

**DAFTAR ISI**

Sampul Depan	
Sampul Dalam .....	ii
Lembar Pengesahan .....	v
Ucapan Terima Kasih.....	vii
Ringkasan .....	xii
Abstrak .....	xiv
<i>Summary</i> .....	xv
<i>Abstract</i> .....	xvii
Daftar Isi.....	xviii
Daftar Tabel.....	xxii
Daftar Gambar .....	xxiii
Daftar Lampiran.....	xxiv
Daftar Singkatan .....	xxv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian .....	7
1.3.1 Tujuan Umum.....	7
1.3.2 Tujuan Khusus.....	7
1.4 Manfaat Penelitian .....	8
1.4.1 Manfaat Teoritis .....	8
1.4.2 Manfaat Praktis.....	8
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>9</b>
2.1 Anatomi dan Histologi Kornea.....	9
2.1.1 Lapisan Epitel.....	10
2.1.2 Membran Bowman .....	11
2.1.3 Stroma .....	11
2.1.4 <i>Dua's layer</i> .....	13
2.1.5 Membran Descemet .....	13

2.1.6	Lapisan Endotel .....	14
2.2	Respon Imun Permukaan Okuli .....	15
2.2.1	Lapisan Air Mata .....	15
2.2.2	Imunoregulasi Permukaan Okuli .....	17
2.3	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i> .....	19
2.3.1	Patogenesis dan faktor-faktor virulensi .....	21
2.3.1.1	<i>Lipopolysaccharida</i> .....	22
2.3.1.2	Flagellin .....	23
2.3.1.3	<i>Type III Secretion System (T3SS)</i> .....	24
2.3.1.4	Eksotoksin A .....	26
2.3.1.5	Faktor-faktor virulensi lain .....	27
2.4	Neutrofil .....	31
2.5	Kematian Sel .....	34
2.5.1	Apoptosis .....	35
2.5.2	Nekrosis .....	38
2.5.3	Nekroptosis .....	39
2.5.4	Pyroptosis .....	42
2.6	Model Kornea Binatang coba Tikus .....	43
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....</b>		<b>46</b>
3.1	Kerangka Konseptual .....	46
3.2	Hipotesis Penelitian .....	50
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>		<b>51</b>
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian .....	51
4.2	Populasi, Besar Sampel, dan Teknik Pengambilan Sampel .....	53
4.2.1	Populasi Penelitian .....	53
4.2.1.1	Kriteria Inklusi .....	53
4.2.1.2	Kriteria Eksklusi .....	53
4.2.2	Besar Sampel Penelitian .....	53
4.3	Variabel Penelitian .....	54
4.3.1	Klasifikasi Variabel .....	54
4.3.1.1	Variabel Bebas .....	54
4.3.1.2	Variabel Tergantung .....	54
4.3.1.3	Variabel Antara .....	54

4.3.2	Definisi Operasional .....	55
4.4	Materi Penelitian .....	56
4.4.1	Hewan Coba yang dikenai perlakuan .....	56
4.4.2	Kuman <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> .....	56
4.5	Alat dan Bahan Penelitian.....	56
4.5.1.	Alat Penelitian .....	56
4.5.2.	Bahan Penelitian.....	57
4.6	Prosedur Pelaksanaan Penelitian .....	57
4.6.1	Hewan coba yang dikenai perlakuan .....	57
4.6.2	Inokulasi bakteri pada kornea hewan coba .....	57
4.6.3	Pemeriksaan Imunohistokimia .....	58
4.7	Alur Penelitian.....	61
4.8	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	62
4.9	Cara Pengumpulan / Pengolahan dan Analisis Data .....	62
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS .....		63
5.1	Hasil pemeriksaan kornea tikus dan inokulasi kuman <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ....	63
5.2	Hasil pemeriksaan imunohistokmia kornea tikus.....	66
5.2.1	Hasil pemeriksaan imunohistokimia kornea tikus normal.....	66
5.2.2	Ekspresi variabel pada kornea tikus pasca insisi (kontrol).....	67
5.2.2.1	Ekspresi caspase-1 .....	67
5.2.2.1	Ekspresi TNF $\alpha$ .....	68
5.2.2.3	Ekspresi RIPK1 .....	69
5.2.2.4	Ekspresi RIPK3 .....	70
5.2.2.5	Ekspresi caspase-3 .....	71
5.2.3	Ekspresi variabel pada kornea tikus pasca insisi dan inokulasi kuman <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (perlakuan) .....	72
5.2.3.1	Pemeriksaan ekspresi caspase-1 .....	72
5.2.3.2	Pemeriksaan ekspresi TNF $\alpha$ .....	74
5.2.3.3	Pemeriksaan ekspresi RIPK1 .....	75
5.2.3.4	Pemeriksaan ekspresi RIPK3 .....	76
5.2.3.5	Pemeriksaan ekspresi caspase-3.....	78
5.2.3.6	Profil gambaran variabel antar kelompok.....	79
5.2.3.7	Profil gambaran perbedaan variabel antar kelompok .....	83

5.3	Analisis Multivariat .....	85
5.4	Hasil analisis jalur .....	91
BAB 6 PEMBAHASAN .....		93
6.1	Perubahan kornea pasca insisi.....	95
6.2	Perubahan kornea pasca insisi dan inokulasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	95
6.3	Perbedaan ekspresi caspase-1, TNF $\alpha$ , RIPK1, RIPK3, capase-3.....	97
6.3.1	Ekspresi caspase-1 .....	98
6.3.2	Ekspresi TNF $\alpha$ .....	100
6.3.3	Ekspresi RIPK1 .....	102
6.3.4	Ekspresi RIPK3 .....	104
6.3.5	Ekspresi caspase-3 .....	106
6.4	Aktivasi jalur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ExoS dan flagellin) terhadap caspase-1 ..	107
6.5	Aktivasi jalur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Lipopolysaccharida) terhadap TNF $\alpha$ .....	108
6.6	Aktivasi jalur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Eksotoksin A) terhadap caspase-3 .....	109
6.7	Aktivasi jalur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Lipopolysaccharida) terhadap RIPK3 ....	109
6.8	Aktivasi jalur TNF $\alpha$ terhadap RIPK1 .....	111
6.9	Aktivasi jalur RIPK1 terhadap RIPK3.....	111
6.10	Aktivasi jalur TNF $\alpha$ terhadap caspase-3.....	112
6.11	Keterbatasan penelitian.....	113
6.12	Temuan baru.....	114
6.13	Implikasi hasil .....	115
BAB 7 PENUTUP .....		116
7.1	Simpulan .....	116
7.2	Saran .....	117
DAFTAR PUSTAKA .....		118
LAMPIRAN .....		132

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Mediator terlarut pada peradangan permukaan okuli .....	17
Tabel 5.1	Ekspresi variabel pada kornea tikus normal.....	67
Tabel 5.2	Ekspresi caspase-1 pada kornea tikus pasca insisi berdasarkan waktu .....	67
Tabel 5.3	Ekspresi TNF $\alpha$ pada kornea tikus pasca insisi berdasarkan waktu .....	68
Tabel 5.4	Ekspresi RIPK1 pada kornea tikus pasca insisi berdasarkan waktu.....	69
Tabel 5.5	Ekspresi RIPK3 pada kornea tikus pasca insisi berdasarkan waktu.....	70
Tabel 5.6	Ekspresi caspase-3 pada kornea tikus pasca insisi berdasarkan waktu .....	71
Tabel 5.7	Ekspresi caspase-1 pada kornea tikus pasca insisi dan inokulasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> berdasarkan waktu.....	73
Tabel 5.8	Ekspresi TNF $\alpha$ pada kornea tikus pasca insisi dan inokulasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> berdasarkan waktu.....	74
Tabel 5.9	Ekspresi RIPK1 pada kornea tikus pasca insisi dan inokulasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> berdasarkan waktu.....	75
Tabel 5.10	Ekspresi RIPK3 pada kornea tikus pasca insisi dan inokulasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> berdasarkan waktu.....	77
Tabel 5.11	Ekspresi caspase-3 pada kornea tikus pasca insisi dan inokulasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> berdasarkan waktu.....	78
Tabel 5.12	Hasil analisis MANOVA tiap variabel .....	85
Tabel 5.13	Perbedaan rerata caspase-1 antar kelompok .....	86
Tabel 5.14	Perbedaan rerata TNF $\alpha$ antar kelompok .....	87
Tabel 5.15	Perbedaan rerata RIPK1 antar kelompok.....	88
Tabel 5.16	Perbedaan rerata RIPK3 antar kelompok.....	89
Tabel 5.17	Perbedaan rerata caspase-3 antar kelompok .....	90
Tabel 5.18	Analisis regresi faktor yang mempengaruhi masing-masing variabel.....	91

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Anatomi Kornea .....	9
Gambar 2.2	Fibroblas .....	13
Gambar 2.3	Kornea manusia dengan pemeriksaan <i>confocal biommicroscopy</i> .....	15
Gambar 4.1	Pengelompokan subyek penelitian.....	52
Gambar 5.1	Mata tikus sebelum perlakuan.....	63
Gambar 5.2	Insisi kornea dan inokulasi kuman .....	64
Gambar 5.3	Kelompok kornea tikus pasca insisi .....	65
Gambar 5.4	Kelompok kornea tikus pasca insisi + inokulasi kuman <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> .....	65
Gambar 5.5	Ekspresi caspase-1, TNF $\alpha$ , RIPK1, RIPK3, caspase-3 pada kornea tikus normal.....	66
Gambar 5.6	Ekspresi caspase-1 pasca insisi .....	68
Gambar 5.7	Ekspresi TNF $\alpha$ pasca insisi.....	69
Gambar 5.8	Ekspresi RIPK1 pasca insisi .....	70
Gambar 5.9	Ekspresi RIPK3 pasca insisi .....	71
Gambar 5.10	Ekspresi caspase-3 pasca insisi.....	72
Gambar 5.11	Ekspresi caspase-1 pasca insisi dan inokulasi kuman <i>P aeruginosa</i> .....	73
Gambar 5.12	Ekspresi TNF $\alpha$ pasca insisi dan inokulasi kuman <i>P aeruginosa</i> .....	75
Gambar 5.13	Ekspresi RIPK1 pasca insisi dan inokulasi kuman <i>P aeruginosa</i> .....	76
Gambar 5.14	Ekspresi RIPK3 pasca insisi dan inokulasi kuman <i>P aeruginosa</i> .....	79
Gambar 5.15	Ekspresi caspase-3 pasca insisi dan inokulasi kuman <i>P aeruginosa</i> .....	78
Gambar 5.16	Grafik rerata ekspresi caspase-1 kelompok kontrol dan perlakuan.....	80
Gambar 5.17	Grafik rerata ekspresi TNF $\alpha$ kelompok kontrol dan perlakuan.....	80
Gambar 5.18	Grafik rerata ekspresi RIPK1 kelompok kontrol dan perlakuan .....	81
Gambar 5.19	Grafik rerata ekspresi RIPK3 kelompok kontrol dan perlakuan .....	82
Gambar 5.20	Grafik rerata ekspresi caspase-3 kelompok kontrol dan perlakuan .....	82
Gambar 5.21	Grafik perbedaan ekspresi variabel antar kelompok kontrol.....	83
Gambar 5.22	Grafik perbedaan ekspresi variabel antar kelompok perlakuan.....	84
Gambar 5.23	Model analisis jalur hasil penelitian.....	92

Gambar 6.1 Model analisis jalur teori kebaruan penelitian..... 114

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1 Sertifikat Kelaikan Etik ..... 132  
Lampiran 2 Data Statistik ..... 133  
Lampiran 3 Prosedur Pemeriksaan Immunohistokimia (Single Stain) ..... 142  
Lampiran 4 Sertifikat *strain Rattus norvegicus* ..... 143  
Lampiran 5 Antibodi Monoklonal ..... 144  
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian ..... 149

**DAFTAR ARTI / LAMBANG / SINGKATAN / ISTILAH**

ASC	: Apoptosis-associated speck-like protein containing CARD
AHL	: acyl-homoserine lactones
ADPriboseylation EF-2	: adenosine diphosphate ribosylation elongation factor-2
APAF-1	: apoptotic protease activating factor-1
Asialo-GM1	: asialo-gangliotetraacyl ceramide 1
APCs	: antigen-presenting cells
AprA	: alkaline protease A
BAK	: BCL2 antagonist killer 1
BCL	: B cell leukemia/ lymphoma
c IAP 1	: cellular inhibitor of apoptosis protein
Caspase	: cysteinyl aspartate-specific protease
CXCR1	: C-X-C motif chemokine receptor 1
DAMPs	: danger-associated molecular patterns
DNA	: deoxyribonuclear acid
ECM	: extra cellular matrix
EGF	: epidermal growth factor
Exo S	: Exoenzyme S
FADD	: Fas-associated death domain protein
FLIP	: FLICE inhibitory protein
GSMD-CT	: Gasdermin D-C terminal
GSMD-NT	: Gasdermin D-N terminal
HDGF	: hepatoma-derived growth factor
HMGB1	: high motility group protein B1
IFN- $\gamma$	: interferon gama
IKKB	: inhibitor of kappa light polypeptida gene enhancer in B cells, kinase beta / inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta
IgA	: immunoglobulin A
IL-1 $\beta$	: interleukin-1 beta
IL-1RA	: interleukin-1 receptor agonist
iNOS	: inducible nitric oxide synthase



LUBAC	: linear ubiquitin chain assembly complex
LPS	: lipopolysaccharide
MCP-1	: monocyte chemotactic protein-1
MD2-CD14	: myeloid differentiation factor2-cluster of differentiation14
MIP-1	: macrophage inflammatory protein-1
MMPs	: matrix metallo proteinases
MLKL	: mixed lineage kinase-like
MOMP	: mitochondrial outer membrane permeabilization
MyD88	: Myeloid differentiation primary response 88
NAIP5/6	: NLR family apoptosis inhibitor protein 5/6
NETs	: neutrophil extracellular traps
NF-κB	: Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells.
NLRC4	: nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor card4
NLRP1	: nucleotida-binding oligomerization domain-like receptor protein1
PASP	: Pseudomonas aeruginosa small protein
PMN	: polymorphonuclear
PRRs	: pattern recognition receptors
RIG-1-MAVS	: retinoic acid-inducible gene1-mitochondrial antiviral signaling protein
RIPK1	: receptor-interacting protein kinase 1
ROS	: reactive oxygen species
si RNA	: short interfering RNA
Th1	: T helper1 cell 1
TIPE2	: TNFα induced protein 8-like-2
TIMP 1	: Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1
T3SS	: Type III Secretion System
TGFβ	: Transforming Growth Factor beta
TLR4	: Toll-like receptor 4
TNFα	: Tumor Necrosis Factor alfa
TRADD	: Tumor necrosis factor receptor associated death domain
TRAF2	: Tumor necrosis factor receptor associated factor 2
TRAIL	: Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand
TRIF	: Toll or Interleukin-1 Receptor (TIR) domain-containing adapter –

inducing interferon  $\beta$