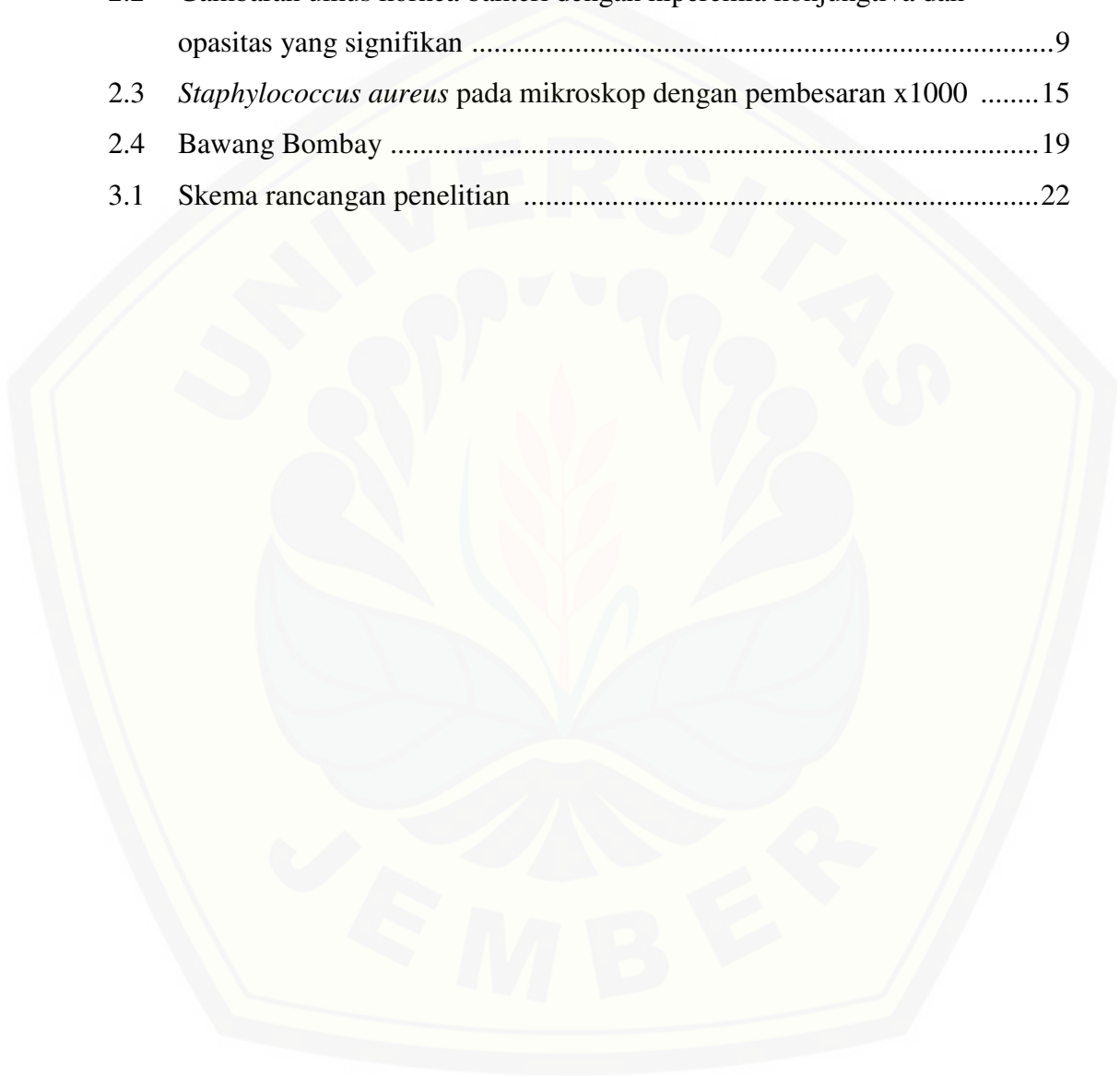
DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Pembagian kelompok perlakuan	28
4.1 Rata-rata Luas Area Neovaskularisasi Kornea pada Kelinci Tiap Kelompok	33
4.2 Tabel Hasil Uji LSD	34



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur Kornea	5
2.2 Gambaran ulkus kornea bakteri dengan hiperemia konjungtiva dan opasitas yang signifikan	9
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i> pada mikroskop dengan pembesaran x1000	15
2.4 Bawang Bombay	19
3.1 Skema rancangan penelitian	22



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ulkus kornea merupakan salah satu penyebab gangguan penglihatan dan kebutaan di dunia. WHO memperkirakan terdapat 1,5 juta hingga 2 juta kasus baru kebutaan unilateral setiap tahunnya akibat dari ulkus kornea dan trauma okular. Di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta mulai Januari 2008 hingga Desember 2011 ditemukan 220 kasus ulkus kornea karena bakteri dari 656 kasus baru ulkus kornea dan faktor risiko yang paling sering adalah trauma okuler (45,8%) dan bakteri kokus gram positif (65,7%) (Asroruddin *et al.*, 2015).

Ulkus kornea adalah kondisi patologis dari kornea yang ditandai dengan adanya infiltrasi supuratif dan diskontinuitas jaringan kornea mulai dari epitel ke stroma (Putri, *et al.*, 2015). Ulkus kornea dapat disebabkan berbagai penyebab, baik infeksi maupun non infeksi. Infeksi merupakan penyebab tersering ulkus kornea, baik karena bakteri, fungi, virus ataupun *Achantamoeba*. Sedangkan penyebab ulkus kornea non infeksi berkaitan dengan penyakit autoimun (Deschênes, 2017). Adapun bakteri yang sering ditemui dalam ulkus kornea antara lain *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococci* (Bowling, 2016).

Staphylococcus aureus adalah bakteri kokus gram positif dan bersifat komensal di hidung, kulit, dan konjungtiva. Bakteri ini dapat dengan segera menginfeksi kornea pada pasien yang rentan, seperti paska trauma atau operasi mata, penggunaan lensa kontak, terinfeksi virus atau penyakit mata lainnya yang dapat meningkatkan resiko terinfeksi *S. aureus* (Lakhundi *et al.*, 2017).

Penanganan yang cepat dan tepat diperlukan untuk mencegah ulkus yang meluas, yaitu dengan cara eradikasi penyebab ulkus kornea dan juga mencegah kerusakan jaringan akibat enzim dan toksin yang dikeluarkan oleh bakteri. Eradikasi bakteri dapat dilakukan dengan pemberian antibiotik spektrum luas secara topikal, seperti monoterapi antibiotik golongan fluoroquinolon atau kombinasi antibiotik apabila monoterapi tidak efektif mengatasi infeksi (Gokhale, 2008;

Lakhundi *et al.*, 2017). Berbagai studi menunjukkan bahwa *S. aureus* berkembang menjadi resisten terhadap antibiotik sehingga infeksi yang diakibatkan oleh bakteri ini menjadi sulit untuk ditangani (Lakhundi *et al.*, 2017; Chang *et al.*, 2015). Apabila tidak tertangani dengan baik maka ulkus kornea akan berkembang menjadi jaringan parut dan dijumpai adanya neovaskularisasi yang dapat menyebabkan kebutaan parsial atau total (Bukowiecki *et al.*, 2017).

Ketika terdapat inflamasi pada kornea, makrofag akan membersihkan debris dan melakukan apoptosis sel. Selain itu, makrofag juga mengekspresikan mediator angiogenesis, yaitu VEGF-A, VEGF-C, dan VEGF-D apabila inflamasi berlangsung lama (Bukowiecki *et al.*, 2017).

Saat ini pengobatan tanaman herbal mulai berkembang. Salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan ialah tanaman bawang (*Allium sp.*). Bawang terkenal sebagai tanaman obat karena kaya akan flavonoid, yaitu flavonol quercetin. Sebuah studi mengatakan bahwa quercetin memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi, antikanker, antialergi, antioksidan, dan kardioprotektif (Santas *et al.*, 2010). Selain itu, quercetin juga dapat menghambat *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dalam menginduksi angiogenesis choroidal dan retina secara invitro (Li *et al.*, 2015).

Bawang bombay (*Allium cepa* L.) dipilih karena memiliki kandungan quercetin yang lebih banyak dibandingkan bawang putih (*Allium sativum*) yaitu sebesar 54-286 mg/kg (Rodrigues *et al.*, 2017). Sedangkan, bawang putih (*Allium sativum*) memiliki kandungan quercetin sebesar 1,7 mg/kg (Lim, 2015). Sejauh ini juga belum ada penelitian tentang peranan ekstrak bawang Bombay terhadap neovaskularisasi pada ulkus kornea. Oleh sebab itu, peneliti tertarik melakukan penelitian mengenai efek ekstrak bawang bombay terhadap neovaskularisasi kornea pada kelinci model ulkus kornea karena bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam proposal penelitian ini yaitu apakah pengaruh ekstrak bawang bombay (*Allium cepa* L.)

terhadap neovaskularisasi kornea kelinci model ulkus kornea *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh ekstrak bawang bombay (*Allium cepa* L.) terhadap neovaskularisasi kornea kelinci model ulkus kornea *Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui luas area neovaskularisasi kornea kelinci model ulkus kornea *Staphylococcus aureus* yang diterapi dengan ekstrak bawang bombay.
- b. Mengetahui dosis yang tepat dari ekstrak bawang bombay sebagai terapi ulkus kornea *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Keilmuan

Dapat dijadikan landasan teori dan sebagai dasar pengembangan penelitian selanjutnya khususnya dalam bidang oftalmologi.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

- a. Dapat dijadikan bahan pertimbangan tenaga medis dalam memberikan terapi kepada ulkus kornea *Staphylococcus aureus*.
- b. Memberikan alternatif pengobatan yang aman dan murah untuk menangani ulkus kornea *Staphylococcus aureus*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kornea

2.1.1 Anatomi Kornea

Kornea merupakan jaringan avaskular dan transparan yang menyusun permukaan anterior bola mata dengan diameter horizontal 11-12 mm dan diameter vertikal 9-11 mm. Kornea memiliki bentuk cembung dan asferik, dengan ukuran kelengkungan anterior sekitar 7,8 mm dan kelengkungan posterior 6,5 mm. Ketebalan kornea sentral pada mata normal sekitar 551-565 μm , sedangkan ketebalan kornea perifer sekitar 612-640 μm . Semakin ke arah perifer ketebalan kornea semakin tebal. Hal ini disebabkan oleh adanya peningkatan jumlah kolagen di stroma bagian perifer. Seiring bertambahnya usia, ketebalan kornea akan mengalami penurunan (Sridhar, 2018).

Meskipun kornea bersifat avaskular, kornea tetap mendapatkan nutrisinya dari ujung cabang arteri fasialis dan arteri ophtalmikus yang disalurkan secara difusi melalui aqueous humor dan lapisan air mata, serta kapiler-kapiler di pinggirnya (Delmonte & Kim, 2011; Snell, 2012).

Kornea diinervasi oleh banyak saraf, terutama saraf sensoris (Ilyas dan Yulianti, 2013). Inervasi kornea berasal dari nervi ciliares longi dari divisi ophthalmica nervus trigeminus (Snell, 2012). Selain itu, kornea juga memiliki serabut saraf otonom simpatik (DelMonte & Kim, 2011).

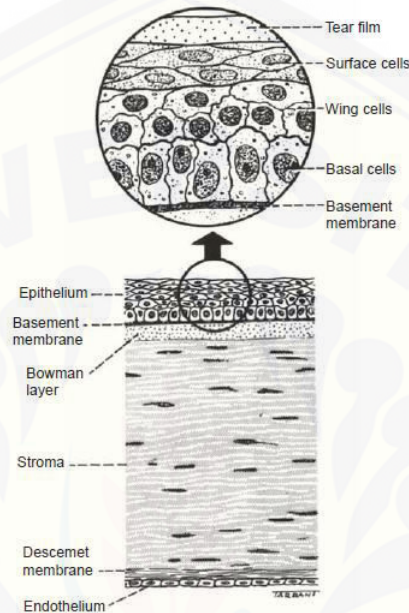
2.1.2 Histologi Kornea

Secara histologi, kornea terdiri dari lima lapisan yakni epitel, membran bowman, stroma, membran descement, dan endotel. Struktur dari kornea dapat dilihat pada Gambar 2.1.

a. Epitel

Epitel kornea terdiri dari 5-7 lapis epitel tidak bertanduk yang saling tumpang tindih dengan ketebalan sekitar 50 μm dan tersusun atas 3 jenis sel yaitu sel gepeng, sel sayap, dan sel basal. Epitel kornea memiliki usia rata-rata 7-10 hari yang kemudian secara teratur akan mengalami involusi, apoptosis, dan

deskuamasi. Pada sel basal terjadi aktivitas mitosis sel, dan sel muda yang dihasilkan terdorong ke depan menjadi sel sayap dan semakin maju ke depan menjadi sel gepeng (Ilyas & Yulianti, 2013; Sridhar, 2018). Reperasi lapisan epitel dilakukan oleh *limbal epithelial stem cell* yang terletak di lapisan epitel basal limbus (Notara *et al.*, 2018).



Gambar 2.1 Struktur kornea (Sumber: Bowling, 2016)

b. Membran Bowman

Membran Bowman merupakan lapisan aseluler yang terletak di bawah membran basal epitel kornea yang memiliki ketebalan 12 μm . Lapisan ini dibentuk oleh kolagen tipe I dan V atau disebut juga dengan proteoglikan. Lapisan ini tidak memiliki daya regenerasi sehingga akan digantikan oleh jaringan parut bila terjadi trauma (Ilyas & Yulianti, 2013; Sridhar, 2018).

c. Stroma

Stroma mengisi 90% dari seluruh ketebalan kornea yang tersusun atas keratosit dan matriks ekstraseluler (kolagen dan glikosaminoglikan). Keratosit adalah sel utama pada stroma yang berfungsi menjaga homeostasis dari stroma dengan cara mensintesis kolagen dan glikosaminoglikan untuk membentuk matriks ekstraseluler (Sridhar, 2018).

d. Membran Descemet

Membran descement merupakan membran aselular yang terdiri dari kolagen tipe IV dan laminin. Membran ini dihasilkan oleh sel endotel dan memiliki sifat yang sangat elastik dan akan berkembang seumur hidup (Ilyas & Yulianti, 2013; Sridhar, 2018).

e. Endotel

Endotel tersusun satu lapis dengan ketebalan 5 μm . Sel-selnya berbentuk heksagonal (Sridhar, 2018). Jumlah sel endotel menurun seiring bertambahnya usia, trauma, inflamasi, dan penyakit lainnya. Tetapi sel endotel memiliki kemampuan untuk meregang sehingga dapat mengambil alih ruang dari sel endotel yang telah degenerasi. Akibat dari proses ini, ukuran sel endotel menjadi sangat besar dan kehilangan bentuk heksagonalnya (DelMonte & Kim, 2011).

2.2 Ulkus Kornea Bakteri

2.2.1 Definisi

Ulkus kornea adalah kondisi patologis dari kornea yang ditandai dengan adanya infiltrasi supuratif dan diskontinuitas jaringan kornea mulai dari epitel ke stroma (Putri, *et al.*, 2015). Ulkus kornea dapat disebabkan berbagai penyebab, baik infeksi maupun non infeksi. Infeksi merupakan penyebab tersering ulkus kornea, baik karena bakteri, fungi, virus ataupun *Achantamoeba*. Sedangkan penyebab ulkus kornea non infeksi berkaitan dengan penyakit autoimun (Deschênes, 2017). Adapun bakteri yang sering ditemui dalam ulkus kornea antara lain *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococci* (Bowling, 2016).

2.2.2 Insidensi

Di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta mulai Januari 2008 hingga Desember 2011 ditemukan 220 kasus ulkus kornea bakteri dari 656 kasus baru ulkus kornea dan faktor risiko yang paling sering adalah trauma okuler (45,8%) dan bakteri kokus gram positif (65,7%) (Asroruddin *et al.*, 2015).

2.2.3 Etiologi

Adapun bakteri yang sering ditemui dalam ulkus kornea antara lain *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococci* (Bowling, 2016).

- a. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri basil gram negatif yang bersifat komensal pada saluran pencernaan. Bakteri ini menginfeksi sangat agresif dan bertanggung jawab atas 60% keratitis yang berkaitan dengan penggunaan lensa kontak.
- b. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri kokus gram positif dan bersifat komensal pada hidung, kulit, dan konjungtiva. Keratitis yang dihasilkan oleh bakteri ini memiliki bentuk fokal dengan batas tegas dengan infiltrat berwarna putih atau kuning.
- c. *Streptococci*: *S. pyogenes* merupakan bakteri gram positif yang bersifat komensal pada tenggorokan dan vagina. *S. pneumoniae* merupakan bakteri gram positif yang bersifat komensal pada saluran pernapasan atas. Infeksi akibat streptococci sering bersifat agresif.

2.2.4 Faktor Risiko

Faktor risiko dari ulkus kornea bakteri, antara lain (Bowling, 2016; Jogi, 2009):

- a. Kerusakan epitel akibat trauma, misalnya penggunaan lensa kontak, arah bulu mata yang terbalik (trikiasis)
- b. Penyakit mata bagian permukaan, seperti keratitis herpetik, keratopati bulosa, mata kering, blefaritis kronis, trikiasis dan entropion, proptosis, alergi berat, dan anestesi kornea.
- c. Faktor lain: Imunosupresi lokal atau sistemik, diabetes, defisiensi vitamin A (Xerosis dan Keratomalasia).

2.2.5 Patogenesis

Bakteri dapat menyebabkan ulkus kornea dengan beberapa tahapan, yaitu:

- a. Adhesi Bakteri ke Epitel Kornea

Bakteri yang dapat menempel pada defek epitel kornea memiliki kemampuan untuk menginvasi stroma kornea meskipun *host* memiliki sistem imun yang adekuat. Bakteri yang memiliki kemampuan tersebut ialah *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*. Proses adhesi bakteri ke defek epitel dibantu oleh fibril-fibril pada bakteri gram positif ataupun fimbria dan glikokaliks pada bakteri gram negatif. Selama proses infeksi bakteri ke kornea, terjadi aktivasi plasminogen menjadi plasmin yang aktif melakukan aktivitas proteolitik. Protease, chymase dan tryptase menyebabkan mikrolesi pada epitel dan penundaan proses penyembuhan (Al-Mujaini, 2009).

b. Invasi Bakteri ke Stroma

Setelah proses adhesi pada epitel, bakteri melakukan invasi ke stroma yang difasilitasi oleh protease, suatu eksotoksin yang dapat mendegradasi membran basalis dan matriks ekstraseluler. Kemudian infeksi berkembang pesat hingga terjadi *corneal melt* yang disebabkan oleh aktivitas dari protease bakteri, aktivasi metaloprotease dan stimulasi respon imun berupa pelepasan *reactive oxygen intermediates* dan protease dari *host*, sehingga kerusakan bertambah parah (Lakhundi *et al.*, 2017).

c. Stroma Nekrosis dan Produksi *Ring Infiltrate*

Selama multiplikasi, bakteri secara kontinyu mengeluarkan eksotoksin dan protease yang dapat bertahan di kornea dalam jangka waktu yang lama sehingga secara berangsur-angsur stroma mengalami kerusakan dan dapat menyebabkan gangguan penglihatan (Lakhundi *et al.*, 2017). Lipopolisakarida yang merupakan endotoksin dalam dinding sel bakteri gram negatif juga dilepaskan ketika bakteri ini mati sehingga terbentuk *ring infiltrate* yang terdiri dari leukosit polimorfonuklear yang ditarik melalui *C-pathway* dan kemotoksin yang diaktivasi oleh properdin. *Ring infiltrate* ini diyakini merupakan presipitat antigen-antibodi dan juga terlihat pada infeksi virus, jamur, dan *Achantamoeba* (Al-Mujaini, 2009).

2.2.6 Gambaran Klinis

Gejala ulkus kornea berupa hiperemia konjungtiva, nyeri, sensasi seperti adanya benda asing, peka terhadap cahaya (fotofobia), penurunan fungsi penglihatan, keluarnya sekret mukopurulen, dan hiperlaktimasi. Pada kasus ulkus yang lama dapat muncul adanya neovaskularisasi yang berasal dari limbus. Ulkus dapat meluas ke seluruh permukaan kornea, berpenetrasi ke dalam, atau keduanya. Hipopion juga dapat muncul (Roat, 2018; Borke, 2018). Gambaran ulkus kornea dapat dilihat pada Gambar 2.2 di bawah ini.



Gambar 2.2 Gambaran ulkus kornea bakteri dengan hiperemia konjungtiva dan opasitas yang signifikan (Sumber: Roat, 2018)

2.2.7 Diagnosis

Penegakan diagnosis dari ulkus kornea berupa ditemukan tes fluoresin positif di sekitar ulkus dan dari pemeriksaan menggunakan *slit lamp* ditemukan adanya defek pada kornea. Semua jenis ulkus kecuali ulkus kecil harus dilakukan kultur untuk mengetahui penyebab ulkus. Kultur dilakukan dengan metode *corneal scraping* menggunakan pisau nomor 15, spatula platinum steril atau *jeweler forceps* (Roat 2018; AAO, 2018).

2.2.8 Penatalaksanaan

Penanganan ulkus kornea dimulai dari terapi empiris dengan antibiotik berspektrum luas setelah dilakukan kultur bakteri. Untuk ulkus yang kecil (<2 mm) dapat diberikan tetes mata moksifloksasin 0,5% atau gatifloksasin 0,3-0,5%, sedangkan untuk ulkus yang lebih luas (>2 mm) atau lokasinya sekitar kornea bagian tengah dapat diberikan antibiotik topikal, seperti tobaromisin 15 mg/ml dan cefazolin 50 mg/ml. Dosis yang diberikan sebanyak 1 tetes setiap 5 menit

selama 30 menit. Kemudian dilanjutkan dengan 1 tetes setiap jam selama 48 jam (AAO, 2012; Roat, 2018).

Siklopegik seperti atropine 0,1% atau skopolamin 0,25% diberikan sebanyak 3×1 tetes/hari untuk mengurangi nyeri dari ulkus kornea dan mengurangi pembentukan sinekia posterior (Roat, 2018).

Pemberian steroid dalam bentuk tetes mata masih pro kontra karena steroid dapat memperparah infeksi apabila diberikan ketika infeksi belum teratasi. Oleh sebab itu, steroid dapat diberikan setelah infeksi mulai berkurang atau bahkan telah hilang. Tujuannya ialah mengurangi pembengkakan, jaringan parut, neovaskularisasi, dan *stromal melt*. Pemberian steroid dapat dimulai 48 jam setelah pemberian antibiotik (AAO, 2017; Austin *et al.*, 2017).

Ketika infeksi telah hilang dan ulkus telah sembuh dengan pemberian obat-obatan, terkadang masih dapat ditemukan adanya skar. Oleh sebab itu, untuk memperbaiki fungsi penglihatan dapat dilakukan transplantasi kornea. Transplantasi kornea juga diperlukan pada pasien dengan ulkus kornea yang tidak dapat diatasi dengan obat-obatan (AAO, 2017).

2.2.9 Komplikasi

Komplikasi dari ulkus kornea, antara lain (Ilyas & Yulianti, 2013):

- a. Infeksi di bagian kornea yang lebih dalam (Endophtalmitis, Panophtalmitis)
- b. Perforasi kornea (pembentukan lubang), Descemetocoele.

2.3 Corneal Wound Healing

Kornea berperan penting dalam aktivitas refraksi mata. Kekuatan refraksi yang dimiliki kornea sekitar 40-44 dioptri dan menyumbang 70% dari total refraksi (Sridhar, 2018). Oleh sebab itu, menjaga integritas dari kornea merupakan hal penting untuk proses penglihatan. Trauma fisik atau kimia, dan infeksi parah pada kornea mata dapat mengakibatkan kekeruhan kornea dan kehilangan fungsi penglihatan (Bukowiecki *et al.*, 2017).

Proses penyembuhan kornea memiliki hasil yang beragam, bergantung pada struktur yang terkena. Sel epitel, stroma, dan endotel memiliki respon yang berbeda dalam upaya pengembalian integritas kornea (Bukowiecki *et al.*, 2017).

a. *Epithelial Healing*

Sebagai lapisan terluar, epitel rentan terhadap adanya cedera sehingga perlu diperbaiki secara cepat untuk mencegah infeksi pada lapisan yang dalam. Untuk defek epitel yang kecil dapat ditutupi kembali dalam waktu 24 jam. Kerusakan pada epitel mengakibatkan gangguan perlekatan pada membran basalis. Selanjutnya, sel-sel dari tepi luka segera bermigrasi dan menyebar untuk menutup luka tersebut. Migrasi sel-sel ini juga difasilitasi oleh matriks ekstraseluler. Fase penutupan luka nonmitotik ini memiliki laju rata-rata 60-80 mm/jam.. Selama proses penutupan luka sel basal melakukan proliferasi dan diferensiasi untuk mengembalikan lapisan sel epitel (Bukowiecki *et al.*, 2017; DelMonte & Kim, 2011).

b. *Stromal Healing*

Respon pertama dari cedera di stroma ialah apoptosis sel keratosit di lokasi cedera. Kemudian sel keratosit lainnya berdiferensiasi menjadi sel fibroblas. Dengan mediasi dari *Tumor Growth Factor* (TGF β), *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), sel fibroblas bermigrasi ke lokasi cedera. Adanya TGF β dan PDGF juga memicu diferensiasi sel fibroblas menjadi sel myofibroblas. Kedua sel ini berperan dalam menutup atau memperbaiki cedera pada stroma. Aktivasi myofibroblas yang berkepanjangan dapat mengakibatkan timbulnya opasitas pada kornea yang dapat mengganggu fungsi penglihatan (Bukowiecki *et al.*, 2017).

c. Respon Endotel terhadap Cedera

Pada lapisan endotel kornea tidak terdapat aktivitas mitosis sehingga apabila ada cedera pada endotel maka sel-sel endotel akan mengalami pembesaran dan dengan segera menyebar ke lokasi cedera. Proses perbaikan endotel ini melalui 3 tahapan yang terjadi selama beberapa minggu. Tahap pertama ditandai dengan penutupan daerah yang cedera dengan cara migrasi sel-sel endotel yang berdekatan, kemudian membentuk *barrier* sementara yang inkomplit dengan

penurunan *pump sites* dan *tight junction* yang inkomplit. Kemudian pada tahap kedua, *barrier*, jumlah dan kualitas *pump sites* kembali normal, sel-sel endotel menjadi berbentuk polygon tidak teratur, ketebalan kornea kembali normal, dan transparansi pulih kembali. Pada tahap terakhir terjadi *remodeling* sel-sel endotel menjadi bentuk heksagonal. Endotel memiliki respons terbatas terhadap stres. Stres ringan dapat menyebabkan perubahan ukuran dan bentuk sel, sedangkan stres yang lebih besar dapat mengakibatkan hilangnya sel serta perubahan sitoskeleton endotel yang irreversibel. Sumber stres dapat berupa metabolik (dari hipoksia atau hiperglikemia) atau toksin (dari obat-obatan atau pengawetnya) atau disebabkan oleh perubahan pH atau osmolaritas (DelMonte & Kim, 2011).

2.4 Neovaskularisasi Kornea (NV)

2.4.1 Definisi

Neovaskularisasi kornea adalah adanya invasi pembuluh darah baru dari limbus ke dalam kornea (Chiang & Hemmati, 2013).

2.4.2 Etiologi

Neovaskularisasi kornea merupakan respon nonspesifik terhadap berbagai tanda klinis. Penyakit yang berhubungan dengan NV meliputi *corneal graft rejection*, gangguan inflamasi, trauma kimia, hipoksia terkait pemakaian lensa kontak, keratitis infeksi, defisiensi *limbal stem cell*, dan penyakit kongenital (Feizi, 2017). Neovaskularisasi terjadi akibat adanya ketidakseimbangan antara faktor angiogenik dan antiangiogenik yang menjaga transparansi dari kornea (Chiang & Hemmati, 2013).

2.4.3 Patogenesis

Kornea yang avaskular atau disebut juga dengan *corneal angiogenic privilege*, merupakan hasil dari proses keseimbangan faktor proangiogenik dan faktor antiangiogenik. Faktor angiogenik terdiri dari *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *platelet-derived growth*

factors (PDGFs), *matrix metalloproteinase* (MMP), dan interleukin-1 (IL-1). Faktor antiangiogenik terdiri dari analog endostatin (endostatin, neostatin, arresten, canstatin, dan tumstatin), *plasminogen/serine protease inhibitors* (angiostatin dan *pigment epithelium-derived factor* [PEGF]), dan *soluble VEGF receptors* (sVEGFR). Neovaskularisasi dapat terjadi apabila terdapat ketidakseimbangan antara faktor proangiogenik dan antiangiogenik, misalnya faktor angiogenik yang meningkat atau defisiensi dari faktor antiangiogenik (Feizi, 2017).

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) terdiri dari berbagai macam antara lain: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, dan *placental growth factor* (PlGF). VEGF-A disekresikan oleh berbagai macam sel meliputi makrofag, sel T, fibroblas, sel perisit, sel astrosit, *retinal pigment epithelial cells*, dan kornea (epitel, keratosit, dan endothelium). VEGF-A merupakan regulator utama dalam angiogenesis, sedangkan VEGF-C dan VEGF-D adalah regulator utama limfangiogenesis. VEGF-A berikatan dengan reseptornya untuk menghasilkan efek. Reseptor VEGF-A berupa reseptor tirosin kinase (VEGFR-1 dan VEGFR-2). VEGFR-2 merupakan reseptor utama yang memicu proliferasi dan migrasi dari sel endotel vaskular (Voiculescu *et al.*, 2015; Feizi *et al.*, 2017).

Ketika terjadi inflamasi, sel epitel dan endotel kornea, makrofag, dan sel-sel inflamasi memproduksi VEGF dan *fibroblast growth factors*. Kemudian VEGF meningkatkan produksi MMP yang dilakukan oleh sel-sel endotel di pleksus limbus dan menstimulasi angiogenesis dengan cara berikatan dengan VEGFR-2 di sel endotel vaskular terdekat, yaitu kapiler dan venula plexus perikorneal di area limbus. Inflamasi juga menginduksi migrasi sel Langerhans ke dalam kornea. Hal ini menyebabkan tambahan produksi sitokin angiogenik dan sel-sel imun kornea. Di bawah kondisi hipoksia, VEGF diregulasi oleh sel-sel epitel kornea untuk meningkatkan pasokan oksigen ke kornea. Aktivitas angiogenesis yang dilakukan VEGF-A melalui beberapa tahapan, yaitu dimulai dari aktivitas proteolitik, proliferasi sel endotel vaskular, migrasi dan pembentukan lumen kapiler. Sel-sel endotel mendegradasi membran basalnya dan juga matriks ekstraseluler agar dapat bermigrasi menjauh dari pembuluh

darah induknya (Chang *et al.*, 2001; Ellenberg *et al.*, 2010; Chiang & Hemmati, 2013).

2.4.4 Gambaran Klinis

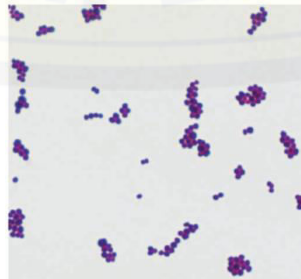
Neovaskularisasi kornea memiliki tiga pola klinis berdasarkan kedalamannya, yaitu (Feizi, 2017):

- a. Vaskularisasi superfisial, akibat penyakit okuler superfisial.
- b. Vaskularisasi hingga stromal, akibat dari trauma alkali atau keratitis stroma.
- c. Vascularisasi hingga membran descemet yang dapat dikaitkan dengan keratitis interstitial atau keratitis HSV, atau setelah melakukan *deep anterior lamellar keratoplasty*.

2.5 *Staphylococcus aureus*

2.5.1 Morfologi dan Karakteristik *S. aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif dengan bentuk kokus, berdiameter 1 μm , tersusun berkelompok seperti anggur yang tidak teratur, dapat dilihat pada Gambar 2.3 (Brooks *et al.*, 2013). Koloni bakteri ini berwarna kuning atau keemasan (*aureus* = emas). *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh secara anaerob maupun aerob, disebut fakultatif pada kisaran suhu 18°C – 40°C. Tes biokimia untuk mengidentifikasi *S. aureus* meliputi tes katalase positif (pada semua *Staphylococcus sp.*), tes koagulase positif (untuk membedakan *S. aureus* dengan *Staphylococcus* lainnya), sensitif terhadap novobiosin (untuk membedakan dari *S. saprophyticus*), dan tes manitol positif (untuk membedakan dari *S. epidermidis*) (Taylor & Unakal, 2017).



Gambar 2.3 *Staphylococcus aureus* pada mikroskop dengan pembesaran x1000
(Sumber: Brooks *et al.*, 2013)

Staphylococcus aureus dapat ditemukan di lingkungan sekitar dan juga ditemukan sebagai flora normal manusia yang terletak di kulit dan membran mukosa. *S. aureus* biasanya tidak menyebabkan infeksi pada kulit yang sehat. Namun, jika dibiarkan memasuki aliran darah atau jaringan internal, bakteri ini dapat menyebabkan berbagai infeksi yang berpotensi serius. Transmisi dari bakteri ini biasanya secara kontak langsung (Taylor & Unakal, 2017).

2.5.2 Mekanisme *S. aureus* terhadap Patogenesis Ulkus Kornea Bakteri

Staphylococcus aureus adalah bakteri kokus gram positif dan juga flora normal di hidung, kulit, dan konjungtiva. Bakteri ini dapat dengan segera menginfeksi kornea pada pasien yang rentan, seperti paska trauma atau operasi mata, penggunaan lensa kontak, terinfeksi virus atau penyakit mata lainnya yang dapat meningkatkan resiko terinfeksi *S. aureus* (Lakhundi *et al.*, 2017). Pada kornea yang sehat bakteri ini sulit untuk menginfeksi kornea karena pada *tear film* terdapat sIgA, IgG dan IgM. Ig A dapat mengenali adanya adhesi dari bakteri sehingga dapat mencegah adhesi bakteri pada epitel kornea ataupun epitel konjungtiva. Selain itu, terdapat pula enzim fosfolipase A2 yang dapat mematikan *S. aureus* dan merupakan pertahanan utama terhadap *S. aureus* (O'Callaghan, 2018).

Mekanisme secara pasti *S. aureus* dapat menyebabkan keratitis sepenuhnya belum diketahui. Perlekatan *S. aureus* pada epitel kornea difasilitasi oleh *fibronectin-binding protein* (FnBP). FnBP merupakan ligan pada permukaan sel kornea manusia dan memegang peranan penting dalam interaksi *host-parasite* yang dapat memicu ulkus keratitis *S. aureus* (Lakhundi *et al.*, 2017). Selain itu, adhesi *S. aureus* pada epitel kornea juga difasilitasi oleh *collagen-binding protein* (Cna) pada permukaan bakteri (Lakhundi *et al.*, 2017; Marquart & O'Callaghan, 2013).

Setelah adhesi pada epitel kornea, bakteri melakukan invasi ke stroma kornea. Faktor virulensi *S. aureus* dapat menyebabkan ulkus kornea yaitu toksin yang dikeluarkan oleh bakteri yang berupa toksin α dan toksin γ . Kedua toksin ini dapat mendestruksi jaringan kornea. Toksin γ terdiri dari ikatan S dan ikatan F.

Ikatan F dapat berikatan dengan ikatan S pada toksin lain. Kombinasi dari ikatan S dan F ini memiliki toksisitasnya masing-masing, tetapi mereka homolog dengan toksin γ sehingga kemungkinan toksin ini dapat mendestruksi kornea. Selain itu, virulensi dari *S. aureus* juga dipengaruhi oleh adanya gen *setnm-1* pada kromosom bakteri yang dapat menyebabkan aktivitas protease (Lakhundi *et al.*, 2017; Marquart & O'Callaghan, 2013).

2.6 Moksifloksasin HCl 0,5%

2.6.1 Definisi

Moksifloksasin HCl 0,5% adalah sediaan tetes mata dari antibiotik moksifloksasin yang merupakan fluorokuinolon generasi keempat. Komposisi dari sediaan tetes mata ini terdiri dari 5 mg/ml moksifloksasin, asam borat, air murni, dan ditambahkan asam klorida (HCl) untuk membuat pH menjadi 6,8 (Miller, 2008).

2.6.2 Mekanisme Kerja

Moksifloksasin sebagai antibiotik bekerja dengan cara menghambat pembentukan DNA bakteri, yaitu dengan menghambat topoisomerase II (DNA girase) dan topoisomerasi IV. DNA girase yang dihambat menyebabkan proses transkripsi dan replikasi tidak terjadi. Sedangkan hambatan pada topoisomerasi IV menyebabkan gagalnya pemisahan replika DNA kromosom sewaktu pembelahan sel (Miller, 2008; Katzung *et al.*, 2012).

Moksifloksasin merupakan salah satu fluorokuinolon yang mengalami peningkatan aktivitas bakteri gram positif, terutama *Streptococcus pneumonia* dan beberapa *Staphylococcus* (Katzung *et al.*, 2012).

2.6.3 Farmakokinetik

Pada pasien sehat yang mendapat tetes mata bilateral Moksifloksasin HCl 0,5% sebanyak 3 kali 1 tetes sehari, kadar puncak dalam plasma (C_{max}) sebesar 2,7 ng/mL dan nilai *Area Under Cover* (AUC) sebesar 45 ng.jam/mL, nilai ini 1600 dan 1000 kali lebih rendah dari pada rata-rata C_{max} dan AUC yang

dilaporkan pada penggunaan 400 mg moksifloksasin. Waktu paruh moksifloksasin dalam plasma sekitar 13 jam (FDA, 2011).

2.6.4 Indikasi dan Kontraindikasi

Moksifloksasin HCl 0,5% diindikasikan pada pasien dengan konjungtivitis bakteri, keratitis bakteri, dan profilaksis pada operasi katarak ataupun operasi refraktif (Miller, 2008).

Moksifloksasin HCl 0,5% dikontraindikasikan pada pasien dengan riwayat hipersensitivitas terhadap moksifloksasin, quinolon jenis lain, atau salah satu bahan dari komposisi obat ini (FDA, 2011).

2.7 Bawang Bombay

2.7.1 Taksonomi

Global Biodiversity Information Facility (2017) menyebutkan taksonomi dari Bawang Bombay sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Asparagales
Famili	: Amaryllidaceae
Genus	: <i>Allium</i> L.
Spesies	: <i>Allium cepa</i> L.

2.7.2 Kandungan Kimia

Bawang Bombay mengandung sekitar 90% air yang kaya akan serat dan gula. Gambar Bawang Bombay dapat dilihat pada Gambar 2.4. Vitamin dan mineral yang terkandung di dalamnya ialah rendah natrium dan kaya akan vitamin B6, asam folat, kalsium magnesium, fosfor, dan kalium (Suleria *et al.*, 2015). Bawang Bombay juga merupakan sumber flavonoid. Dua subgrup dari flavonoid ditemukan dalam bawang ini, yaitu antosianin dan flavonol. Flavonol utama dalam Bawang Bombay meliputi quercetin, kaempferol, dan isorhamnetin (Pareek *et al.*, 2018). Quercetin yang terkandung dalam bawang bombay berupa quercetin

4'-glukosida dan quercetin 3,4'-diglukosida yang berjumlah 80-95% dari total flavonol yang ada dalam bawang bombay atau sekitar 54-286 mg/kg. Sedangkan konsentrasi antosianin sekitar 10% dari total flavonol yang ada dalam bawang bombay (Rodrigues *et al.*, 2017).



Gambar 2.4 Bawang Bombay (Sumber: Lim, 2015)

2.7.3 Manfaat

Bawang Bombay selain untuk bumbu masakan, juga dapat sebagai tanaman obat, antara lain sebagai antiinflamasi, antikanker, antialergi, antibakteri, antioksidan, antihipertensi, antitrombotik, dan antidiabetik (Santas *et al.*, 2010; Pareek *et al.*, 2017).

a) Antiinflamasi

Siklooksigenase dan lipooksigenase merupakan mediator penting dalam proses inflamasi. Quercetin bertindak sebagai antiinflamator dengan cara menghambat aktivitas dari kedua mediator ini (Agrawal, 2011).

b) Antikanker

Flavonoid memiliki berbagai mekanisme dalam pencegahan kanker, antara lain menghambat siklus sel, menghambat enzim tirosin kinase regulasi pada protein p53, menghambat *heat shock protein*, dan memblok protein *Ras*. Quercetin telah diteliti sebagai antikanker dengan cara menghambat enzim tirosin kinase (Pareek *et al.*, 2017).

c) Antialergi

Quercetin dalam Bawang Bombay dapat menghambat produksi dan pelepasan histamin dan substansi alergi lainnya dengan cara menstabilkan membran dari sel mast (Mlcek, 2018).

d) Antibakteri

Flavonoid dalam bawang bombay bertindak sebagai antibakteri dengan cara menghambat pembentukan enzim-enzim dari bakteri, adhesin, protein transpor, dan sebagainya. Penelitian sebelumnya oleh Permata *et al.* (2016) menunjukkan bahwa ekstrak bawang bombay dapat menghambat pertumbuhan dari *Staphylococcus aureus*.

e) Antioksidan

Flavonoid telah dikenal sebagai antioksidan. Flavonol dalam bawang bombay melindungi sel dan jaringan terhadap *reactive oxygen species* (ROS). Radikal bebas dihasilkan oleh ROS yang kemudian dapat merusak sel (Pareek *et al.*, 2017).

f) Antihipertensi

Quercetin dan isorhamnetin yang ditemukan dalam bawang bombay dapat menurunkan tekanan darah dan mencegah enzim angiotensin-II yang memicu disfungsi endotel (Pareek *et al.*, 2017).

g) Antitrombotik

Aktivitas antitrombotik dari ekstrak bawang bombay dilakukan dengan cara menghambat tromboksan yang memicu agregasi trombosis. Aktivitas ini dilakukan oleh organosulfur yang terkandung dalam bawang bombay (Pareek *et al.*, 2017).

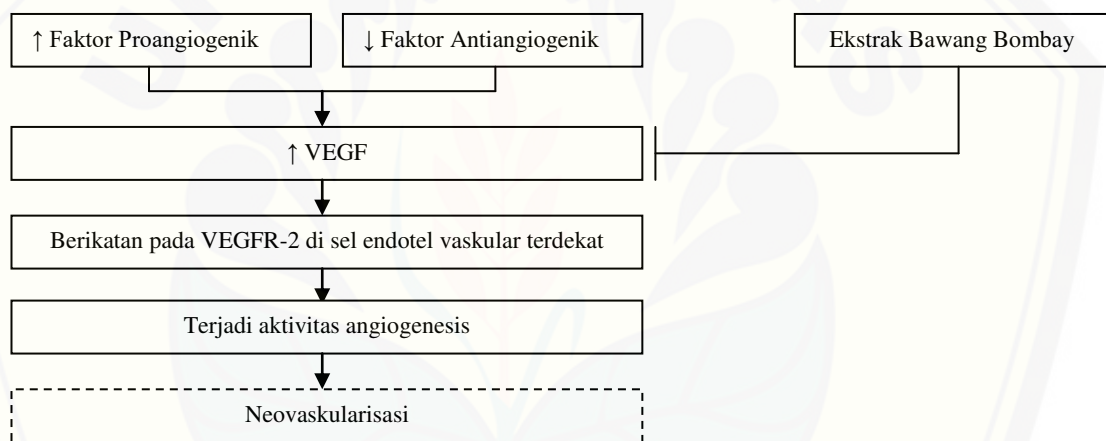
h) Antidiabetik

Flavonoid dapat meningkatkan produksi insulin yang dilakukan oleh sel pankreas. Quercetin mempercepat produksi insulin dan meningkatkan *uptake* Ca^{2+} pada sel pankreas. Kandungan lainnya dari Allium, seperti methiin dan *S-allyl cysteine sulfoxide* (SACS) memberikan efek antidiabetik dengan cara merangsang produksi dan sekresi insulin oleh pankreas, turut serta dalam proses penyerapan glukosa, dan penyimpanan insulin (Pareek *et al.*, 2017).

2.8 Mekanisme Quercetin Menghambat Neovaskularisasi

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Zhao *et al.* (2014) mengenai efek antiangiogenik quercetin terhadap embrio zebrafish dan *human umbilical vein endothelial cells* (HUVECs) didapatkan bahwa efek antiangiogenik dari quercetin berkaitan dengan ekspresi dan aktivitas dari matriks metalloproteinase-2, inhibisi pada sekresi VEGF dan ekspresi reseptor VEGF. Penelitian terbaru yang telah dilakukan Li *et al.* (2015) didapatkan bahwa quercetin dapat menghambat aktivitas angiogenesis koroid dan retina melalui hambatan pada aktivitas VEGF yang berupa aktivitas proliferasi, migrasi dan pembentukan *tube*.

2.9 Kerangka Konsep



Keterangan :

⋯ = yang diteliti

□ = yang tidak diteliti

→ = mempengaruhi

⊥ = menghambat

Neovaskularisasi dapat terjadi apabila terdapat ketidakseimbangan antara faktor proangiogenik dan antiangiogenik, misalnya faktor angiogenik yang meningkat atau defisiensi dari faktor antiangiogenik. Kondisi ulkus kornea mengakibatkan peningkatan faktor angiogenik. Ketidakseimbangan ini menyebabkan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang merupakan

mediator angiogenesis meningkat. Kemudian VEGF berikatan dengan reseptornya VEGFR-2 yang berada pada sel endotel terdekat, yaitu pembuluh darah di limbus. Aktivitas angiogenesis yang dilakukan VEGF melalui beberapa tahapan, yaitu dimulai dari aktivitas proteolitik, proliferasi sel endotel vaskular, migrasi dan pembentukan lumen kapiler. Sel-sel endotel mendegradasi membran basalnya dan juga matriks ekstraseluler agar dapat bermigrasi menjauh dari pembuluh darah induknya. Ekstrak bawang bombay dapat menghambat pembentukan neovaskularisasi dengan cara menghambat aktivitas-aktivitas yang dilakukan oleh VEGF selama proses angiogenesis.

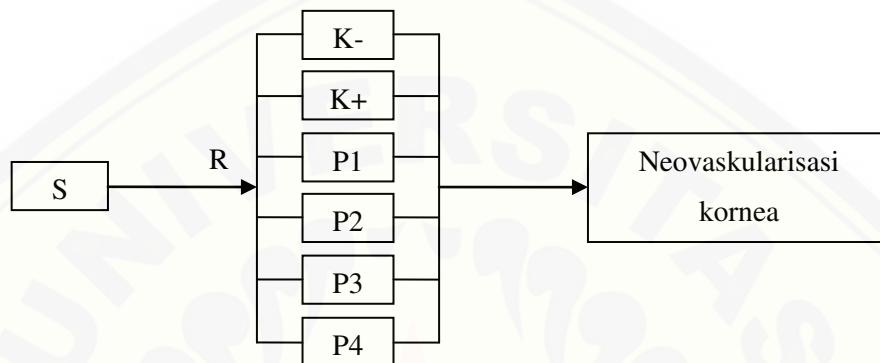
2.10 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini ialah terdapat penurunan luas area neovaskularisasi pada kelinci model ulkus kornea yang diterapi menggunakan ekstrak bawang bombay.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan desain penelitian *true experimental* jenis *post-test only control group*. Skema rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

- S : Sampel
- R : Randomisasi
- K- : Kelompok kontrol negatif kelinci model ulkus kornea dengan pemberian terapi DMSO 0,1% sebanyak 6×1 tetes/hari
- K+ : Kelompok kontrol positif kelinci model ulkus kornea dengan terapi Moksifloksasin HCl 0,5% (5 mg/ml) dengan dengan dosis 6×1 tetes/hari
- P1 : Kelompok perlakuan kelinci model ulkus kornea dengan terapi ekstrak Bawang Bombay 1,5% dengan dosis 6×1 tetes/hari
- P2 : Kelompok perlakuan kelinci model ulkus kornea dengan terapi ekstrak Bawang Bombay 3% dengan dosis 6×1 tetes/hari
- P3 : Kelompok perlakuan kelinci model ulkus kornea dengan terapi ekstrak Bawang Bombay 6% dengan dosis 6×1 tetes/hari
- P4 : Kelompok perlakuan kelinci model ulkus kornea dengan terapi ekstrak Bawang Bombay 12% dengan dosis 6×1 tetes/hari

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2018 – Januari 2019 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan, pemberian perlakuan, dan pengukuran luas neovaskularisasi kornea pada kelinci, dan

Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak bawang Bombay.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah kelinci jantan yang diperoleh dari peternakan hewan di Jember.

3.3.2 Sampel

Sampel pada penelitian ini diseleksi menurut kriteria inklusi dan eksklusi agar didapatkan sampel yang homogen. Kriteria inklusi sampel penelitian sebagai berikut.

- a. Kelinci jantan
- b. Sehat (telinga tegak, mata tidak mengeluarkan sekret, bulu bersih)
- c. Umur 3-6 bulan
- d. Berat 1-2 kg

Sedangkan kriteria eksklusi sampel penelitian ini adalah kelinci yang mati saat penelitian.

3.3.3 Besar Sampel

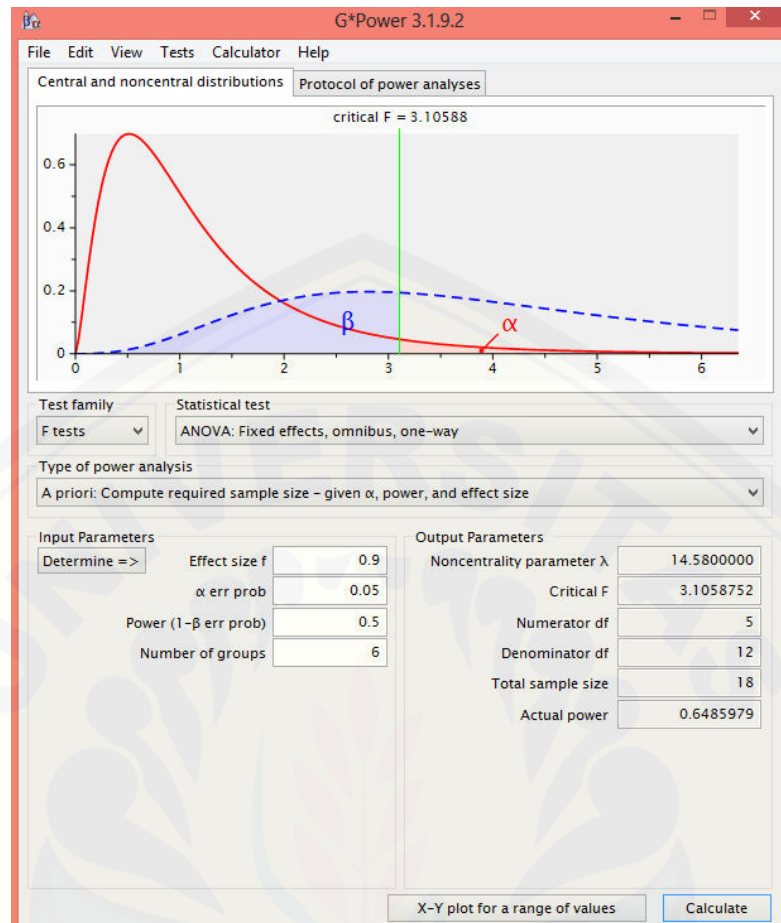
Perhitungan jumlah sampel menggunakan metode *research equation* (Charan & Kantharina) dengan rumus:

$$\begin{aligned} E &= \text{Jumlah hewan} - \text{Jumlah Kelompok} \\ 10 &= \text{Jumlah hewan} - 6 \\ \text{Jumlah Hewan} &= 16 \end{aligned}$$

Keterangan:

E : derajat kebebasan ANOVA (10-20)

Sehingga jumlah sampel minimal sebesar 18 kelinci yang tiap kelompoknya terdiri dari 3 kelinci. Secara statistik, jumlah sampel ini memiliki *effect size* 0,9 dengan alfa = 0,05 dan *power of analysis* 0,5. Hasil perhitungan besar sampel menggunakan program G power terlampir pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Penghitungan besar sampel dengan program G power

Untuk mengantisipasi hilangnya unit eksperimen maka dilakukan koreksi dengan:

$$N = n/(1-f)$$

Keterangan:

N = Besar sampel koreksi

n = Besar sampel awal

f = Perkiraan proporsi drop out sebesar 40%

Sehingga,

$$N = n/(1-f)$$

$$N = 3/ (1-40\%)$$

$$N = 3/ (1-0,4)$$

$$N = 3/0,6$$

$$N = 5$$

Menurut perhitungan tersebut, sampel yang digunakan tiap kelompok adalah 5 ekor. Oleh sebab itu, sebanyak 2 ekor kelinci ditambahkan pada tiap kelompok sebagai cadangan. Sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu 18 sampel ditambah 2 ekor kelinci cadangan tiap kelompok.

3.3.4 Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik *random allocation*.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu ekstrak Bawang Bombay (*Allium cepa* L.) dengan konsentrasi 1,5%, 3%, 6%, dan 12%.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu luas area neovaskularisasi yang terbentuk setelah pemberian ekstrak bawang Bombay.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini meliputi:

- 1) Jenis kelamin
- 2) Usia kelinci
- 3) Berat badan kelinci
- 4) Pemeliharaan kelinci
- 5) Perlakuan pembentukan ulkus kornea
- 6) Lama pemberian terapi

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Ulkus Kornea

Ulkus kornea pada kelinci dibuat dengan cara injeksi 0,05 ml bakteri *Staphylococcus aureus* ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) secara intrastroma menggunakan

sprit tuberkulin ukuran 30 gauge, kemudian diberikan 4 goresan menggunakan jarum steril 27 gauge (Aldebasi *et al.*, 2012; Tang *et al.*, 2012). Penilaian ulkus kornea pada kelinci dilakukan 2 hari paska injeksi. Penilaian ini menggunakan uji fluoresein dengan cara:

- 1) Mata yang akan diperiksa ditetesi dengan 0,5% pantocain sebanyak 1 tetes
- 2) Ditambahkan dengan zat warna fluoresein 1 tetes.
- 3) Aquabides atau *normal saline* ditetaskan ke mata yang akan diperiksa sampai air mata tidak berwarna.
- 4) Kornea diamati memakai *cobalt blue light* untuk menilai adanya warna hijau yang muncul yang mengindikasikan adanya defek pada kornea (Budhiastra *et al.*, 2017)

Kelinci yang telah mengalami ulkus kornea ditunjukkan dengan munculnya warna hijau ketika uji fluoresein.

3.5.2 Ekstrak Bawang Bombay

Pembuatan ekstrak Bawang Bombay dilakukan dengan metode *ultrasonic bath* dan dilaksanakan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Ekstrak ini diberikan dengan konsentrasi 1,5%, 3%, 6%, dan 12% sebanyak 6x1 tetes/hari selama 7 hari. Pemberian mulai diberikan setelah 2 hari paska pembuatan ulkus kornea. Penentuan konsentrasi ekstrak ditentukan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Permata *et al.* (2016) mengenai konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak bawang bombay terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan didapatkan konsentrasi efektif sebesar 1,56%. Skala data yang dihasilkan dari ekstrak bawang bombay merupakan data rasio.

3.5.3 Luas Area Neovaskularisasi

Luas area neovaskularisasi pada kornea mata kelinci dihitung dengan cara mengambil gambar mata kelinci menggunakan kamera kemudian dianalisis menggunakan *Image J Software*. Area yang terdapat pembuluh darah pada kornea ditandai dengan diberi garis sebagai batas menggunakan mouse komputer

kemudian dikalkulasi menggunakan aplikasi *Image J* (Kasiri *et al.*, 2017). Data yang didapat dinyatakan dalam satuan mm^2 . Skala data yang dihasilkan merupakan data rasio.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain:

- a. Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus*: kawat ose steril, inkubator, *beaker glass*, autoklaf, vortex, bunsen, korek, dan tabung reaksi.
- b. Pembuatan Ekstrak Bawang Bombay: *rotary evaporator*, oven, blender, *beaker glass*, timbangan, kertas saring, corong, pengaduk, botol ekstrak bawang bombay
- c. Adaptasi dan pemeliharaan kelinci: Kandang kelinci, tempat makan dan minum kelinci, label Kelinci
- d. Pembuatan ulkus kornea: spuit insulin 1 cc 30 gauge, spuit 27 gauge, spuit 23 gauge, oftalmoskop(*cobalt blue light*), loop.
- e. Pengukuran luas area neovaskularisasi kornea: penggaris, kamera, laptop.

3.6.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

- a. Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus* : Media *tryptic soy agar*, larutan NaCl 0,9%, larutan BaCl_2 1%, larutan H_2SO_4 1%, bakteri *Staphylococcus aureus*.
- b. Pembuatan Ekstrak Bawang Bombay : Bawang bombay, etanol 96%, DMSO, akuades.
- c. Perlakuan pada Kelinci : ketamin, xylazin, moksifloksasin HCl 0,5%, ekstrak bawang bombay, zat fluoresein, akuades, pantocain 0,5%.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Uji Kelayakan Etik

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

3.7.2 Aklimatisasi dan Pemeliharaan Hewan Coba

Aklimatisasi kelinci dilakukan selama 1 minggu untuk mengadaptasikan hewan coba dengan lingkungannya yang baru. Pada tahap ini dilakukan pengamatan terhadap keadaan umum hewan coba, meliputi berat badan dan keadaan fisiknya. Pemeliharaan kelinci dilakukan dengan cara ditempatkan di kandang dengan ukuran (0,90×0,60×0,45 m). Satu kandang berisi 2 ekor kelinci. Pencahayaan ruang kandang di atur dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap. Suhu kamar dibiarkan secara alamiah. Setiap hari diberi pakan berupa *pellet* dan minum secara *ad libitum* (Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, 2016).

3.7.3 Pemilihan Hewan Coba

Hewan coba dibagi menjadi 6 kelompok secara randomisasi dengan kriteria sehat, berumur 3-6 bulan, dan memiliki berat badan 1-2 kg. Pembagian kelompok perlakuan hewan coba dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Bentuk Perlakuan
Kelompok Kontrol (-)	Kornea kelinci diberi 4 goresan + Injeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> secara intrastroma + DMSO 0,1% 6 × 1 tetes/hari
Kelompok Kontrol (+)	Kornea kelinci diberi 4 goresan + Injeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> secara intrastroma + Moksifloksasin HCl 0,5% (5 mg/ml) dengan dengan dosis 6 × 1 tetes/hari
Kelompok P1	Kornea kelinci diberi 4 goresan + Injeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> secara intrastroma + ekstrak Bawang Bombay 1,5% dengan dosis 6 × 1 tetes/hari
Kelompok P2	Kornea kelinci diberi 4 goresan + Injeksi bakteri

	<i>Staphylococcus aureus</i> secara intrastroma + ekstrak Bawang Bombay 3% dengan dosis 6×1 tetes/hari
Kelompok P3	Kornea kelinci diberi 4 goresan + Injeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> secara intrastroma + ekstrak Bawang Bombay 6% dengan dosis 6×1 tetes/hari
Kelompok P4	Kornea kelinci diberi 4 goresan + Injeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> secara intrastroma + ekstrak Bawang Bombay 12% dengan dosis 6×1 tetes/hari

3.7.4 Kultur Bakteri

Kultur bakteri dilakukan dengan cara diambil 1 ose biakan murni *Staphylococcus aureus* kemudian ditanamkan dengan cara digores pada media *Tryptic soy agar*. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator.

3.7.5 Persiapan Inokulum Bakteri

Bakteri *S. aureus* yang telah tumbuh diambil menggunakan kawat ose steril kemudian disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9% sampai didapatkan kekeruhan yang sama dengan larutan standar 0,5 Mc. Farland. Kekeruhan tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi bakteri dalam suspensi ialah $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Larutan standar 0,5 Mc. Farland dibuat dengan cara mencampurkan 9,95 mL larutan asam sulfat 1% dengan 0,05 mL larutan barium klorida 1,175% (Fatisa, 2013).

3.7.6 Anestesi Hewan Coba

Kelinci dianestesi dengan injeksi subkutan kombinasi dari ketamin 44 mg/kgBB dan xylazin 5 mg/kgBB. Area injeksi subkutan yaitu di antara os. scapula (Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, 2016). Serta diberikan anestesi topikal menggunakan satu tetes pantocain 0,5% (Goktas *et al.*, 2014).

3.7.7 Pembuatan Ulkus Kornea pada Kelinci

Ulkus kornea pada kelinci dibuat dengan cara diberikan 4 goresan menggunakan jarum steril 27 gauge kemudian diberikan injeksi 0,05 ml bakteri *Staphylococcus aureus* ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) secara intrastroma menggunakan

sprit tuberkulin ukuran 30 gauge (Aldebasi *et al.*, 2012; Tang *et al.*, 2012). Penilaian ulkus kornea pada kelinci dilakukan 2 hari paska injeksi. Penilaian ini menggunakan uji fluoresein dengan cara:

- 1) Mata yang akan diperiksa ditetesi dengan 0,5% pantocain sebanyak 1 tetes
- 2) Ditambahkan dengan zat warna fluoresein 1 tetes.
- 3) Aqua bides atau *normal saline* diteteskan ke mata yang akan diperiksa sampai air mata tidak berwarna.
- 4) Kornea diamati memakai *cobalt blue light* untuk menilai adanya warna hijau yang muncul yang mengindikasikan adanya defek pada kornea (Budhiastra *et al.*, 2017)

Kelinci yang telah mengalami ulkus kornea ditunjukkan dengan munculnya warna hijau ketika uji fluoresein.

3.7.8 Pembuatan Ekstrak Bawang Bombay

Pembuatan ekstrak bawang bombay dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember dengan metode *ultrasonic bath* menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 1 kg bawang bombay dikupas dari kulitnya dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih, setelah itu dipotong kecil-kecil dengan ukuran yang sama. Kemudian diangin-anginkan hingga layu lalu dioven dengan suhu 50°C selama 24 jam sampai kering. Setelah ditimbang, bawang bombay dihaluskan dengan cara di blender. Proses ekstraksi dengan *ultrasonic sound* yaitu dengan mencampur serbuk halus bawang bombay dan etanol 96% dengan perbandingan etanol: simplisia yaitu 1:5. Cairan hasil ekstraksi disaring menggunakan alat vakum dan kertas saring sehingga didapatkan filtrat cairan. Kemudian hasil ekstraksi yang diperoleh, diuapkan dari sisa pelarutnya yakni etanol 96% dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* selama 3 jam. Ekstrak murni dari bawang bombay dimasukkan ke dalam oven, kemudian dimasukkan ke dalam botol steril tertutup dan disimpan dalam lemari es.

Ekstrak murni yang telah didapatkan kemudian dilarutkan menggunakan DMSO 0,1 % untuk memperoleh ekstrak bawang bombay dengan konsentrasi

1,5%, 3%, 6 %, dan 12 %. Perhitungan pembuatan konsentrasi ekstrak bawang bombay terdapat pada Lampiran 3.1.

3.7.9 Pemberian Antibiotik

Antibiotik yang digunakan sebagai terapi ulkus kornea dalam penelitian ialah Moxifloxacin HCl 0,5% dengan dosis 6×1 tetes/hari selama 7 hari. Pemberian antibiotik dimulai setelah ulkus kornea terbentuk atau 2 hari paska injeksi bakteri.

3.7.10 Pemberian Ekstrak Bawang Bombay

Ekstrak Bawang Bombay mulai diberikan setelah ulkus kornea terbentuk atau 2 hari paska injeksi bakteri dengan konsentrasi 1,5%, 3%, 6%, dan 12% sebanyak 6×1 tetes/hari selama 7 hari.

3.7.11 Pengukuran Luas Area Neovaskularisasi

Pengukuran luas area neovaskularisasi dilakukan dengan cara mengambil gambar pada bagian kornea yang mengalami neovaskularisasi bersama dengan penggaris berskala milimeter sebagai kalibrasi skala. Kemudian, dianalisis menggunakan aplikasi *Image J*. Bagian yang mengalami neovaskularisasi kornea diberi batas menggunakan garis sehingga dapat dihitung luasnya.

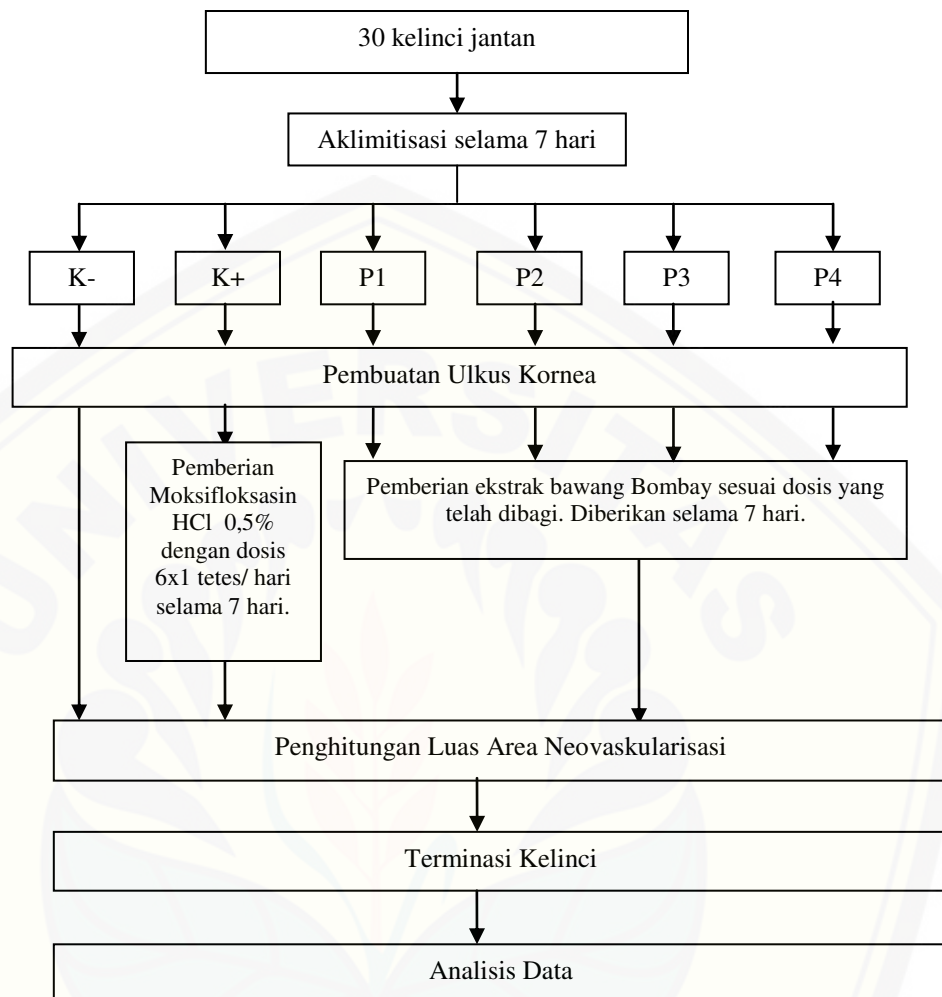
3.7.12 Terminasi Hewan Coba

Setelah penelitian selesai, kelinci diterminasi dengan cara disembelih kemudian dibakar dan dikubur.

3.8 Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan salah satu program komputer. Apabila diperoleh sebaran data normal dan homogen dilakukan uji parametrik dengan uji *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *PostHoc*. Dan apabila diperoleh sebaran data tidak normal dan tidak homogen, maka dilakukan uji Kruskal-Wallis.

3.9 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian sebagai berikut.

1. Pemberian ekstrak bawang bombay (*Allium cepa L.*) sebagai terapi ulkus kornea *Staphylococcus aureus* memiliki pengaruh terhadap luas area neovaskularisasi kornea yang terbentuk pada kelinci.
2. Konsentrasi ekstrak bawang bombay 3% memberikan hasil luas area neovaskularisasi kornea paling kecil diantara konsentrasi ekstrak bawang bombay.

5.2 Saran

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

1. Perlu persiapan peralatan yang memadai dalam pembuatan ulkus kornea dengan metode injeksi intrastroma, seperti mikroskop untuk memperjelas lokasi injeksi mengingat kedalaman injeksi yang diperlukan sekitar 2-3 mm.
2. Perlu adanya pemeliharaan kelinci yang lebih sempurna dengan memperhatikan faktor iklim dan cuaca karena pada cuaca tertentu kelinci mudah mengalami stres dan diare yang dapat menyebabkan kelinci mati.
3. Perlu pemilihan jumlah sampel yang lebih besar agar data yang dihasilkan lebih valid.

DAFTAR PUSTAKA

- AAO. 2012. Confronting Corneal Ulcer. <https://www.aao.org/eyenet/article/confronting-corneal-ulcers> [Diakses pada 14 November 2018].
- AAO. 2017. Corneal Ulcer Treatment. <https://www.aao.org/eye-health/diseases/corneal-ulcer-treatment> [Diakses pada 14 November 2018].
- AAO. 2018. Corneal Ulcer Diagnosis. <https://www.aao.org/eye-health/diseases/corneal-ulcer-diagnosis> [Diakses pada 28 November 2018].
- Agrawal, A. D. 2011. Pharmacological activities of flavonoids: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*. 4(2): 1394-1398.
- Al-Mujaini, A., N. Al-Kharusi, A. Thakral, dan U. K. Wali. 2009. Bacterial keratitis: Perspective on epidemiology, clinic-pathogenesis, diagnosis and treatment. *Sultan Qaboos University Medical Journal*. 9(2): 184-195.
- Aldebasi, Y. H., W. G. Nouh, N. M. A. Atti, M. M. S. Bekhit, M. A. Qureshi, dan S. M. Aly. 2012. Comparative pathological studies on the healing effect of natural (*Terfezia claveryi*) and synthetic (Vigamox) antimicrobials on corneal ulcers in rabbits. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2(6): 66-77.
- Asroruddin, M., R. L. D. Nora, L. Edwar, S. Sjamsoe, dan M. Susiyanti. 2015. Various factors affecting the bacterial corneal ulcer healing: a 4-years study in referral tertiary eye hospital in Indonesia. *Medical Journal of Indonesia*. 24(3): 150-155.
- Austin, A., T. Lietman, dan J. R. Nussbaumer. 2017. Update on management of infectious keratitis. *Ophthalmology*. 124(11): 1678-1689.
- Borke, J. 2018. Corneal Ulcer and Ulcerative Keratitis in Emergency Medicine Clinical Presentation. <https://emedicine.medscape.com/article/798100-clinical> [Diakses pada 3 Desember 2018].
- Bowling, B. 2016. *Kanski's Clinical Ophthalmology A Systematic Approach*. 8th ed. China: Elsevier.

- Brooks, G. F., K. C. Carroll, J. S. Butel, S. A. Morse, dan T. A. Mietzner. 2013. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. 26th ed. The McGraw-Hill Companies Inc.
- Budhiastra, P., A. A. A. S. Djelantik, I. M. A. Kusumadjaja, W. G. Jayanegara, A. A. M. Putrwati, P. Yuliawati, A. T. Handayani, I. W. E. Sutyanawan, A. Andayani, I. G. A. M. Juliari, N. M. A. Surasmiati, N. M. L. Utari, N. M. A. Suryathi, I. G. A. R. Suryaningrum, dan Siska. 2017. *Buku Panduan Belajar Koas Ilmu Kesehatan Mata*. Denpasar: Udayana University Press.
- Bukowiecki, A., D. Hos, C. Cursiefen, dan S. A. Eming. 2017. Wound-healing studies in cornea and skin: Parallels, differences and opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(6): 1257.
- Chang, J. H., E. E. Gabison, T. Kato, dan D. T. Azar. 2001. Corneal neovascularization. *Current Opinion in Ophthalmology*. 12(4): 242-249.
- Charan, J. & N. D. Kantharia. 2013. How to calculate sample size in animal studies?. *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*. 4(4): 303-306.
- Chiang, H. H., dan H. D. Hemmati. 2013. Treatment of Corneal Neovascularization. <https://www.aao.org/eyenet/article/treatment-of-corneal-neovascularization> [Diakses pada 9 November 2018].
- Deschênes, J. 2017. Corneal Ulcer. <https://emedicine.medscape.com/article/1195680-overview> [Diakses pada 28 September 2018].
- DelMonte, D. W. dan T. Kim. 2011. Anatomy and physiology of the cornea. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. 37(3):588–598.
- Ellenberg, D., D. T. Azar, J. A. Hallak, F. Tobaigy, K. Y. Han, S. Jain, Z. Zhou, dan J. H. Chang. 2010. Novel aspects of corneal angiogenic and lymphangiogenic privilege. *Progress in Retinal and Eye Research*. 29(3): 208-248.
- Fatisa, Y. 2013. Daya antibakteri ekstrak kulit dan biji Buah Pulasan (*Nephelium mutabile*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Peternakan*. 10(1): 31-38.
- FDA. 2011. Vigamox. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/021598s0171b1.pdf [Diakses pada 9 November 2018].

- Feizi, S. 2017. Corneal Angiogenesis: Etiologies, Complications, and Management. <https://www.intechopen.com/books/physiologic-and-pathologic-angiogenesis-signaling-mechanisms-and-targeted-therapy/corneal-angiogenesis-etiological-complications-and-management> [Diakses pada 19 November 2018]
- Feizi, S., A. A. Azari, dan S. Safapour. 2017. Therapeutic approaches for corneal neovascularization. *Eye and Vision*. 4: 28.
- GBIF. 2017. *Allium cepa* L. <https://www.gbif.org/species/2857697> [Diakses pada 13 November 2018].
- Gokhale, N. S. 2008. Medical management approach to infectious keratitis. *Indian Journal of Ophthalmology*. 56(3): 215-220.
- Goktas, S., M. G. Kurtoglu, Y. Sakarya, C. Ugurluoglu, M. Ozcimen, R. Sakarya, I. Alpfidan, I. S. Ivacik, E. Erdogan, dan A. Bukus. 2015. New therapy option for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* keratitis: Tigecycline. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. 31(2) 122-127.
- Ilyas, S. dan S. R. Yulianti. 2013. *Ilmu Penyakit Mata*. Edisi 4. Jakarta: Badan Penerbit FKUI.
- Jogi, R. 2009. *Basic Ophthalmology*. 4th ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publisher (P)Ltd.
- Kasiri, A., G. R. Hoshmand, H. Hedayati, S. A. Rasoulinejad, M. Montazeri, dan N. Kasiri. 2017. Inhibition of corneal neovascularization by topically administered propranolol in a rabbit model. *Asian Journal of Pharmaceutics*. 11(2): 421-424.
- Katzung, B. G., S. B. Masters, dan A. J. Trevor. 2012. *Basic & Clinical Pharmacology*. 12th ed. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc. Terjemahan oleh B. U. Pendit. 2013. *Farmakologi Dasar & Klinik*. Jakarta: EGC.
- Lakhundi, S., R. Siddiqui, dan N. A. Khan. 2017. Pathogenesis of microbial keratitis. *Microbial Pathogenesis*. 104: 97-109.
- Li, F., Y. Bai, M. Zhao, L. Huang, S. Li, X. Li, dan Y. Chen. 2015. Quercetin inhibits vascular endothelial growth factor-induced choroidal and retinal angiogenesis in vitro. *Ophthalmic Research*. 53(3): 109-116.
- Lim, T. K. 2015. *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants Volume 9 Modified Stems, Roots, Bulbs*. Dordrecht, Heidelberg, New York, London: Springer.

- Marquart, M. E dan R. J. O'Callaghan. 2013. Infectious keratitis: Secreted bacterial protein that mediates corneal damage. *Journal of Ophthalmology*. 1-9.
- Miller, D. 2008. Review of moxifloxacin hydrochloride ophthalmic solution in the treatment of bacterial eye infections. *Clinical Ophthalmology*. 2(1): 77-91.
- Mlcek, J., T. Jurikova, S. Skrovankova, dan J. Sochor. 2016. Quercetin and its anti-allergic immune response. *Molecules*. 21(5): 623.
- Notara, M., A. Lentzch, M. Coroneo, dan C. Cursiefen. 2018. The role of limbal epithelial stem cells in regulating corneal (lymph) angiogenic privilege and the micromilieu of the Limbal Niche following UV exposure. *Stem Cells International*.
- O'Callaghan, R. J. 2018. The pathogenesis of *Staphylococcus aureus* eye infections. *Pathogens*. 7(1): 9.
- Pareek, S. N. A. Sagar, S. Sharma, dan V. Kumar. 2018. *Onion (Allium cepa L.)*. Dalam Fruit and vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health Volume II Second Edition. Editor E. M. Yahia. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.
- Permata, D. A. A., O. A. Waworuntu, dan C. Mintjelungan. 2016. Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak Bawang Bombay *Allium cepa L.* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*. 5(4): 52-60.
- Prochazkova, D., I. Bousova, dan N. Wilhelmova. 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*. 82(4): 513-523.
- Putri, A. M., S. Heryati, dan N. Nasution. 2015. Characteristics and predisposing factors of bacterial corneal ulcer in the National Eye Center, Cicendo Eye Hospital, Bandung from January to December 2011. *Althea Medical Journal*. 2(3): 443-447.
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. 2016. *Penggunaan dan Penanganan Hewan Coba Rodensia dalam Penelitian Sesuai dengan Kesejahteraan Hewan*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan.
- Roat, M. I. 2018. Corneal Ulcer. <https://www.msmanuals.com/professional/eye-disorders/corneal-disorders/corneal-ulcer> [Diakses pada 14 November 2018].

- Rodrigues, A. S., D. P. F. Almeida, J. S. Gandara, dan M. R. P. Gregorio. 2017. Onions: A Source of Flavonoids. <https://www.intechopen.com/books/flavonoids-from-biosynthesis-to-human-health/onions-a-source-of-flavonoids> [Diakses pada 30 November 2018].
- Santas, J., M. P. Almajano, dan R. Carbo. 2010. Antimicrobial and antioxidant activity of crude onion (*Allium cepa* L.) extracts. *International Journal of Food Science and Technology*. 45: 403-409.
- Snell, R. S. 2007. *Clinical Anatomy by Systems*. USA: Lippincott Williams & Wilkins. Terjemahan oleh L. Sugiharto. 2011. *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem*. Jakarta: EGC.
- Sridhar, M. S. 2018. Anatomy cornea and ocular surface. *Indian Journal of Ophthalmology*. 66(2): 190-194.
- Suleria, H. A. R., M. S. Butt, F. M. Anjum, F. Saeed, dan N. Khalid. 2015. Onion: Nature protection against physiological threats. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 55(1): 50-66.
- Tang, A., C. L. Balzli, A. R. Caballero, C. C. McCormick, S. D. Taylor, dan R. J. O'Callaghan. 2012. *Staphylococcus aureus* infection of the rabbit cornea following topical administration. *Current Eye Research*. 37(12): 1075-1083.
- Taylor, T. A. dan C. G. Unakal. 2017. *Staphylococcus aureus*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/> [Diakses pada 18 November 2018].
- Voiculescu, O. B., L. M. Voinea, dan C. Alexandrescu. 2015. Corneal neovascularization and biological therapy. *Journal of Medicine and Life*. 8(4): 444-448.
- WHO. 2018. Priority Eye Diseases. <http://www.who.int/blindness/causes/priority/en/index8.html> [Diakses pada 28 September 2018].
- Zao, D., C. Qin, X. Fan, Y. Li, dan B. Gu. 2014. Inhibitory effects of quercetin on angiogenesis in larval zebrafish and human umbilical vein endothelial cells. *European Journal of Pharmacology*. 723: 360-367.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Perhitungan Dosis

1. Perhitungan jumlah ekstrak bawang bombay yang dibutuhkan:

$$\begin{aligned} 1,5\% &= 1,5 \text{ g}/100 \text{ mL} \\ &= 1500 \text{ mg}/100\text{mL} \\ &= 300 \text{ mg}/20\text{mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 6 \text{ tetes/hari} \times 5 \text{ kelinci} &= 30 \text{ tetes/hari} \\ 30 \text{ tetes/hari} \times 0,05 \text{ mL} &= 1,5 \text{ mL/hari} \\ 1,5 \text{ mL/hari} \times 7 \text{ hari} &= 10,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3\% &= 3 \text{ g}/100\text{mL} \\ &= 3000 \text{ mg}/100\text{mL} \\ &= 600 \text{ mg}/20\text{mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 6 \text{ tetes/hari} \times 5 \text{ kelinci} &= 30 \text{ tetes/hari} \\ 30 \text{ tetes/hari} \times 0,05 \text{ mL} &= 1,5 \text{ mL/hari} \\ 1,5 \text{ mL/hari} \times 7 \text{ hari} &= 10,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 6\% &= 6 \text{ g}/100\text{mL} \\ &= 6000 \text{ mg}/100\text{mL} \\ &= 1200 \text{ mg}/20\text{mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 6 \text{ tetes/hari} \times 5 \text{ kelinci} &= 30 \text{ tetes/hari} \\ 30 \text{ tetes/hari} \times 0,05 \text{ mL} &= 1,5 \text{ mL/hari} \\ 1,5 \text{ mL/hari} \times 7 \text{ hari} &= 10,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 12\% &= 12 \text{ g}/100\text{mL} \\ &= 12000 \text{ mg}/100\text{mL} \\ &= 2400 \text{ mg}/20\text{mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 6 \text{ tetes/hari} \times 5 \text{ kelinci} &= 30 \text{ tetes/hari} \\ 30 \text{ tetes/hari} \times 0,05 \text{ mL} &= 1,5 \text{ mL/hari} \\ 1,5 \text{ mL/hari} \times 7 \text{ hari} &= 10,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

2. DMSO 0,1 % dibuat dengan cara \rightarrow 0,1 mL DMSO + aquades hingga 100 mL

3. Pembuatan ekstrak bawang bombay dengan konsentrasi 1,5%, 3%, 6%, dan 12%.

- a. 1,5 % \rightarrow 300 mg ekstrak bawang bombay + 20 mL DMSO 0,1%
- b. 3 % \rightarrow 600 mg ekstrak bawang bombay + 20 mL DMSO 0,1%
- c. 6 % \rightarrow 1200 mg ekstrak bawang bombay + 20 mL DMSO 0,1%
- d. 12 % \rightarrow 2400 mg ekstrak bawang bombay + 20 mL DMSO 0,1%



Lampiran 3.2 Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus*

Prosedur yang dilakukan dalam kultur bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebagai berikut:

1. Ambil biakan murni *Staphylococcus aureus* menggunakan ose steril.
2. Kemudian ditanamkan dengan cara digores pada media *Tryptic soy agar*.
3. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator.
4. Buat larutan standar 0,5 Mc.Farland untuk menghitung jumlah bakteri dengan cara mencampurkan 9,95 mL larutan asam sulfat 1% dengan 0,05 mL larutan barium klorida 1,175%.
5. Bakteri *S. aureus* yang telah tumbuh diambil menggunakan kawat ose steril kemudian disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL larutan NaCl 0,9% sampai didapatkan kekeruhan yang sama dengan larutan standard 0,5 Mc. Farland. Kekeruhan tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi bakteri dalam suspensi ialah $1,5 \times 10^8$ CFU/mL.

Lampiran 3.3 Prosedur Pembuatan Ulkus Kornea

Kelinci model ulkus kornea *Staphylococcus aureus* dibuat dengan cara sebagai berikut:

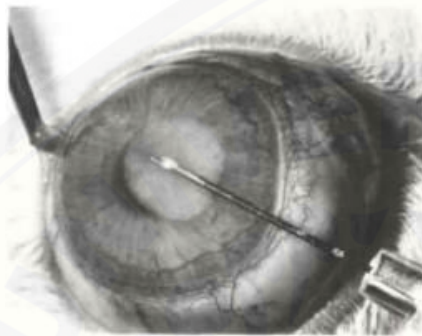
1. Pertama, berikan kelinci anestesi. Anestesi yang digunakan berupa injeksi subkutan dari kombinasi ketamin 44 mg/kgBB dan xylazine 5 mg/kgBB, dan juga diberikan satu tetes propacaine hidroklorida 0,5% pada mata kelinci yang akan dibuat ulkus kornea. Injeksi subkutan pada kelinci dilakukan dengan cara sebagai berikut:
 - a. Letakkan hewan di atas meja.
 - b. Usapkan alkohol pada lokasi injeksi. Lokasi injeksi subkutan terletak di antara os. scapula.
 - c. Cubit lipatan kulit yang akan diinjeksi dengan jempol dan jari lainnya. Kemudian tusukkan jarum suntik untuk dilakukan injeksi. Jarum yang dipakai berukuran 23 gauge.
 - d. Tarik *plunger* untuk aspirasi. Adanya darah yang muncul menunjukkan lokasi injeksi yang salah sehingga perlu direposisi.
 - e. Apabila lokasi injeksi telah benar maka dorong *plunger* secara perlahan untuk memasukkan obat/zat yang diperlukan.



Ilustrasi teknik injeksi subkutan pada kelinci (Sumber: NIH OACU)

2. Setelah anestesi selesai, berikan 4 goresan pada kornea sentral kelinci dengan kedalaman tidak sampai menembus stroma ($\pm 0,04$ mm) dan jarak antar goresan 1-2 mm menggunakan jarum steril berukuran 30 gauge.

3. Kemudian menginjeksikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) sebanyak 0,05 mL secara intrastroma pada kornea kelinci menggunakan jarum berukuran 30 gauge. Injeksi intrastroma dilakukan pada kornea sentral dengan kedalaman 0,2 mm dengan kemiringan hampir sejajar pada permukaan kornea. Ilustrasi injeksi intrastroma pada kelinci dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.

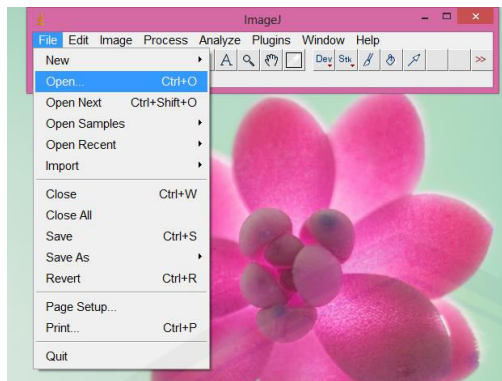


4. Penilaian terbentuknya ulkus kornea pada kelinci dilakukan 2 hari paska injeksi intrastroma menggunakan metode uji fluoresein. Uji fluoresein dilakukan dengan cara sebagai berikut:
 - a. Mata yang akan diperiksa ditetesi dengan 0,5% pantocain sebanyak 1 tetes.
 - b. Ditambahkan dengan zat warna fluoresein 1 tetes.
 - c. Aqua bides atau *normal saline* diteteskan ke mata yang akan diperiksa sampai air mata tidak berwarna.
 - d. Kornea diamati memakai *cobalt blue light* untuk menilai adanya warna hijau yang muncul yang mengindikasikan adanya defek pada kornea.Kelinci yang telah mengalami ulkus kornea ditunjukkan dengan munculnya warna hijau ketika uji fluoresein.

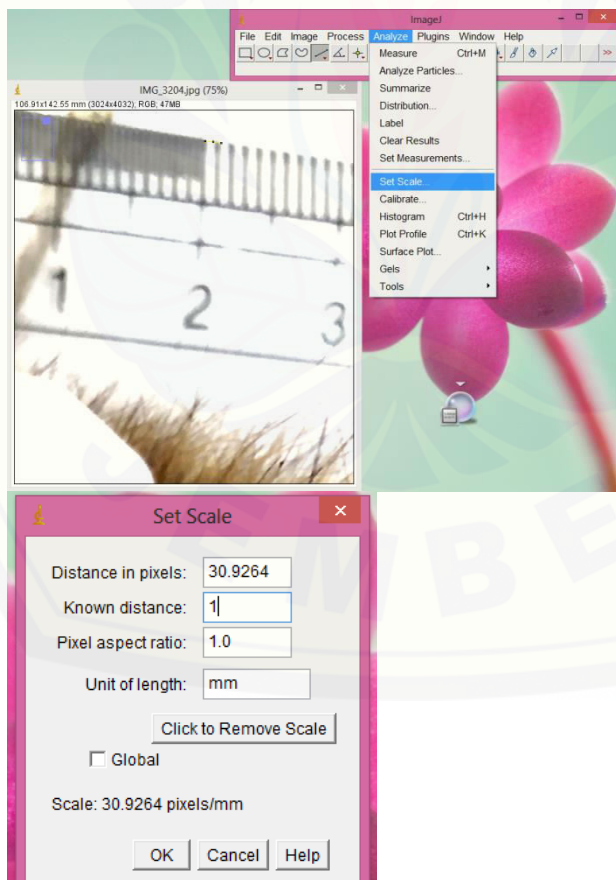
Lampiran 3.4 Prosedur Pengukuran Luas Area Neovaskularisasi

Pengukuran luas area neovaskularisasi dilakukan dengan cara sebagai berikut:

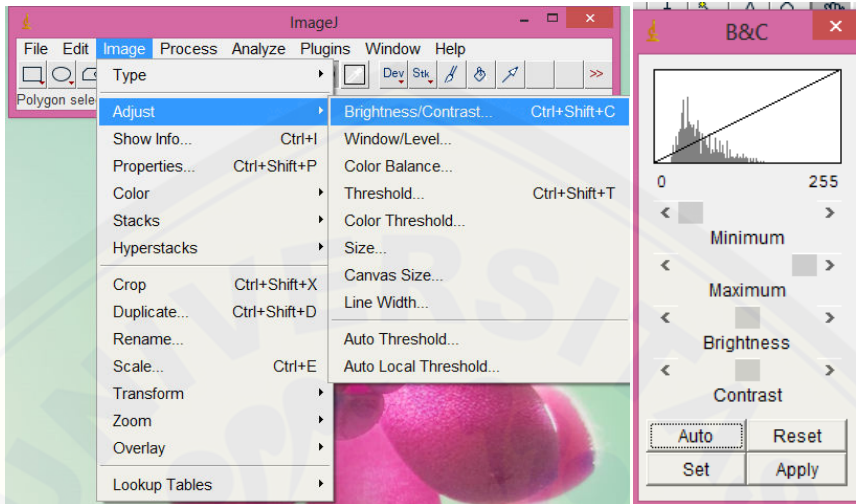
1. Buka aplikasi *Image J*, kemudian klik *file* dan *open* untuk memilih dan membuka gambar yang akan dianalisis.



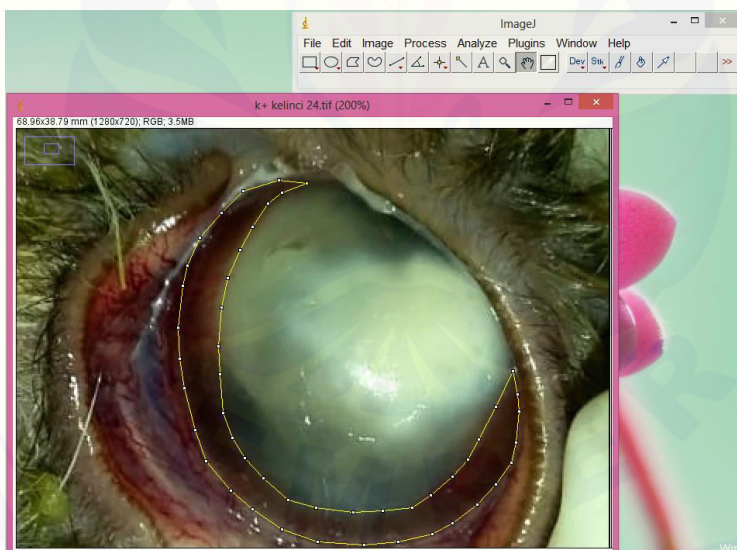
2. Setelah gambar terbuka, gambar dapat diperbesar dengan mengklik ikon *magnifying glass* untuk memperjelas gambar. Kemudian tentukan skala dengan membuat garis lurus pada gambar acuan yang berupa penggaris dalam satuan millimeter dan dipilih *analyze > Set Scale*. Pada bagian *known distance* diisi dengan angka 1 dan *unit of length* diubah menjadi mm, kemudian klik *OK*.



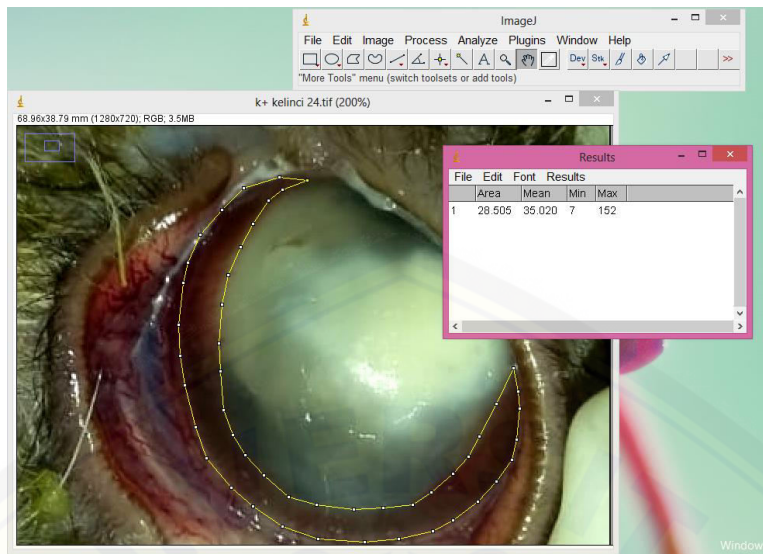
3. Atur kontras dan kecerahan untuk memperjelas area neovaskularisasi dengan cara pilih *Image > Adjust > Brightness/contrast*. Kemudian atur hingga didapat kontras dan kecerahan yang sesuai, lalu klik *Apply*.



4. Beri garis menggunakan *tools polygon selections* pada area neovaskularisasi.



5. Hitung luas area neovaskularisasi dengan cara klik *Analyze > Measurement*. Kemudian akan muncul hasilnya.



Lampiran 4.1 Luas Area Neovaskularisasi pada Kelompok Perlakuan

Kelompok	Luas Area Neovaskularisasi Kornea (mm ²)			Mean
	1	2	3	
K(-)	30.364	58.667	28.505	39.179
K(+)	0.172	0.000	0.521	0.231
P1	10.140	47.150	7.596	21.629
P2	0.814	7.810	0.259	2.961
P3	38.639	65.950	37.201	47.263
P4	0.000	58.472	31.649	30.040

Lampiran 4.2 Hasil Analisis Statistik

Uji Normalitas Saphiro-Wilk

Tests of Normality						
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Luas_Area_Neovaskularisasi K(-)	.365	3	.	.798	3	.111
K(+)	.255	3	.	.963	3	.630
P1	.365	3	.	.798	3	.110
P2	.362	3	.	.805	3	.126
P3	.369	3	.	.787	3	.085
P4	.189	3	.	.998	3	.909

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Luas_Area_Neovaskularisasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.886	5	12	.061

Uji One Way Anova

ANOVA

Luas_Area_Neovaskularisasi

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5463.356	5	1092.671	3.429	.037
Within Groups	3823.662	12	318.639		
Total	9287.019	17			

Uji Post hoc**Multiple Comparisons**

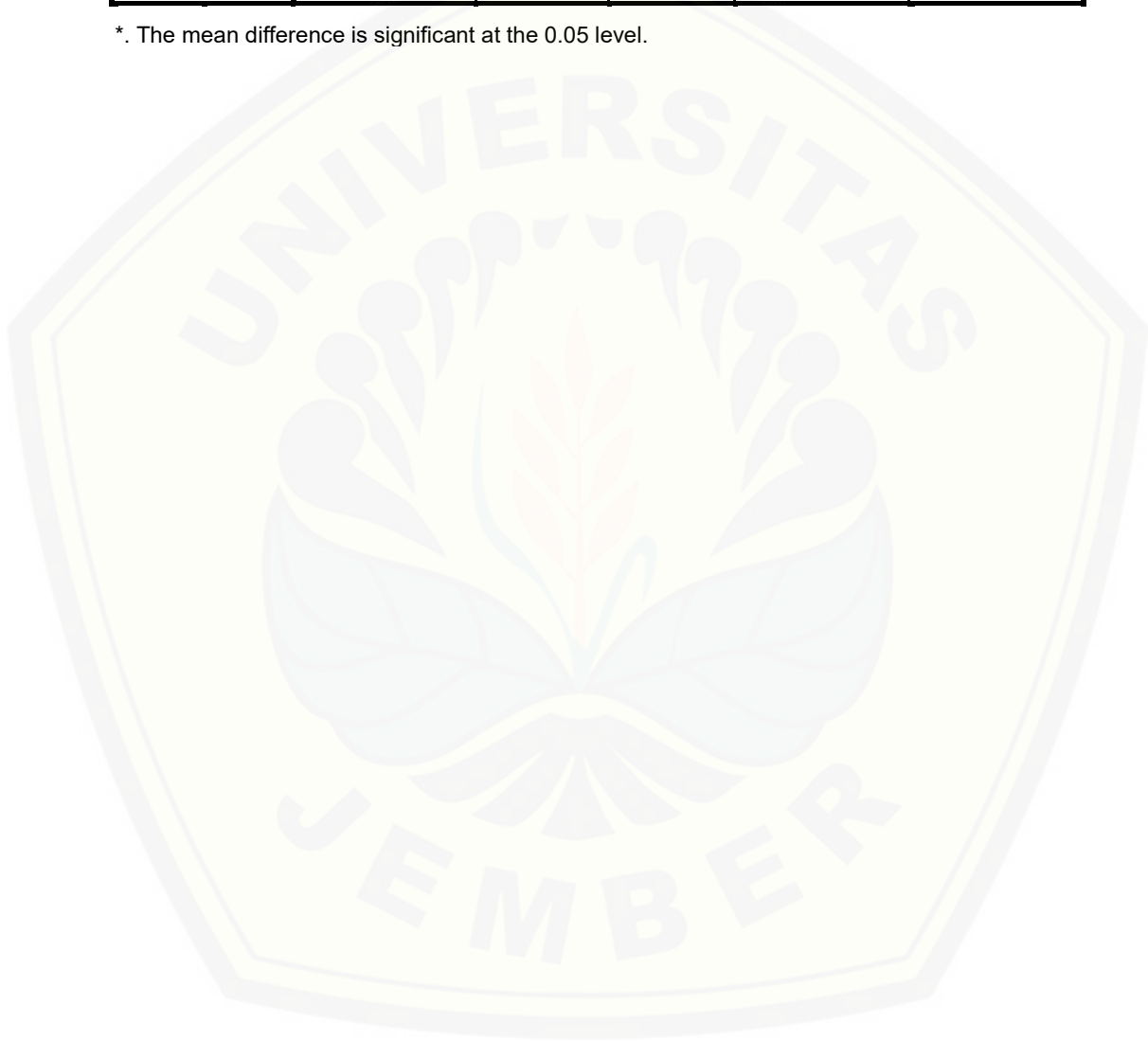
Luas_Area_Neovaskularisasi

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K(-)	K(+)	38.981000*	1.457483E1	.020	7.22517	70.73683
	P1	17.583333	1.457483E1	.251	-14.17250	49.33916
	P2	36.251000*	1.457483E1	.029	4.49517	68.00683
	P3	-8.051333	1.457483E1	.591	-39.80716	23.70450
	P4	9.171667	1.457483E1	.541	-22.58416	40.92750
K(+)	K(-)	-38.981000*	1.457483E1	.020	-70.73683	-7.22517
	P1	-21.397667	1.457483E1	.168	-53.15350	10.35816
	P2	-2.730000	1.457483E1	.855	-34.48583	29.02583
	P3	-47.032333*	1.457483E1	.007	-78.78816	-15.27650
	P4	-29.809333	1.457483E1	.063	-61.56516	1.94650
P1	K(-)	-17.583333	1.457483E1	.251	-49.33916	14.17250
	K(+)	21.397667	1.457483E1	.168	-10.35816	53.15350
	P2	18.667667	1.457483E1	.224	-13.08816	50.42350
	P3	-25.634667	1.457483E1	.104	-57.39050	6.12116
	P4	-8.411667	1.457483E1	.575	-40.16750	23.34416
P2	K(-)	-36.251000*	1.457483E1	.029	-68.00683	-4.49517
	K(+)	2.730000	1.457483E1	.855	-29.02583	34.48583
	P1	-18.667667	1.457483E1	.224	-50.42350	13.08816
	P3	-44.302333*	1.457483E1	.010	-76.05816	-12.54650
	P4	-27.079333	1.457483E1	.088	-58.83516	4.67650
P3	K(-)	8.051333	1.457483E1	.591	-23.70450	39.80716
	K(+)	47.032333*	1.457483E1	.007	15.27650	78.78816
	P1	25.634667	1.457483E1	.104	-6.12116	57.39050
	P2	44.302333*	1.457483E1	.010	12.54650	76.05816

	P4	17.223000	1.457483E1	.260	-14.53283	48.97883
P4	K(-)	-9.171667	1.457483E1	.541	-40.92750	22.58416
	K(+)	29.809333	1.457483E1	.063	-1.94650	61.56516
	P1	8.411667	1.457483E1	.575	-23.34416	40.16750
	P2	27.079333	1.457483E1	.088	-4.67650	58.83516
	P3	-17.223000	1.457483E1	.260	-48.97883	14.53283

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Lampiran 4.4 Dokumentasi Penelitian

Pembuatan Ekstrak Bawang Bombay



Pengupasan Bawang Bombay



Pengeringan Bawang Bombay



Pengovenan Bawang Bombay



Bawang Bombay yang kering diblender



Bawang Bombay yang sudah diblender kemudian diayak



Penimbangan hasil bawang bombay yang telah diayak



Proses ekstraksi dengan *Ultrasonic bath*



Penyaringan hasil ekstrak bawang bombay

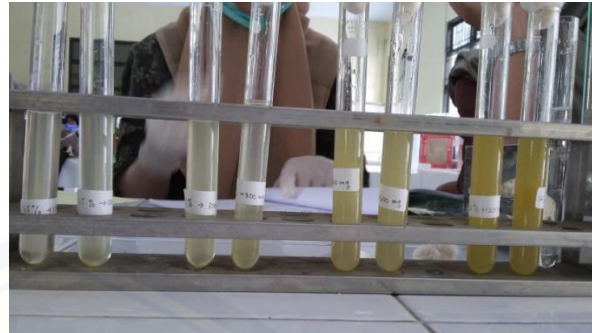


Pemisahan Etanol dari ekstrak bawang bombay menggunakan *rotary evaporator*

Proses Pembuatan Sediaan Tetes Mata



Pencampuran ekstrak bawang bombay dengan pelarut



Hasil ekstrak yang telah dicampurkan dengan pelarut DMSO 01%



Ekstrak Bawang Bombay disimpan dalam botol tetes mata

Pembuatan Ulkus Kornea pada Kelinci



Anestesi hewan coba secara subkutan



Proses injeksi bakteri secara intrastroma



Pemeliharaan hewan coba



Penilaian ulkus kornea



Hasil pemeriksaan ulkus kornea dengan tes fluorescein yang disinari *cobalt blue light*