

**EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*)
TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA PADA KELINCI MODEL
ULKUS KORNEA YANG DIINDUKSI *Staphylococcus aureus***

(Skripsi)

Oleh:

Rofi Yoga Ardandi



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

**EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*)
TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA PADA KELINCI MODEL
ULKUS KORNEA YANG DIINDUKSI *Staphylococcus aureus***

**Oleh
Rofi Yoga Ardandi**

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

**Pada
Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul : EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA PADA KELINCI MODEL ULKUS KORNEA YANG DIINDUKSI *Staphylococcus aureus*

Nama Mahasiswa : Rofi Yoga Ardandi

No. Pokok Mahasiswa : 2018011003

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



dr. M. Yusran, M.Sc., Sp.M

NIP. 198001102005011004



Dr. dr. Betta Kurniawan, M.Kes., Sp.ParK

NIP. 197810092005011001

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.

NIP. 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **dr. M. Yusran, M.Sc., Sp.M**

Sekretaris : **Dr. dr. Betta Kurniawan, M.Kes., Sp.ParK**

Penguji
Bukan Pembimbing : **dr. Rani Himayani, Sp.M**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **5 Juli 2024**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **"EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA PADA KELINCI MODEL ULKUS KORNEA YANG DIINDUKSI *Staphylococcus aureus*"** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 5 Juli 2024

Pembuat Pernyataan



Rofi Yoga Ardandi



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Sri Pendowo pada tanggal 2 Oktober 2002, sebagai anak pertama dari dua bersaudara dari Bapak Edi Sugiatno, S.Pd. dan Ibu Sukarsi, S.Pd. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SDN 1 Braja Luhur pada tahun 2014, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMPN 1 Braja Selehah pada tahun 2017 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMAN 1 Way Jepara pada tahun 2020. Selama di bangku SMP, penulis mengikuti organisasi Pramuka. Sedangkan selama di bangku SMA, penulis mengikuti organisasi Rohani Islam (Rohis) dan Olimpiade.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2020 melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, penulis mengikuti Organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa (2020-2023), serta menjadi bagian asisten dosen Biokimia, Biologi Molekuler dan Fisiologi (BBF) tahun ajaran 2022-2023.

SANWACANA

Assalamu'alaykum Warrahmatullahi Wabarakatuh.

Alhamdulillah Rabbil 'alamiin, Segala rasa syukur hanya kepada Alla Azza Wa Jalla Rabb semesta alam, atas segala nikmat, hidayah, petunjuk, dan kasih sayangNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Skripsi dengan judul “EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA PADA KELINCI MODEL ULKUS KORNEA YANG DIINDUKSI *Staphylococcus aureus*” ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak saran, bimbingan, dukungan, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis bersyukur kepada Allah Azza Wa Jalla yang senantiasa memudahkan dan menguatkan penulis dalam menyelesaikan tugas-tugas duniawi. Tidak lupa dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih pada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., IPM., ASEAN Eng., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr. M. Yusran, M. Sc., Sp. M(K), selaku pembimbing I atas kesediaan dan kesabarannya dalam memberikan bimbingan, ilmu, kritik, saran, nasehat, motivasi, dan arahan yang sangat berdedikasi bagi penulis menyelesaikan skripsi ini.

4. Dr. dr. Betta Kurniawa, M. Kes., Sp. ParK, selaku pembimbing II atas kesediaan dan kesabarannya dalam memberikan bimbingan, ilmu, kritik, saran, nasehat, motivasi, dan arahan yang sangat berdedikasi bagi penulis menyelesaikan skripsi ini.
5. Dr. Rani Himayani, Sp. M, selaku pembahas atas kesediaan dan kesabarannya dalam memberikan bimbingan, ilmu, koreksi, kritik, saran, nasehat, motivasi, dan bantuan untuk perbaikan skripsi penulis.
6. Dr. Risti Graharti, S.Ked., M.Ling., selaku pembimbing akademik atas kesediaan dan kesabarannya dalam memberikan bimbingan, ilmu, kritik, saran, nasehat, motivasi, arahan yang sangat berdedikasi bagi penulis menyelesaikan skripsi ini.
7. Seluruh dosen, staf, dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu, waktu, dan bantuan selama proses perkuliahan sampai penyusunan skripsi penulis.
8. Bapak Ibu tercinta, Bapak Edi Sugiatno, S. Pd., dan Ibu Sukarsi, S. Pd. atas kasih sayangnya yang tak terhingga, dukungan, semangat, motivasi, dan doanya sehingga dimudahkan dan dilancarkan perjalanan studi dan penyusunan skripsi penulis.
9. Adik tercinta, Zayyan Jeni Hanifah, yang selalu memberikan semangat dalam menggapai cita-cita.
10. Seluruh keluarga besar yang selalu memberikan dukungan, semangat, dan doanya kepada penulis.
11. ANS, seseorang yang spesial bagi penulis, terima kasih banyak atas dukungan, bantuan, dan semangatnya bagi penulis selama ini.
12. Sahabat-sahabat tersayang Pitha Maykania Poty, Suci Nurhaliza, Anggi Adelia, dan Nindi Putri Sha yang selalu ada untuk saling mendukung, mendoakan, membantu, dan menyemangati selama menjalani pendidikan.
13. Sahabat-sahabat terbaik bagian dari Kelompok KKN Pagar Dewa yang selalu memberi semangat dan dukungannya kepada penulis.
14. Teman-teman FK UNILA 2020 (TROMBOSIT) atas kebersamaanya selama ini dalam semangat satu kedokteran.
15. Seluruh pihak yang terlibat dalam membantu penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan, oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun untuk karya yang lebih baik kedepannya. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat untuk menambah pengetahuan dan wawasan bagi pembacanya.

Bandar Lampung, 5 Juli 2024

Penulis

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Rofi Yoga', with a stylized flourish extending from the end.

Rofi Yoga Ardandi

ABSTRACT

EFFECT OF GREEN TEA (*Camellia sinensis*) LEAF ETHANOL EXTRACT ON WOUND HEALING IN RABBITS CORNEAL ULCER MODEL INDUCED BY *Staphylococcus aureus*

By

Rofi Yoga Ardandi

Background: Scar tissue production due to corneal ulcers is a major cause of blindness and visual impairment so antibiotic *adjuvant* therapy is needed to prevent this risk. One of the plants that can be developed is green tea (*Camellia sinensis*) as an *adjuvant* therapy.

Methods: Green tea leaf samples were macerated with 96% ethanol, then evaporated. The extract was diluted into four concentrations, namely 2%, 4%, 8%, and 10%. The therapeutic effect test used rabbit cornea ulcer model induced by *Staphylococcus aureus* as the object of research. The dependent variables in this study were wound healing time and the average area of scar tissue formed. Statistical tests used in this study were *Mann-Whitney* test and *Kruskal-Wallis* test.

Results: Wound healing time in the 10% extract concentration group was faster, which was <2 weeks (p value<0.05). Measurement of the mean area of scarring in the control group, 2%, 4%, 8%, and 10% extract concentrations, obtained results of 5.6 mm², 3.3 mm², 2.6 mm², 0.9 mm², and 1.8 mm² (p value=0.006). The concentration of the extract given was inversely proportional to the average area of scarring formed, except at a concentration of 10%.

Conclusions: Green tea leaf extract (*Camellia sinensis*) was shown to accelerate wound healing time and reduce scar tissue formation in rabbit corneal ulcer models induced by *Staphylococcus aureus*.

Keywords: *Camellia sinensis*, corneal ulcer, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRAK

EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA PADA KELINCI MODEL ULKUS KORNEA YANG DIINDUKSI *Staphylococcus aureus*

Oleh

Rofi Yoga Ardandi

Latar Belakang: Produksi jaringan parut akibat ulkus kornea merupakan penyebab utama kebutaan dan gangguan penglihatan sehingga diperlukan terapi *adjuvant* antibiotik untuk mencegah risiko tersebut. Salah satu tanaman yang dapat dikembangkan adalah teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai terapi *adjuvant*.

Metode: Sampel daun teh hijau dimaserasi dengan etanol 96%, kemudian dilakukan evaporasi. Ekstrak diencerkan menjadi empat konsentrasi, yaitu 2%, 4%, 8%, dan 10%. Uji efek terapi menggunakan hewan coba kelinci model ulkus kornea yang diinduksi oleh *Staphylococcus aureus* sebagai objek penelitian. Variabel terikat pada penelitian ini adalah waktu penyembuhan luka dan rata-rata luas jaringan parut yang terbentuk. Uji statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah uji *Mann-Whitney* dan uji *Kruskal-Wallis*.

Hasil: Waktu penyembuhan luka pada kelompok konsentrasi ekstrak 10% berjalan lebih cepat, yaitu <2 minggu (nilai $p < 0,05$). Pengukuran rerata luas jaringan parut pada kelompok kontrol, konsentrasi ekstrak 2%, 4%, 8%, dan 10%, didapatkan hasil sebesar 5,6 mm², 3,3 mm², 2,6 mm², 0,9 mm², dan 1,8 mm² (nilai $p = 0,006$). Konsentrasi ekstrak yang diberikan berbanding terbalik dengan rata-rata luas jaringan parut yang terbentuk, kecuali pada konsentrasi 10%.

Kesimpulan: Ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terbukti dapat mempercepat waktu penyembuhan luka dan mengurangi pembentukan jaringan parut pada kelinci model ulkus kornea yang diinduksi oleh *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci: *Camellia sinensis*, ulkus kornea, *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kornea	6
2.1.1 Anatomi Kornea	6
2.1.2 Histologi Kornea	7
2.1.3 Histologi Lapisan Air Mata Prekorneal	9
2.1.4 Fisiologi Kornea	11
2.2 Anatomi dan Histologi Kornea Kelinci	12
2.3 Ulkus Kornea	12
2.3.1 Definisi	12
2.3.2 Etiologi	13
2.3.3 Patogenesis Ulkus Kornea	14

2.3.4	Faktor Risiko	32
2.3.5	Diagnosis dan Diagnosis Banding	33
2.3.6	Tatalaksana Ulkus Kornea	35
2.3.7	Antibiotik Ofloxacin 0,3% Eye Drop	38
2.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	39
2.4.1	Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	39
2.4.2	Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	39
2.4.3	Sifat <i>Staphylococcus aureus</i>	40
2.4.4	Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i>	41
2.4.5	Faktor Risiko	43
2.5	Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i>)	43
2.5.1	Taksonomi	43
2.5.2	Morfologi	43
2.5.3	Komponen Bioaktif <i>Camellia sinensis</i>	44
2.5.4	Efek Farmakologis	49
2.6	Kerangka Penelitian	60
2.6.1	Kerangka Teori	60
2.6.2	Kerangka Konsep	61
2.7	Hipotesis	61
2.7.1	Hipotesis Null (H_0)	61
2.7.2	Hipotesis Alternatif (H_a)	61
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		62
3.1	Jenis Penelitian	62
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	62
3.2.1	Waktu Penelitian	62
3.2.2	Tempat Penelitian	62

3.3	Subjek Penelitian.....	63
3.3.1	Populasi Penelitian	63
3.3.2	Sampel Penelitian	63
3.4	Identifikasi Variabel Penelitian	65
3.4.1	Variabel Bebas.....	65
3.4.2	Variabel Terikat.....	65
3.5	Definisi Operasional Variabel Penelitian	66
3.6	Rancangan Penelitian	66
3.7	Prosedur Penelitian.....	67
3.7.1	Alat Penelitian	67
3.7.2	Bahan Penelitian.....	67
3.7.3	Aklimatisasi dan Pemeliharaan Hewan Coba.....	67
3.7.4	Pemilihan dan Pembagian Hewan Coba.....	68
3.7.5	Peremajaan Bakteri.....	69
3.7.6	Pembuatan Ekstrak Daun Teh Hijau.....	70
3.7.7	Penentuan Dosis Ekstrak	71
3.7.8	Anestesi Hewan Coba.....	71
3.7.9	Induksi Ulkus Kornea oleh <i>Staphylococcus aureus</i>	72
3.7.10	Pemberian Antibiotik.....	72
3.7.11	Pemberian Ekstrak Daun Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i>)	72
3.7.12	Pencatatan Waktu Penyembuhan Luka dan Luas Jaringan Parut ..	73
3.7.13	Terminasi dan Pemusnahan Kelinci	73
3.8	Analisis Data	74
3.9	Alur Penelitian.....	75
3.11	Etika Penelitian	76
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	77

4.1 Hasil	77
4.1.1 Ekstraksi Daun Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i>).....	77
4.1.2 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i>) .	78
4.1.3 Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	80
4.1.4 Penilaian Ulkus Kornea	81
4.1.5 Waktu Penyembuhan Luka.....	81
4.1.6 Luas Jaringan Parut	83
4.2 Pembahasan	87
4.2.1 Ekstraksi Daun Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i>).....	87
4.2.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i>)	87
4.2.3 Penyembuhan Luka Ulkus Kornea	89
4.2.4 Keterbatasan Penelitian	93
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	94
5.1 Kesimpulan.....	94
5.2 Saran.....	94
DAFTAR PUSTAKA.....	96
LAMPIRAN.....	105

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	39
Tabel 2. Klasifikasi <i>Camellia sinensis</i>	43
Tabel 3. Definisi Operasional	66
Tabel 4. Pembagian kelompok perlakuan.....	69
Tabel 5. Rendemen Ekstraksi	78
Tabel 6. Skrining Fitokimia ekstrak daun teh hijau (<i>Camellia sinensis</i>)	78
Tabel 7. Waktu Penyembuhan Luka	82
Tabel 8. Uji <i>Mann-Whitney</i> Data Waktu Penyembuhan Luka.....	83
Tabel 9. Luas Jaringan Parut.....	84
Tabel 10. Uji Normalitas dan Homogenitas Data Luas Jaringan Parut	85
Tabel 11. Uji <i>Kruskal-Wallis</i> Data Luas Jaringan Parut	86
Tabel 12. Uji <i>Mann-Whitney</i> Data Luas Jaringan Parut	86

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Potongan melintang kornea	6
Gambar 2. Histologi Kornea.....	7
Gambar 3. Mekanisme Pembentukan Jaringan Parut Pada Kornea	20
Gambar 4. Garis Waktu Perjalanan Klinis dan Patogenesis Keratitis HSV	22
Gambar 5. <i>Staphylococcus aureus</i>	40
Gambar 6. Daun Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i>).....	44
Gambar 7. Struktur Kimia <i>Katekin</i>	46
Gambar 8. Struktur Kimia <i>Quercetin</i> dan Kaempferol.....	47
Gambar 9. Struktur Kimia L-theanine	47
Gambar 10. Struktur Kimia Kafein dan Teobromin	48
Gambar 11. Mekanisme <i>Quercetin</i> dalam Mempengaruhi Peradangan dan Fungsi Imunologis	53
Gambar 12. Perubahan pada Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> Setelah Diberikan <i>Quercetin</i>	55
Gambar 13. Kerangka Teori.....	60
Gambar 14. Kerangka Konsep.....	61
Gambar 15. Pengukuran Luas Jaringan Parut Menggunakan Image J	73
Gambar 16. Alur Penelitian	75
Gambar 17. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i>).....	79
Gambar 18. Ulkus Kornea Positif Pada Mata Kelinci.....	81
Gambar 19. Hasil Tes Fluoresensi Negatif.....	81
Gambar 20. Pengukuran Luas Jaringan Parut	84

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ulkus kornea adalah suatu kondisi patologis pada kornea yang menyebabkan hilangnya sebagian besar permukaan lapisan stroma kornea akibat kematian jaringan kornea dan ditandai dengan adanya infiltrat supuratif, defek kornea, dan diskontinuitas jaringan kornea dari epitel hingga stroma (Adam dan Andari, 2023; Sumbayak, dkk., 2019). Produksi jaringan parut akibat ulkus kornea merupakan penyebab utama kebutaan dan gangguan penglihatan secara global (Rahayu dan Wulan, 2016). Terbentuknya jaringan parut dapat bermanifestasi pada kekeruhan kornea yang merupakan salah satu permasalahan kesehatan mata di Indonesia yang memerlukan perhatian khusus karena prevalensinya yang tinggi dan menduduki peringkat kedua penyebab kebutaan (Adam dan Andari, 2023). Prevalensi kekeruhan kornea secara nasional adalah 5,5%, dengan frekuensi terbesar adalah Bali (11%), diikuti oleh DI Yogyakarta (10,2%), dan Sulawesi Selatan (9,4%) (RISKESDAS, 2013).

Infeksi bakteri, jamur, dan virus adalah penyebab paling umum dari ulkus kornea. Selain infeksi, ulkus kornea juga dapat terjadi akibat luka bakar kimia, autoimun, toksik, neurotropik, atau faktor lainnya (PERDAMI, 2019). Ulkus kornea harus ditangani dengan memberikan pengobatan yang sesuai dan cepat berdasarkan temuan kultur mikroorganisme penyebab dan tes sensitivitas berupa antibiotik, anti jamur, dan antiviral (Fitriani, *et al.*, 2020).

Bakteri bertanggung jawab atas lebih dari 90% peradangan pada kornea terutama oleh *Staphylococcus aureus* (PERDAMI, 2019; Wuletaw, *et al.*, 2021). Menurut laporan terbaru *World Health Organization* (WHO) yang berjudul *Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance* (dalam Yunita, *et al.*, 2021), Asia Tenggara memiliki jumlah kasus resistensi antibiotik tertinggi di dunia, terutama infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap Methicillin dan mengakibatkan penurunan fungsi antibiotik tersebut.

Ulkus pada kornea dapat menyebar ke dua arah, yaitu melebar dan mendalam. Jika ulkus kecil dan dangkal, maka akan sembuh lebih cepat dan daerah yang disusupi akan bersih kembali; namun, jika lesi mencapai membran Bowman dan bagian stroma, jaringan ikat baru akan tumbuh, menghasilkan jaringan parut atau sikatrik (Adam dan Andari, 2023). Jaringan parut terbentuk karena pada proses penyembuhan stroma kornea dapat terjadi produksi kolagen yang berlebihan atau pergantian kolagen yang menyimpang, serta produksi *extracellular matrix* (ECM) yang berlebihan, dapat terakumulasi pada jaringan yang mengalami luka dan mengakibatkan terbentuknya jaringan parut (Guillamat-Prats, 2021).

Penelitian bahan alami sebagai pilihan pengobatan telah dilakukan selama beberapa tahun. Bahan alternatif ini dipilih sebagai terapi *adjuvant* antibiotik untuk membantu proses penyembuhan pada ulkus kornea sehingga dapat menurunkan risiko terbentuknya jaringan parut. Daun teh merupakan tanaman yang mudah didapat dengan jumlah yang sangat melimpah di Indonesia, hal ini ditunjukkan dengan data produksi daun teh kering yang mencapai 144.063 ton pada tahun 2020 (BPS RI, 2020). *Alkaloid*, *saponin*, *tanin*, fenolat, *flavonoid*, steroid, dan glikosida merupakan bahan kimia metabolit sekunder yang terdapat pada daun teh (Martono dan Setiyono, 2014).

Flavonoid merupakan kadungan polifenol utama yang terdapat pada daun teh, utamanya terdiri dari *catechin*, *epigallocatechin-3-gallat* (EGCG),

epigallocatechin (EGC), *epikatekin-3-gallat* (EGC) dan *epikatekin* (EC), serta *quercetin* (Saryono, 2013). Untuk mendapatkan komponen tersebut diperlukan proses ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai sehingga bisa didapatkan hasil yang optimal. Selektivitas pelarut dalam mengekstraksi komponen yang diinginkan dari bahan tanaman ditentukan oleh tingkat kompatibilitas polaritas antara kedua zat. Salah satu pelarut yang bersifat polar adalah etanol yang biasanya digunakan untuk melarutkan bahan-bahan alami untuk aplikasi makanan dan obat-obatan (Hikmawanti, *et al.*, 2020). Penggunaan etanol sebagai pelarut diketahui memiliki selektivitas yang lebih tinggi dibandingkan air, sehingga menghasilkan konsentrasi bahan kimia aktif yang lebih tinggi dalam hasil ekstraksi (Rahardjo, *et al.*, 2018). Peneliti memilih etanol sebagai pelarut karena kompatibilitas polaritas yang tinggi dengan *flavonoid*, sehingga diharapkan dengan penggunaan etanol dapat menghasilkan ekstrak dengan kandungan *flavonoid* yang optimal.

Flavonoid yang ada di dalam daun teh menunjukkan sifat antioksidan, sehingga memungkinkan untuk mengurangi tingkat hidrogen peroksida, superoksida, dan radikal bebas (Martono dan Setiyono, 2014). *Quercetin* dapat mengurangi fibrosis dengan memodifikasi komponen integrin pada permukaan sel sehingga memungkinkan sel bermigrasi lebih efektif dan menurunkan produksi ECM serta meningkatkan kualitas kesembuhan luka (Doersch dan Newell-Rogers, 2017). EGCG dapat menekan produksi dan proliferasi kolagen dalam model kultur fibroblast keloid melalui penghambatan jalur pensinyalan *signal transducer and activator of transcription-3* (STAT3). Penggunaan ekstrak daun teh hijau secara topikal menunjukkan efek penghambatan yang signifikan dari ekspresi kolagen tipe I dalam model kultur fibroblast keloid melalui pemblokiran jalur pensinyalan PI-3K/AkT (Sidgwick, *et al.*, 2015).

Terapi alternatif untuk ulkus kornea masih terus diselidiki, dan sampai saat ini belum ada penelitian yang dilakukan mengenai efek ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dalam penyembuhan luka pada ulkus kornea. Oleh karena

itu, peneliti tertarik untuk melakukan sebuah penelitian yang bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap penyembuhan luka pada kelinci model ulkus kornea yang diinduksi oleh *Staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat membantu penyembuhan luka pada kelinci model ulkus kornea yang diinduksi oleh *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap penyembuhan luka pada kelinci model ulkus kornea oleh *Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui efek ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap waktu penyembuhan luka pada kelinci model ulkus kornea yang diinduksi oleh *Staphylococcus aureus*.
- b. Untuk mengetahui efek ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap luas jaringan parut pada kelinci model ulkus kornea yang diinduksi oleh *Staphylococcus aureus*.
- c. Untuk mengetahui hubungan peningkatan konsentrasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan luas jaringan parut pada kelinci model ulkus kornea yang diinduksi oleh *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat

Berdasarkan uraian tersebut, manfaat penelitian yang diharapkan adalah sebagai berikut:

1. Manfaat Kepentingan Ilmu

Sebagai informasi ilmiah dan bahan penelitian lanjutan mengenai potensi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) untuk mengurangi waktu penyembuhan luka dan pembentukan jaringan parut pada ulkus kornea.

2. Manfaat Masyarakat Luas

Apabila terbukti secara klinis ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) aman maka dapat dijadikan sebagai alternatif terapi fitofarmaka dalam mengurangi waktu penyembuhan luka dan pembentukan jaringan parut pada ulkus kornea.

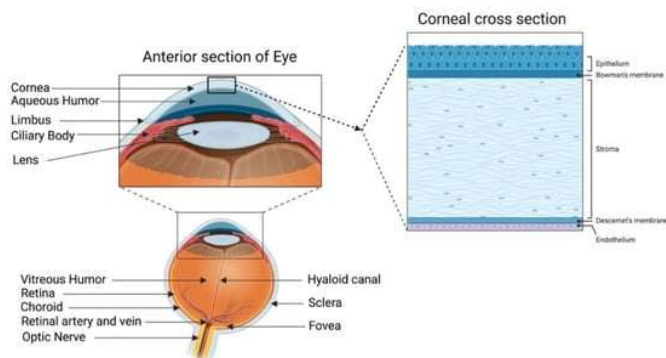
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kornea

2.1.1 Anatomi Kornea

Kornea adalah lapisan terluar mata yang transparan, terletak tepat di anterior bilik mata depan, iris, dan pupil. Kornea terdiri dari lima lapisan: epitel, membran Bowman, stroma, membran Descemet, dan endotel (dari bagian luar ke dalam) seperti yang terlihat pada gambar 1 (Ludwig, *et al.*, 2023). Pada orang dewasa, kornea memiliki ketebalan 0,54 mm di bagian sentral, 0,65 mm di bagian perifer, berdiameter 11,5 mm, dan memiliki kekuatan refraksi 43 dioptri (Eghrari, *et al.*, 2015).



Gambar 1. Potongan melintang kornea (Santra, *et al.*, 2022)

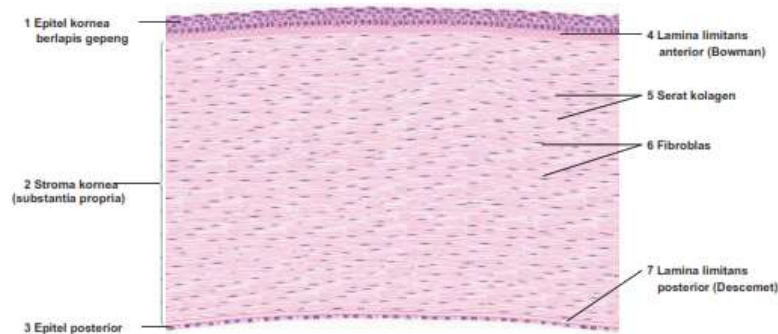
Limbus merupakan area transisi dari sklera ke kornea, dapat dikenali secara makroskopis sebagai area di dekat perbatasan kornea. Struktur limbus terdiri dari sel punca pluripoten yang membantu pembaruan epitel kornea. Kornea adalah salah satu dari sedikit jaringan avaskular

tubuh. Tidak ada pembuluh darah pada kornea yang sehat. Arteri sirkulus limbus merupakan pembuluh darah yang menjalar dan memasok nutrisi ke kornea perifer, pembuluh darah tersebut terletak di limbus. Pelebaran pada pembuluh darah ini merupakan tanda peradangan pada kornea dan struktur mata di dalamnya (Sitorus, *et al.*, 2017).

Nervus trigeminus (N. V) menginervasi kornea, dengan ujung saraf sensorik yang berasal dari nervus siliaris longus yang membentuk pleksus subepitel. Jika dibandingkan dengan jaringan tubuh lainnya, kornea memiliki kepadatan ujung saraf sensorik terbesar, terutama di bagian tengah kornea. Kepadatan reseptor nyeri pada kornea adalah 300-600 kali lebih besar dibandingkan kulit. Akibat terpaparnya terminal saraf sensorik ini, pengelupasan lapisan epitel kornea dapat menyebabkan rasa nyeri akut yang hebat pada mata (Sitorus, *et al.*, 2017).

2.1.2 Histologi Kornea

Secara mikroskopis, lapisan histologis kornea dipisahkan menjadi lima lapisan: lapisan epitel, membran bowman, lapisan stroma, lapisan membran descemet, dan lapisan endotel seperti yang ditunjukkan pada gambar 2 (Sitorus, *et al.*, 2017).



Gambar 2. Histologi Kornea (Mescher, 2013)

a. Epitel Kornea

Epitel permukaan bertingkat tidak berkeratin, dengan ketebalan lima atau enam lapis, dan menyumbang sekitar 10% dari ketebalan kornea. Sel basal memiliki potensi proliferasi yang kuat dan sangat penting untuk pembaharuan dan perbaikan permukaan kornea. Sel ini berasal dari sel punca di limbus korneoskleral yang mengelilingi kornea. Mikrovili menonjol dari sel permukaan yang rata dan membentuk lapisan air mata yang terdiri dari lipid, glikoprotein, dan air. Adaptasi pertahanan lainnya dari lapisan ini adalah epitel kornea memiliki salah satu suplai saraf sensorik yang paling melimpah di antara jaringan lainnya (Mescher, 2013).

b. Membran Bowman

Membran basal epitel atau yang dikenal sebagai membran Bowman, memiliki ketebalan sekitar 8-10 μm dan membantu kestabilan serta kekuatan kornea, sehingga membantu perlindungan terhadap infeksi pada stroma di bawahnya (Mescher, 2013). Ketika terjadi trauma, membran Bowman tidak bisa beregenerasi dan dapat menyebabkan terbentuknya jaringan parut (Sridhar, 2018).

c. Lapisan Stroma

Stroma kornea adalah bagian terbesar dari struktural penyusun kornea, dengan ketebalan sekitar 80-85 persen dari total tebal kornea. Stroma memiliki karakteristik transparan sebagai hasil dari struktur serat stroma dan matriks ekstraseluler (ECM) yang tepat. Kolagen tipe I mendominasi di dalam fibril kornea. Stroma juga mengandung kolagen Tipe VI dan Tipe XII. Keratosit merupakan sel utama pada stroma yang mensintesis molekul kolagen dan glikosaminoglikan, serta menciptakan *metalloproteinase* (MMP) yang penting untuk menjaga homeostasis stroma (Sridhar, 2018).

d. Membran Descemet

Membran Descemet adalah struktur dengan ukuran 7μ dan terus-menerus diekskresikan oleh sel endotel. Kolagen tipe IV dan laminin adalah komponen pembentuk strukturnya (Sridhar, 2018). Sel endotel membutuhkan struktur ini sebagai lapisan dasarnya (Akbar, *et al.*, 2019).

e. Lapisan Endotel

Lapisan Endotel adalah lapisan tunggal dengan tebal 5μ . Membran lateral pada lapisan endotel mengandung pompa ATPase Na-K dengan kepadatan tinggi yang merupakan salah satu sistem transportasi yang paling penting bersama dengan jalur karbonat anhidrase seluler (Sridhar, 2018). Aktivitas pada kedua jalur ini memainkan peran penting dalam menjaga transparansi kornea dengan memompa air dari stroma ke aqueous humor dan menjaga stroma tetap dalam kondisi terhidrasi hingga 70% (Delshad dan Chun, 2013).

2.1.3 Histologi Lapisan Air Mata Prekorneal

Permukaan okular diselimuti oleh film air mata yang berperan penting dalam melindungi mata dari lingkungan eksternal, memfasilitasi pelumasan permukaan okular, memastikan permukaan yang seragam untuk pembelokan cahaya yang optimal, dan menjaga kesehatan konjungtiva dan kornea avaskular. Volume lapisan air mata berkisar antara 3 hingga $10\mu\text{L}$, dengan ketebalan $3\mu\text{m}$. Air mata disekresikan dengan kecepatan 1 hingga $2\mu\text{L}$ per menit (Chang dan Purt, 2023).

Lapisan air mata menunjukkan heterogenitas dan dikategorikan ke dalam tiga lapisan terpisah, yaitu lapisan musin bagian dalam, lapisan aqueos bagian tengah, dan lapisan lipid bagian luar. Namun demikian, perlu dicatat bahwa ada tingkat tumpang tindih dan integrasi tertentu di antara berbagai lapisan tersebut. Komponen utama lapisan air mata

adalah fase berair yang mengandung jumlah musin yang berbeda-beda, tergantung pada lapisan tertentu, bersama dengan lapisan lipid permukaan yang tebalnya sekitar 50-100 nm (Chang dan Purt, 2023).

Lapisan air mata memiliki beberapa fungsi penting, yaitu memberikan pelumasan pada permukaan okular dan kelopak mata, bertindak sebagai mekanisme pertahanan terhadap agen mikroba, memastikan permukaan okular yang halus untuk pembiasan yang optimal, dan memberi makan epitel kornea avaskular dengan oksigen dan nutrisi penting. Lapisan air mata berfungsi sebagai pelindung yang sangat penting, memisahkan permukaan mata dari lingkungan luar, dan memiliki kemampuan antibakteri yang melekat. Lapisan air mata mengandung banyak komponen antimikroba dalam lapisan airnya, seperti lisozim, laktoferin, transferin, ceruloplasmin, IgA, IgG, IgE, komplemen, glikoprotein, dan anti-proteinase. (Chang dan Purt, 2023).

Lisozim menunjukkan sifat bakteriolitik dengan cara menghidrolisis dinding sel bakteri yang tersusun dari peptidoglikan. Konsentrasinya paling menonjol dalam air mata dibandingkan dengan cairan fisiologis lainnya. Laktoferin berfungsi dengan membentuk kompleks dengan zat besi, secara efektif menangkapnya dari bakteri yang mengandalkannya untuk proses metabolisme dan perkembangbiakannya. Immunoglobulin adalah komponen penting dalam respon imun terhadap patogen bakteri, virus, dan parasit. Alfa-lisin adalah senyawa antibakteri tambahan yang terdapat dalam air mata dan bertanggung jawab untuk menginduksi pecahnya sel (Chang dan Purt, 2023).

Mekanisme pertahanan okular melibatkan sekresi mukus dan glikoprotein oleh sel goblet. Zat-zat ini berfungsi sebagai reseptor umpan untuk bakteri, sehingga menghambat perlekatannya pada jaringan okular. Selain itu, zat ini juga memiliki kemampuan untuk menjebak bakteri atau benda asing, sehingga berkontribusi lebih jauh

terhadap pertahanan mata. Selain itu, IgA terlokalisasi dan terkonsentrasi di permukaan mukosa yang merupakan tempat di mana terdapat keberadaan bakteri (Chang dan Purt, 2023).

2.1.4 Fisiologi Kornea

Kornea berfungsi sebagai lapisan pertahanan dan media optik yang memfasilitasi transmisi sinar cahaya menuju retina. Alasan kornea menjadi tembus cahaya dapat dikaitkan dengan komposisinya yang uniform, avaskuler, dan deturgens. Pemeliharaan deturgensi yang mengacu pada dehidrasi relatif jaringan kornea, dicapai melalui pengoperasian "pompa" bikarbonat aktif yang terletak di endotel, serta fungsi sawar epitel dan endotel. Peran endotel lebih besar daripada epitel dalam mekanisme dehidrasi ini, dengan efek merugikan dari kerusakan kimiawi atau fisik yang lebih jelas pada endotel dibandingkan dengan epitel. Kerusakan sel endotel menyebabkan terjadinya edema kornea dan hilangnya transparansi. Sebaliknya, cedera pada epitel hanya menyebabkan pembengkakan lokal sementara pada stroma kornea yang akan sembuh setelah sel epitel mengalami regenerasi. Proses penguapan air dari lapisan air mata prakornea menyebabkan sedikit peningkatan konsentrasi zat terlarut dalam lapisan air mata. Hipertonisitas ini dapat berkontribusi pada pergerakan air dari lapisan luar kornea yang dikenal sebagai stroma kornea superfisial, dan membantu mempertahankan kondisi dehidrasi (PERDAMI, 2019).

Proses penetrasi obat melalui kornea yang utuh menunjukkan sifat bifasik. Senyawa lipofilik memiliki kemampuan untuk melintasi sawar epitel yang utuh, sedangkan senyawa hidrofilik dapat menembus lapisan stroma yang utuh. Oleh karena itu, untuk penetrasi kornea yang efektif, obat harus memiliki sifat lipofilik dan hidrofilik secara bersamaan. Epitel berfungsi sebagai penghalang yang sangat efektif, mencegah infiltrasi patogen ke dalam kornea. Namun demikian, jika terjadi cedera kornea, lapisan stroma dan membran Bowman menjadi

rentan terhadap infeksi yang disebabkan oleh berbagai macam mikroorganisme, termasuk bakteri, virus, amuba, dan jamur (PERDAMI, 2019).

2.2 Anatomi dan Histologi Kornea Kelinci

Kornea kelinci menunjukkan keunggulan yang menonjol, ditandai dengan dimensi horizontal berukuran 15 mm dan dimensi vertikal berkisar antara 13,5 hingga 14 mm. Ketebalan epitel pada kelinci relatif lebih kecil dibandingkan dengan manusia, berukuran sekitar 30 hingga 40 μm . Epitel ini terdiri dari satu lapisan sel basal kolumnar memanjang yang terletak di bawah tiga hingga lima lapisan sel sayap dan permukaan. Deposisi membran Descemet terus berlanjut selama masa hidup individu, menghasilkan peningkatan ketebalan yang progresif. Biasanya, membran ini memiliki ketebalan sekitar 7 atau 8 μm , meskipun dapat mencapai 15 μm pada individu yang lebih tua. Bentuk sel endotel adalah heksagonal, dengan diameter sekitar 20 μm . Sel-sel ini memiliki kepadatan sekitar 326/mm². Tidak seperti sel endotel yang terlihat pada manusia, monyet, dan kucing, sel-sel ini menunjukkan kapasitas regenerasi. Persarafan kornea terjadi melalui saraf siliaris yang memanjang ke arah anterior dari badan siliaris ke limbus yang terletak di antara sklera dan koroid. Kornea manusia dipersarafi oleh 82 bundel saraf, sedangkan kornea kelinci dipersarafi oleh 65 bundel saraf (Peiffer, *et al.*, 2013).

2.3 Ulkus Kornea

2.3.1 Definisi

Ulkus kornea adalah keadaan patologis yang ditandai dengan infiltrat supuratif dan defek kornea yang bergaung, serta diskontinuitas pada jaringan kornea yang dapat terjadi mulai dari epitel hingga ke stroma (Mahardika dan Himayani, 2019).

2.3.2 Etiologi

a. Bakteri

Terdapat tiga bakteri yang paling sering menjadi penyebab terjadinya ulkus kornea bakteri, yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococci* (Salmon, 2020).

b. Viral

Herpes simplex virus (HSV) merupakan faktor etiologi yang umum untuk keratitis virus dan merupakan penyebab utama kebutaan kornea menular unilateral di negara maju. Keratitis virus juga dapat disebabkan oleh *varicella-zoster* dan *cytomegalovirus*, meskipun dengan prevalensi yang lebih rendah (Byrd dan Martin, 2022).

c. Fungi

Infeksi kornea yang disebabkan oleh jamur hanya sekitar 5 hingga 10% dari total kasus. Kondisi mata ini sering ditemukan di daerah dengan suhu dan tingkat kelembapan yang lebih tinggi, dan sebagian besar dipicu oleh luka pada kornea yang diikuti oleh kontak dengan bahan tanaman atau sayuran. Organisme yang paling sering dikaitkan dengan kondisi ini adalah *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium apiospermum*, *Phaeohiphmyces*, *Candida albicans*, dan berbagai spesies *Candida* lainnya (Byrd dan Martin, 2022).

d. Protozoa

Acanthamoeba adalah mikroorganisme eukariotik yang hidup secara mandiri, umumnya ditemukan di lingkungan air tawar dan tanah. Organisme khusus ini berpotensi menyebabkan keratitis dan ulkus kornea yang umumnya memengaruhi individu yang memakai lensa kontak (Byrd dan Martin, 2022).

e. *Autoimmune disease*

Meskipun sebagian besar ulkus kornea disebabkan oleh infeksi, namun sangat penting untuk memiliki kemampuan untuk mengidentifikasi etiologi ulkus kornea yang tidak menular. *Peripheral ulcerative keratitis* (PUK) adalah jenis keratitis noninfeksi yang umumnya ditemukan bersamaan dengan beberapa penyakit sistemik. Setelah uveitis anterior, PUK muncul sebagai konsekuensi okular paling umum kedua yang terkait dengan penyakit autoimun. Penyakit pembuluh darah kolagen merupakan hampir setengah dari semua kasus keratitis ulseratif perifer, dengan artritis reumatoid sebagai kondisi yang paling sering dikaitkan. PUK menunjukkan korelasi dengan beberapa kondisi medis, yaitu granulomatosis Wegener, polikondritis rekuren, poliarteritis nodosa, sindrom Churg-Strauss, dan polangiitis mikroskopis (Byrd dan Martin, 2022).

2.3.3 Patogenesis Ulkus Kornea

a. Bakteri

1) Adhesi

Infeksi bakteri dimulai melalui interaksi antara bakteri dan reseptor permukaan sel inang yang difasilitasi oleh berbagai adhesin yang memungkinkan perlekatan bakteri pada sel epitel mata. Adhesin mikroba telah ditemukan tidak hanya memfasilitasi perlekatan bakteri pada permukaan sel epitel, tetapi juga dapat secara aktif berkontribusi pada perkembangan proses patogen. Sel-sel bakteri memiliki berbagai adhesin permukaan, termasuk pili atau fimbriae yang memfasilitasi pengenalan karbohidrat atau protein tertentu yang ada di permukaan sel inang. Adhesi *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, dan *Staphylococcus aureus* pada epitel kornea yang rusak lebih besar dibandingkan dengan spesies bakteri lainnya. Fenomena ini berkontribusi pada

seringnya bakteri ini diidentifikasi pada kasus keratitis (Lakhundi, *et al.*, 2017).

2) Invasi Bakteri dan Efek Sitotoksik

Setelah menempel pada permukaan epitel, patogen akan menyusup ke dalam stroma kornea. Proses invasi difasilitasi oleh aksi protease dan eksotoksin yang menyebabkan kerusakan membran basal dan matriks ekstraseluler, dan pada akhirnya berujung pada lisis sel. Beberapa eksotoksin, seperti hemolisin dan fosfolipase yang stabil terhadap panas, terlibat dalam proses invasi bakteri ke dalam kornea yang menyebabkan nekrosis stroma. Setelah inisiasi invasi bakteri ke dalam kornea, infeksi berlanjut dengan cepat menuju pencairan kornea yang difasilitasi oleh protease bakteri. Proses ini disertai dengan aktivasi metaloprotease dan stimulasi respon imun yang menyebabkan kerusakan tambahan melalui pelepasan intermediet oksigen reaktif dan protease inang. Protease memainkan peran penting dalam perkembangan keratitis dengan memfasilitasi degradasi beberapa komponen seperti membran basal, laminin, proteoglikan, kolagen, dan matriks ekstraseluler (Lakhundi, *et al.*, 2017).

Sel epitel kornea menunjukkan pengenalan bakteri Gram-positif melalui aktivasi *Toll-like reseptor* (TLR). Aktivasi TLR2 oleh bakteri telah dikaitkan dengan perekrutan leukosit polimorfonuklear (PMN) ke tempat keratitis *Staphylococcus aureus*. *Human corneal epithelial cells* (HCEC) telah diamati mengekspresikan TLR2 dan menunjukkan respons terhadap *Staphylococcus aureus* hidup, protein yang disekresikan, dan peptidoglikan di laboratorium. Namun, asam lipoteikoat tidak menimbulkan respons yang sama. Respons ini ditandai dengan aktivasi *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) dan jalur

pensinyalan *nuclear factor-kappaB* (NF- κ B). Secara signifikan, HCEC ditemukan menunjukkan ekspresi dan sekresi sitokin proinflamasi, termasuk IL-6, IL-8, dan TNF- α . Mediator-mediator ini memiliki kemampuan untuk menarik leukosit PMN inflamasi ke lokasi infeksi (Livingston, *et al.*, 2019).

3) Nekrosis Stroma dan Produksi Infiltrat Cincin

Eksotoksin dan protease bakteri secara konsisten dan aktif disekresikan selama proliferasi bakteri. Toxin dan enzim memiliki kemampuan untuk bertahan di dalam kornea dalam jangka waktu yang lama, sehingga mengakibatkan kerusakan yang berkelanjutan pada lapisan stroma dan potensi gangguan fungsi penglihatan. Mayoritas eksotoksin menunjukkan sensitivitas terhadap panas dan memiliki karakteristik antigenik. Pelepasan lipopolisakarida (LPS), endotoksin yang terletak di dinding sel bakteri gram negatif, menyebabkan pembentukan cincin stroma. Pembentukan cincin ini ditandai dengan adanya leukosit polimorfonuklear di dalam stroma kornea yang ditarik melalui kemotaksis yang dimediasi melalui jalur komplemen alternatif (Lakhundi, *et al.*, 2017).

4) Pembentukan Jaringan Parut

Abrasi yang parah berpotensi mengganggu membran basal dan membran Bowman, yang mengakibatkan kontak antara lapisan epitel dan stroma kornea. Kontak ini memicu proses penyembuhan luka yang rumit. Selama proses awal penyembuhan luka, hormon pertumbuhan seperti *fibroblast growth factor* (FGF), *epidermal growth factor* (EGF), dan *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), melewati membran Bowman yang rusak dari lapisan air mata untuk mencapai lapisan stroma kornea. Di dalam lapisan epitel, sel-sel epitel

yang rusak mengalami kematian, migrasi, dan proliferasi. Kadar *interleukin-1* (IL-1) meningkat pada lapisan epitel setelah terjadi cedera. Akibatnya, IL-1 melintasi membran Bowman yang rusak dan menyusup ke lapisan stroma, memainkan peran penting dalam penghancuran keratosit (Ghosh, *et al.*, 2022).

Di dalam lapisan stroma, kerusakan kornea menyebabkan peningkatan regulasi integrin $\alpha V\beta/\alpha\beta$ yang terikat pada membran keratosit dan metaloprotease yang berbeda, termasuk matriks metaloproteinase 2 (MMP2) dan MMP9. Proses ini secara kolektif memicu aktivasi *transforming growth factor beta* (TGF- β) dari keadaan tidak aktif. Neutrofil, monosit, dan makrofag bermigrasi ke daerah yang terluka sebagai bagian dari proses penyembuhan luka. Mereka dapat diintegrasikan ke dalam struktur seperti DNA berserat yang disebut perangkap ekstraseluler neutrofil ECM, atau mereka dapat melepaskan TGF- β , sehingga meningkatkan kadar TGF- β di lapisan stroma. Dengan demikian, TGF- β memegang kendali atas proses penyembuhan luka kornea. Keratosit dalam keadaan istirahat menjalani proses yang disebut transdiferensiasi, ketika mereka berubah menjadi miofibroblas. Miofibroblas adalah sel yang lebih besar dengan bentuk seperti gelendong, dan diidentifikasi oleh protein *alpha-smooth muscle actin* (α -SMA) yang baru diekspresikan ketika TGF- β hadir. Masuknya α -SMA ke dalam ECM kornea akan menghasilkan gaya yang menyebabkan fibril kolagen kehilangan susunan tegak lurusnya, sehingga terjadi perubahan pada kelengkungan kornea (Ghosh, *et al.*, 2022).

TGF- β dalam bentuk aktifnya awalnya menempel pada reseptor TGF- β tipe I/II (TBRI/II) yang terletak di membran

plasma keratosit. Aktivasi ini memicu kaskade pensinyalan yang bergantung pada SMAD di bagian hilir. Hal ini meningkatkan ekspresi banyak gen fibrotik, termasuk MMP dan faktor pertumbuhan jaringan ikat (CTGF). Selain TGF- β , beberapa neuropeptida, termasuk peptida yang berhubungan dengan gen kalsitonin, peptida usus vasoaktif, dan substansi P (SP), dilepaskan dari ujung saraf aksonal lapisan epitel kornea. Neuropeptida melintasi membran Bowman yang rusak untuk mengakses lapisan stroma kornea.

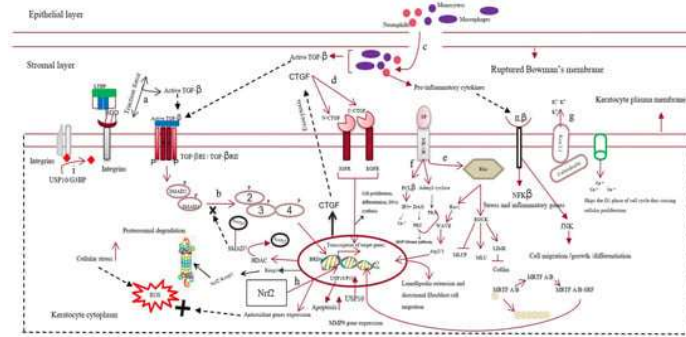
Substansi P menempel pada reseptor neurokinin 1 (NK1R) yang ditemukan pada keratosit dan memicu aktivasi tiga jalur sinyal yang berbeda. Kompleks SP/NK1R menstimulasi jalur RhoA/ROCK, yang mengarah ke fosforilasi LIM kinase (LIMK). Hal ini menghambat aktivitas cofilin, enzim yang memecah aktin, sehingga membatasi pemecahan aktin dan meningkatkan pembentukan polimer aktin.

Aktin terutama tetap terkait dengan faktor transkripsi terkait miokardin A/B (MRTFA/B). Namun, polimerisasi aktin yang ditingkatkan memungkinkan faktor transkripsi terkait miokardin A/B (MRTFA/B) berinteraksi dengan faktor respons serum, yang mengarah pada aktivasi gen profibrotik, termasuk MMP. Kompleks SP/NK-IR menstimulasi fosfolipase C-beta dan adenylyl cyclase, yang menyebabkan peningkatan kadar kalsium intraseluler dan konsentrasi adenosin monofosfat siklik (cAMP). Hal ini merangsang protein kinase A, yang pada gilirannya memicu jalur protein kinase yang diaktifkan oleh sinyal ekstraseluler yang diatur oleh protein kinase yang diaktifkan oleh mitogen (ERK / MAPK), yang mengarah pada peningkatan proliferasi keratosit dan sel fibroblas.

Konsentrasi ion Ca^{2+} yang meningkat berinteraksi dengan calmodulin dan berasosiasi dengan saluran ion Kca3.1 dari keratosit, menghasilkan hiperpolarisasi sel. Hal ini menyebabkan sel melewati fase G1 dari siklus sel, yang menstimulasi proliferasi sel fibrotik. Stres seluler menyebabkan peningkatan kadar spesies oksigen reaktif intraseluler (ROS), yang pada gilirannya memicu umpan balik positif dengan pelepasan beberapa faktor pertumbuhan, termasuk TGF- β dan sitokin proinflamasi.

Interleukin 10 (IL-10), sitokin yang mendorong peradangan, menempel pada reseptor spesifiknya dan menstimulasi jalur NF- $\kappa\beta$, yang mengarah pada peningkatan regulasi stres dan gen lain yang terkait dengan peradangan. TGF- β meningkatkan ekspresi protein yang mengandung bromodomain 4 (BRD4), sehingga meningkatkan ekspresi protein yang berhubungan dengan ECH 1 (keap1). Keap1 memiliki potensi untuk menempel pada gen antioksidan *nuclear factor-erythroid 2-related factor 2* (Nrf-2) dan mengalami degradasi proteasom.

Ekspresi gen peptidase spesifik ubiquitin-10 (USP10) diregulasi sebagai respons terhadap stres seluler. Gen USP10 meningkatkan stabilitas p53, yang menyebabkan peningkatan terjadinya apoptosis pada keratosit yang terluka. Selain itu, gen ini melakukan fungsi deubiquitinasi integrin, sehingga berperan dalam aktivasi TGF- β dan perkembangan fibrosis. Sel-sel apoptosis juga mengeluarkan TGF- β dan sitokin inflamasi lainnya, sehingga menyelesaikan siklus fibrosis (Ghosh, *et al.*, 2022).



Gambar 3. Mekanisme Pembentukan Jaringan Parut Pada Kornea (Ghosh, *et al.*, 2022)

Rangkaian sinyal yang rumit menunjukkan proses penyembuhan luka kornea dan jaringan parut. Jaringan parut kornea tetap ada setelah luka sayatan sembuh, sehingga memperparah penyakit. Setelah penyembuhan luka, keratosit kembali ke kondisi tidak aktif, sementara sel-sel kekebalan menghilang. Namun demikian, membran Bowman yang rusak tidak mengalami regenerasi karena potensi regenerasinya yang terbatas. Hal ini mengakibatkan infiltrasi vesikula ekstraseluler dan sel fibroblas yang terus berlanjut ke dalam lapisan stroma, sehingga terjadi akumulasi TGF- β dan renovasi berulang pada ECM kornea. Akibatnya, kornea yang mengalami pembentukan jaringan parut merupakan hasil langsung dari proses penyembuhan luka kornea yang kompleks (Ghosh, *et al.*, 2022).

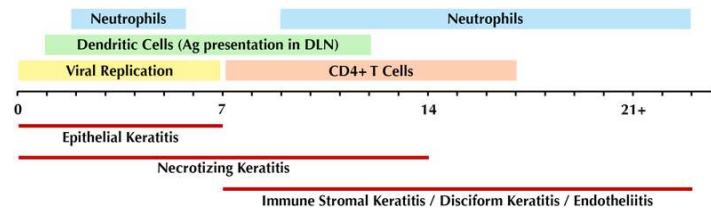
Ketajaman penglihatan yang optimal membutuhkan matriks ekstraseluler (ECM) yang kuat pada stroma kornea. Proses penyembuhan luka melibatkan penggantian jaringan stroma yang jernih dan tembus cahaya dengan jaringan fibrotik yang memiliki susunan fibril kolagen yang tidak beraturan dan jumlah proteoglikan yang bervariasi. Terdapat peningkatan produksi kondroitin sulfat, hialuronat, dan biglycan, sedangkan

produksi keratin sulfat dan lumican, yang diperlukan untuk menjaga transparansi kornea, berkurang. Matriks ekstraseluler kornea (ECM) yang baru saja dimodifikasi menjadi tidak teratur dan menunjukkan kelengkungan yang tidak normal. Selain itu, kekuatan dan fleksibilitasnya juga berkurang. Cahaya yang datang tersebar ke berbagai arah akibat pembiasan, sehingga mengakibatkan kurangnya fokus pada retina dan menyebabkan gangguan penglihatan (Ghosh, *et al.*, 2022).

b. Viral

1) Keratitis Epitel

HSV menginfeksi sel-sel epitel kornea dan bermanifestasi sebagai keratopati punctate, lalu kemudian menyatu menjadi keratitis dendritik ketika virus menyebar dari sel ke sel, mungkin mengikuti pola pleksus subbasal saraf kornea untuk membuat lesi bercabang. Virus yang bereplikasi secara aktif umumnya ditemukan di perbatasan atau umbi terminal lesi dendritik atau ulkus. Kerusakan ini selanjutnya dapat berkembang untuk membentuk ulkus geografis, ditandai dengan daerah pusat sel-sel mati yang membesar. Dalam 12-24 jam infeksi saat replikasi virus terjadi seperti yang ditunjukkan pada gambar 4, sel epitel membengkak menyebabkan gangguan lapisan superfisial sehingga terjadi lisis sel. Dalam kultur sel HSV, sel epitel kornea yang terinfeksi mulai membentuk syncytia menyerupai penampilan klinis lesi dendritik. Penyebaran sel ke sel ini memungkinkan HSV untuk menghindari sistem kekebalan tubuh (Lobo, *et al.*, 2019).



Gambar 4. Garis Waktu Perjalanan Klinis dan Patogenesis Keratitis HSV (Lobo, *et al.*, 2019).

Interferon tipe I (IFN-A/B) yang diproduksi oleh sel epitel kornea yang terinfeksi membatasi penyebaran virus dengan mengurangi kerentanan sel-sel yang berdekatan terhadap masuknya dan produksi virus. HSV spesifik IgG dan IgA hadir dalam lapisan air mata dan stroma juga dapat membantu mencegah penyebaran virus di epitel selama tahap ini berlangsung. Lesi ini sering sembuh secara spontan, namun dalam kasus *immunocompromise* atau penggunaan kortikosteroid yang tidak tepat, penyebaran virus yang tidak terkendali dapat menyebabkan penetrasi dan pecahnya membran basal serta inisiasi penyakit stroma (Lobo, *et al.*, 2019).

2) Keratitis Stroma

Herpes stromal keratitis (HSK) terutama peradangan yang dimediasi sistem imun meskipun partikel virus dapat bertahan dalam keadaan laten atau aktif di stroma kornea atau dapat menyebar dari infeksi epitel. Kondisi HSK ditandai dengan interaksi antara sel kornea yang terinfeksi HSV dan infiltrasi sel inflamasi. HSK umumnya merupakan hasil dari infeksi berulang, dimana virus yang secara laten tersimpan di ganglia trigeminal akan aktif kembali dan menjalar di sepanjang saraf kornea dengan cara retrogradasi untuk menginfeksi kornea (Lobo, *et al.*, 2019).

Replikasi virus di kornea memicu sinyal imun bawaan dengan produksi sitokin dan kemokin oleh sel epitel dan stroma kornea. Dimulai dalam waktu 24 jam, terdapat masuknya sel inflamasi, terutama neutrofil, tetapi juga terdapat sel *Natural Killer* (NK), sel dendritik, dan makrofag yang pada tahap ini berfungsi membatasi penyebaran virus di dalam jaringan. Sel dendritik adalah sel penyaji antigen utama yang memfagosit partikel virus dan sel yang terinfeksi dan melacak ke kelenjar getah bening yang mengering untuk menghasilkan respon imun adaptif (Lobo, *et al.*, 2019).

Dimulai pada 7 hari setelah infeksi, dan mencapai puncaknya pada 1421 hari, sel T CD4⁺ mencapai kornea, bertepatan dengan fase klinis penyakit seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4. Sel T CD4⁺ menghasilkan berbagai sitokin seperti IFN- γ dan IL-17 yang mendorong infiltrasi dan aktivasi gelombang kedua neutrofil yang dianggap lebih patogen. Produksi lebih lanjut dari sitokin dan protease pengurai matriks ekstraseluler oleh neutrofil ini mendorong karakteristik peradangan dan kerusakan jaringan yang terlihat pada HSK. Rekrutmen sel inflamasi menyebabkan kekeruhan kornea yang mengaburkan aksis visual dan dapat menyebabkan kebutaan (Lobo, *et al.*, 2019).

3) Endotelitis/Uveitis

Endotelitis HSV sering terjadi bersamaan dengan keratitis stroma atau uveitis. DNA HSV telah terdeteksi pada sel endotel, cairan *aquos*, dan jaringan trabekular pasien endotelitis HSV atau uveitis. HSV telah ditemukan menyerang sel endotel dengan pengurangan kepadatan sel dan pleomorfisme. Pada pemeriksaan mikroskopis telah diidentifikasi pseudoguttata, infiltrasi sel inflamasi dan pembesaran celah antar sel serta

penurunan densitas sel endotel secara keseluruhan pada mata yang terkena endolitis HSV (Lobo, *et al.*, 2019).

c. Fungi

1) Evasi Sistem Imun

Semua patogen jamur utama menghasilkan spora aseksual (konidia) yang dimasukkan ke dalam lapisan air mata dan permukaan mata dari lingkungan. Permukaan sel konidia *Aspergillus* dan *Fusarium* ditutupi oleh hidrofobion pelindung dan lapisan batang yang membantu melindungi protein permukaan sel jamur yang sangat imunogenik, yaitu β -glukan dan α -mannon (yang dikenal sebagai *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs)) dari pengenalan sel imun. Tidak adanya gen (rodA) yang mengkode protein rodlet telah terbukti meningkatkan kerentanan jamur terhadap respons imun. Namun, meskipun terdapat lapisan pelindung, konidia masih dapat dikenali oleh mediator yang dapat larut dalam inang seperti faktor komplemen C-3, SP-A dan SP-D (Mills, *et al.*, 2021).

Selain itu, jamur memiliki pigmen melanin pada dinding sel yang berdekatan dengan lapisan rodlet. Dihydroxynaphthalene (DHN) - melanin dan dihydroxyphenylalanine (DOPA) - melanin adalah dua jenis pigmen melanin utama dalam dinding sel jamur, dan penelitian *in vitro* serta *in vivo* telah menunjukkan bahwa keberadaan pigmen ini memberikan perlindungan terhadap kerusakan akibat radiasi sinar UV lingkungan dan fagosit sel imun. Melanin juga dapat memblokir faktor komplemen, seperti C3 agar tidak berikatan dengan antigen jamur dan dengan demikian mengurangi opsonisasi yang dimediasi oleh komplemen. Pigmen ini juga dapat menahan efek fungisida terhadap obat antijamur seperti

terbinafin dan amfoterisin B. Konsentrasi pigmen melanin menurun seiring dengan perkecambahan konidia, sehingga lapisan konidia dan produksi melanin jamur berperan penting dalam kelangsungan hidup pada tahap pertumbuhan konidia (Mills, *et al.*, 2021).

2) Adhesi

Hidrofobin dan protein permukaan sel konidia lainnya memediasi kepatuhan sel inang. Lapisan fibril luar dari ragi dan konidia jamur berfilamen terdiri dari *lectin like proteins* mannan dan galaktomannan yang mengenali glikoprotein mannose dalam abrasi epitel kornea menyebabkan peningkatan ekspresi glikoprotein mannose permukaan sel sebagai bagian dari respons penyembuhan luka, sehingga meningkatkan ketersediaan reseptor permukaan sel ini. Epitel kornea juga memiliki tempat pengikatan jamur lainnya, seperti fibronectin, kolagen, dan laminin (Mills, *et al.*, 2021).

3) Morfogenesis

Morfogenesis adalah kemampuan patogen jamur untuk beralih dari ragi ke bentuk hifa. Meskipun patogen dapat menyebar lebih efisien selama tahap ragi, bentuk hifa beradaptasi dengan baik untuk menyerang dan merusak jaringan. Setelah menempel pada epitel kornea dan lingkungan mikro yang menguntungkan, seperti ketersediaan nutrisi dan suhu, konidia membengkak dan mulai berkecambah, menghasilkan hifa jamur. Hifa mampu tumbuh dan melewati epitel, masuk ke stroma dan akhirnya mendapatkan akses ke bilik mata depan jika dibiarkan. *Candida* dan jamur berfilamen juga telah terbukti menyerang epitel kornea melalui endositosis yang dimediasi oleh protein invasi dan melalui gangguan sambungan ketat sel epitel oleh pencernaan preteolitik.

Invasifitas jamur berhubungan dengan jumlah jamur dan berbanding terbalik dengan respon imun pejamu. Meskipun konidia relatif inert dalam menampung mekanisme pengawasan imun, lapisan luar pelindungnya terganggu selama perkecambahan, sehingga polisakarida bagian dalam terekspos yang jauh lebih merangsang imun (Mills, *et al.*, 2021).

4) Produksi Mikotoksin dan Enzim Ekstra Seluler

Sehubungan dengan gangguan fisik pada epitel kornea, stroma, dan endotel yang disebabkan oleh pertumbuhan hifa jamur, jamur memiliki kemampuan untuk menghasilkan faktor virulensi. Faktor-faktor ini terdiri dari enzim ekstraseluler dan metabolit sekunder yang menunjukkan fungsi yang beragam yang pada akhirnya memfasilitasi invasi mereka dengan mendorong degradasi jaringan.

Sintesis dan efek mikotoksin diketahui berbeda di antara isolat yang berbeda dan dapat menunjukkan ekspresi yang bervariasi dalam keadaan *in vitro* dan *in vivo*. Terdapat total 637 protein ekstraseluler dari isolat fungal keratitis (FK) klinis *Aspergillus* yang diproduksi secara *in vitro*. Kelas utama protein yang disekresikan yang telah ditemukan terdiri dari protease, khususnya MMP serta protease serin dan sistein yang memiliki kemampuan untuk merusak jaringan inang. Contoh tambahan enzim ekstraseluler meliputi nuklease, oksidase, katalase, fosfatase, dan peptidase. Secara kolektif, proses-proses ini mengarah pada pemecahan makromolekul yang rumit dan penyediaan nutrisi penting, termasuk asam amino, lipid, dan logam seperti besi, seng, mangan, dan tembaga yang diperoleh jamur melalui pemanfaatan siderofor, yaitu bahan kimia yang memiliki afinitas kuat untuk pengikatan logam yang dilepaskan jamur.

Protease yang disekresikan jamur memiliki potensi untuk merangsang sintesis dan mobilisasi sitokin proinflamasi dan protease inang, sehingga memengaruhi keseimbangan antara protease dan anti-protease dengan cara yang memperparah cedera jaringan (Mills, *et al.*, 2021).

Aspergillus spp. diketahui menghasilkan banyak racun, seperti aflatoksin, gliotoksin A, fumagilin, dan asam helvolat. Spesies *Fusarium* diketahui mensintesis banyak mikotoksin, termasuk nivalenol, toksin T-2, deoxynivalenol, diacetoxyscirpenol, asam fusarat, dan zearalenone. Racun-racun yang disebutkan memberikan efek penghambatan pada beberapa fungsi kekebalan tubuh, termasuk fagositosis, pembunuhan intraseluler, sintesis sitokin, presentasi antigen, dan pembentukan ROS oleh makrofag. Selain itu, masuk akal bahwa mereka memberikan pengaruh penghambatan pada fungsi sel T (Mills, *et al.*, 2021).

Aflatoksin B1, mikotoksin signifikan yang disintesis oleh *Aspergillus*, memiliki toksisitas akut dan kronis pada hewan dan manusia. Generasi isolat *A. flavus* yang diambil dari pasien FK telah terbukti menunjukkan variabilitas yang signifikan, tetapi dengan peningkatan secara keseluruhan dibandingkan dengan strain *A. flavus* yang dikumpulkan dari lingkungan, ketika dibiakkan secara *in vitro*. Penelitian *in vitro* telah menunjukkan bahwa protease yang berasal dari *Candida* mampu mendegradasi komponen komplemen C3 di dalam serum manusia. Selain itu, penelitian terbaru telah menunjukkan kemampuan protease serin jamur untuk secara enzimatis membelah Dectin-1, reseptor permukaan sel imunologis penting yang bertanggung jawab untuk mengenali

β -glukan, komponen penting dari dinding sel jamur (Mills, *et al.*, 2021).

5) Pembentukan Biofilm

Biofilm adalah formasi tiga dimensi yang kompleks yang dibuat oleh satu atau banyak komunitas mikroba. Komunitas ini menghasilkan matriks polimer ekstraseluler, yang disimpan pada permukaan hidup (biotik) dan tidak hidup (abiotik). Ada beberapa spesies penyakit jamur yang memiliki kemampuan untuk mengembangkan biofilm. Ini termasuk *Candida* spp, yaitu *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, dan *C. glabrata*, serta *Aspergillus* spp. dan *Fusarium* spp. Wabah *Fusarium* keratitis yang terjadi pada tahun 2005 hingga 2006 sebagian besar disebabkan oleh pertumbuhan biofilm *Fusarium* pada lensa kontak (Mills, *et al.*, 2021).

Sifat multifaset dari biofilm jamur dan matriks ekstraseluler terlihat dalam berbagai perannya. Biofilm memiliki peran penting dalam memfasilitasi adhesi jamur dan meningkatkan stabilitas struktural, sehingga memberikan perisai pelindung terhadap bahaya eksternal bagi jamur. Berbeda dengan sel yang hidup bebas, biofilm menunjukkan perilaku yang berbeda dalam hal laju pertumbuhan, perubahan ekspresi gen, dan sering menunjukkan resistensi yang tinggi terhadap terapi antijamur dan sistem kekebalan inang (Mills, *et al.*, 2021).

d. *Autoimmune Disease*

1) Imunitas Sel T

Polarisasi respons sel T dan produksi sitokin merupakan faktor penting dalam pertahanan patogen dan perkembangan penyakit imunopatologis. Literatur secara ekstensif meneliti keterlibatan subset sel T dalam patogenesis penyakit autoimun dan

mencapai kesimpulan bahwa hubungan antara peningkatan subset sel T tertentu dengan aktivitas penyakit menunjukkan keterlibatan mereka dalam perkembangan penyakit. Sebagai contoh, ditunjukkan bahwa pasien yang didiagnosis dengan rheumatoid arthritis (RA) menunjukkan jumlah sel CD4 yang lebih tinggi. Selain itu, ada korelasi positif antara stabilitas relatif populasi sel ini dan kronisitas penyakit, yang menunjukkan adanya faktor pemicu yang berkepanjangan. Sel-T memiliki potensi untuk menginduksi patologi baik dengan secara langsung memulai kerusakan jaringan atau dengan terlibat dalam sintesis auto-antibodi dan sitokin proinflamasi yang tidak terkendali (Hassanpour, *et al.*, 2022).

Terdapat banyak bukti yang mendukung keterlibatan imunitas yang dimediasi oleh sel T adaptif dalam proses autoimun yang diamati pada PUK. Terdapat penelitian yang melibatkan tujuh pasien yang didiagnosis dengan ulkus Mooren, di mana pengujian faktor penghambat migrasi makrofag digunakan untuk menyelidiki respons imun seluler terhadap antigen kornea. Sebanyak enam orang memiliki hasil yang positif, yang mengindikasikan adanya potensi keterlibatan imunitas yang diperantarai oleh sel dalam perkembangan ulkus Mooren. Selain itu, dalam sebuah penelitian terpisah, seorang pasien dengan ulkus Mooren bilateral diperiksa. Hasil panel imun menunjukkan nilai yang normal, dengan pengecualian sel T pasien yang menunjukkan respons blastogenik positif setelah terpapar stroma kornea yang khas (Hassanpour, *et al.*, 2022).

Pada patogenesis ulkus Mooren, terdapat ketidakseimbangan dalam faktor regulasi dalam subset sel T tertentu, yang ditandai dengan penurunan jumlah *supressor* sel T CD8 dibandingkan dengan sel T *helper* CD4. Selain itu, juga terdapat keterlibatan

langsung kornea perifer dan limfatik konjungtiva di sekitarnya dalam imunopatogenesis penyakit ini. Sel Th17 yang mengekspresikan IL-17 bersama dengan sitokin lain, termasuk IL-1, IL-6, IL-17, dan IL-23, diketahui memiliki dampak yang signifikan terhadap perkembangan keratitis ulseratif perifer PUK pada pasien yang didiagnosis dengan granulomatosis dengan poliangiitis (GPA) (Hassanpour, *et al.*, 2022).

2) Peran Komplemen dan Imunitas Bawaan

Aktivasi jalur komplemen dapat terjadi melalui dua mekanisme yang berbeda. Pertama, jalur klasik dapat dimulai dengan pembentukan kompleks antigen-antibodi. Kedua, jalur alternatif dapat dipicu oleh pengikatan langsung C3b. Komponen awal dari jalur komplemen klasik, yang dikenal sebagai C1, mengalami aktivasi pada saat interaksi dengan kompleks antigen-antibodi, sehingga memulai kaskade aktivasi komplemen berikutnya. C1 sebagai molekul dengan ukuran yang besar, mengalami keterbatasan dalam kemampuannya untuk berdifusi secara seragam di seluruh kornea. Akibatnya, sebagian besar terlokalisasi di kornea perifer dan limbus. Dengan cara yang sama, IgM yang berukuran 900.000 kali lebih besar dari IgA juga mengalami peningkatan jumlah di daerah perifer kornea.

Setelah aktivasi komplemen dimulai, serangkaian proses terjadi, yang mengarah pada pembentukan polipeptida kecil seperti C3a dan C5a, yang menunjukkan sifat kemotaktik. Dibandingkan dengan C5a, yang telah didokumentasikan secara luas untuk menginduksi respons kemotaktik pada neutrofil dan eosinofil, baru-baru ini dijelaskan bahwa C3a memunculkan aktivasi eosinofil secara selektif, yang akibatnya memicu rangsangan neutrofil melalui IL-8.

Pada akhirnya, sistem komplemen berujung pada perakitan kompleks C5, 6, 7, 8, dan 9 yang bertanggung jawab untuk menginduksi degradasi stroma dan lisis membran seluler. Keterlibatan proses khusus ini telah dihubungkan dengan terjadinya cedera kornea perifer akibat PUK pada artritis reumatoid RA, serta vaskulitis yang berhubungan dengan ANCA. Oleh karena itu, hal ini dianggap sebagai target terapi yang prospektif (Hassanpour, *et al.*, 2022).

3) Peran Sel B dan Antibodi

IgM menunjukkan kadar yang lebih tinggi di bagian luar kornea karena ukuran molekulnya yang lebih besar dan kemampuannya yang terbatas untuk berdifusi ke bagian tengah. Individu yang didiagnosis dengan RA menunjukkan gangguan pada toleransi sel B mereka terhadap antigen, yang mengakibatkan produksi antibodi IgM serum yang secara khusus menargetkan molekul IgG mereka sendiri, umumnya disebut sebagai faktor reumatoid. Penumpukan kompleks imun pada kornea perifer dapat menyebabkan aktivasi sistem komplemen, yang kemudian menyebabkan inflamasi dan ulserasi kornea, seperti yang telah dijelaskan di atas. Selain itu, telah diamati bahwa antibodi protein anti-citrullinated (anti-CCP), yang juga terdapat pada individu yang didiagnosis dengan RA, berkorelasi dengan manifestasi okular yang lebih parah (Hassanpour, *et al.*, 2022).

4) Peran Metalloproteinase

Stroma kornea terdiri atas lamela kolagen terstruktur yang tertanam di dalam kerangka glikosaminoglikan. Ruang interlamela mencakup beberapa komponen seluler, termasuk makrofag, limfosit, leukosit polimorfonuklear, dan fibroblas

yang biasa disebut sebagai keratinosit. Matrix metalloproteinase (MMP) mewakili sekelompok endopeptidase, yang merupakan enzim proteolitik yang bertanggung jawab atas penghancuran dan disintegrasi beberapa komponen di dalam matriks ekstraseluler. Fungsi enzimatik dari MMP sering kali diatur oleh keberadaan *tissue inhibitor of metalloproteinases* (TIMP). Ketidakseimbangan dan berkurangnya ekspresi TIMP menyebabkan peningkatan aktivitas kolagenase yang pada gilirannya berkontribusi pada peningkatan degradasi jaringan dan pembentukan ulkus. Meskipun banyak subset dari MMP menunjukkan kekhususan substrat yang berbeda, mereka memiliki mekanisme kerja dan karakteristik struktural yang sama. Matriks metalloproteinase (MMP) dapat dikategorikan berdasarkan spesifisitas substrat dan susunan strukturalnya. Kategori ini meliputi kolagenase (MMP-1, -8, dan -13), gelatinase (MMP-2, -9), stromelysin (MMP-3, -10), matrilysin (MMP-7, -26), MMP tipe membran (MT1eMT6-MMP), dan tipe lain seperti makrofag metalloelastase MMP-12 atau enamelysin MMP-20 (Hassanpour, *et al.*, 2022).

2.3.4 Faktor Risiko

Faktor risiko dari ulkus kornea, antara lain (Salmon, 2020):

- a. **Pemakaian lensa kontak**, terutama bila dipakai dalam jangka waktu lama, merupakan faktor risiko utama yang paling penting. Hal ini dapat terjadi karena kerusakan kornea akibat hipoksi dan trauma ringan, serta perlekatan bakteri pada permukaan lensa. Individu yang menggunakan *soft lense* lebih rentan terhadap peningkatan risiko dibandingkan dengan mereka yang memilih jenis lensa gas permeable yang kaku dan jenis lensa lainnya. Kemungkinan infeksi meningkat pada kasus kebersihan lensa yang tidak memadai, meskipun penting untuk menjadi catatan bahwa

infeksi masih dapat terjadi meskipun praktik perawatan lensa yang rajin dan penggunaan lensa sekali pakai setiap hari.

- b. **Trauma**, termasuk bedah refraktif seperti LASIK (*laser-assisted in situ keratomileusis*), terbukti memiliki hubungan dengan infeksi bakteri, termasuk infeksi miobakteri atipikal.
- c. **Ocular surface disease**, termasuk keratitis herpes, keratopati bulosa, *dry eye*, blefaritis kronis, trikiasis dan entropion, paparan benda asing, alergi mata yang parah, dan anestesi kornea.
- d. **Faktor lainnya**, yaitu immunosupresi lokal atau sistemik, adanya diabetes, dan defisit vitamin A.

2.3.5 Diagnosis dan Diagnosis Banding

Penyelidikan riwayat harus mencakup pertanyaan yang berkaitan dengan faktor risiko yang berhubungan dengan ulkus kornea, termasuk penggunaan lensa kontak (khususnya, jenis lensa, kebiasaan yang berkaitan dengan penyimpanan, kebersihan, waktu penggunaan, dan aktivitas seperti berenang atau mandi sambil mengenakan lensa), operasi mata sebelumnya, trauma mata baru-baru ini, riwayat pribadi atau paparan herpes, paparan pekerjaan, dan penggunaan obat immunosupresan. Aspek penting lainnya dalam konteks historis meliputi penilaian intensitas dan sifat nyeri, kecepatan timbulnya nyeri, dan potensi terjadinya fotofobia atau gangguan penglihatan. Sangat penting untuk menyelidiki riwayat medis pasien untuk memastikan kondisi yang sudah ada sebelumnya yang dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya ulkus kornea, seperti diabetes, artritis reumatoid, dan penyakit pembuluh darah kolagen lainnya (Byrd dan Martin, 2022).

Pemeriksaan fisik harus mencakup penilaian ketajaman penglihatan, pengukuran tekanan intraokular (kecuali jika tidak ada indikasi bola mata pecah atau ulkus perforasi), dan evaluasi respons pupil. Sangat penting untuk melakukan pemeriksaan kelopak mata dan konjungtiva secara menyeluruh untuk mengidentifikasi tanda-tanda injeksi,

pembengkakan, atau keluarnya cairan, serta untuk memastikan adanya *ciliary flush*. Sangat penting untuk melakukan pemeriksaan *slit lamp* untuk memastikan dimensi, posisi, dan morfologi lesi. Tes Seidel adalah alat yang berharga dalam menilai potensi ruptur (Byrd dan Martin, 2022).

Pasien yang didiagnosis dengan ulkus kornea bakteri biasanya menunjukkan rasa nyeri yang timbul secara tiba-tiba, sensitivitas terhadap cahaya (fotofobia), kemerahan pada konjungtiva (injeksi konjungtiva), dan berbagai tingkat gangguan penglihatan. Selama pemeriksaan *slit lamp*, ulkus terlihat sebagai infiltrat yang berbeda disertai dengan inflamasi stroma dan edema. Pemeriksaan kultur sering diperlukan untuk menentukan pengobatan yang tepat (Byrd dan Martin, 2022).

Pasien yang didiagnosis dengan keratitis HSV atau ulkus kornea biasanya menunjukkan manifestasi klinis yang sebanding dengan keratitis bakteri. Pasien sering mengalami gejala seperti sensasi benda asing, fotofobia, injeksi konjungtiva, dan gangguan penglihatan. Pemeriksaan *slit lamp* biasanya menunjukkan adanya lesi dendritik yang disertai dengan penyerapan fluorescein (Byrd dan Martin, 2022).

Infeksi jamur cenderung memiliki perjalanan yang lebih lambat dan biasanya tidak memiliki injeksi konjungtiva yang luar biasa seperti yang terlihat pada infeksi bakteri. Selama pemeriksaan *slit lamp*, lesi jamur terlihat sebagai lesi berwarna putih keabuan, berbulu, dan kering dengan tepi yang tidak rata. Ulkus akibat infeksi jamur terlihat sebagai koloni permukaan yang berwarna putih, meninggi, dan memiliki batas yang jelas (Byrd dan Martin, 2022).

Pasien dengan keratitis *Acanthamoeba* biasanya menunjukkan manifestasi klinis yang khas, yaitu rasa sakit yang tidak proporsional

dibandingkan dengan temuan pemeriksaan fisik yang teramati. Sensitivitas yang parah terhadap cahaya, yang dikenal sebagai fotofobia, merupakan gejala yang lazim ditemukan. Pemeriksaan ini berpotensi mendeteksi lesi epitel *punctate* yang menyebar, lesi seperti dendritik, atau infiltrat berbentuk cincin. Diagnosis definitif infeksi *Acanthamoeba* ditegakkan melalui kerokan langsung, pemeriksaan histologis, atau deteksi PCR DNA *Acanthamoeba* (Byrd dan Martin, 2022).

Individu yang menunjukkan PUK akibat gangguan autoimun yang mendasari, mungkin sebelumnya pernah didiagnosis atau mungkin mengalami ulkus kornea sebagai indikasi awal kondisi ini. Kerusakan yang diamati pada PUK biasanya menunjukkan pola berbentuk bulan sabit dan sebagian besar terletak di area limbal kornea. Pasien mungkin menunjukkan manifestasi yang mengindikasikan patologi yang mendasarinya, seperti peradangan sendi yang disertai rasa sakit dan erupsi kulit. Pemeriksaan pada pasien ini akan mencakup pemeriksaan oftalmologis yang komprehensif, selain pemeriksaan laboratorium dan modalitas pencitraan, untuk membantu diagnosis atau pengawasan gangguan autoimun yang mendasarinya (Byrd dan Martin, 2022).

Diagnosis banding untuk pasien yang datang dengan mata merah dan nyeri meliputi beberapa kondisi, seperti lecet kornea, keratitis nonulseratif, adanya benda asing, iritis, glaukoma sudut tertutup akut, luka bakar akibat bahan kimia, episkleritis, skleritis, dan uveitis anterior (Byrd dan Martin, 2022).

2.3.6 Tatalaksana Ulkus Kornea

Pendekatan awal untuk menangani keratitis bakteri dan ulkus kornea adalah dengan pemberian antibiotik topikal, biasanya fluoroquinolon seperti ciprofloxacin atau ofloxacin. Rekomendasi untuk ulkus kornea, terutama yang berukuran besar, sentral, dan berhubungan dengan

keterlibatan stroma yang substansial, adalah melakukan kultur kornea dan tes sensitivitas karena meningkatnya resistensi antibiotik yang diamati pada penyakit mata yang umum terjadi. Ulkus kornea direkomendasikan untuk dilakukan analisis kultur oleh dokter. Rawat inap diperlukan untuk pengobatan ulkus yang disebabkan oleh gonokokus, dan pengobatan ini melibatkan pemberian obat sistemik dengan ceftriaxone sebagai tambahan dari terapi topikal. Pada kasus infeksi berat yang disebabkan oleh patogen bakteri yang lazim, pemberian antibiotik sistemik mungkin dianggap perlu. Pertimbangan untuk masuk rumah sakit juga harus dipertimbangkan bagi individu yang tidak mampu atau tidak mau mematuhi pengobatan yang diresepkan. Penggunaan kortikosteroid tambahan masih menjadi topik perdebatan, sementara manfaat potensial telah diamati pada beberapa kelompok pasien dengan keratitis bakteri non-*Nocardia* yang positif secara kultur dan ketajaman penglihatan yang terganggu atau ulkus sentral yang menutupi 4 mm sentral pupil (Byrd dan Martin, 2022).

Penanganan infeksi virus herpes simpleks (HSV) melibatkan penggunaan agen antivirus topikal dan steroid topikal tambahan. Trifluridine adalah antivirus topikal yang paling banyak digunakan di Amerika Serikat, sedangkan asiklovir topikal adalah pilihan utama di Eropa. Alternatif lain meliputi gansiklovir, yang menunjukkan kemanjuran dalam mengatasi keratitis yang disebabkan oleh virus *Varicella-zoster* (VZV) dan *Cytomegalovirus* (CMV). Alternatif lain termasuk pemberian asiklovir oral atau valasiklovir. Pendekatan terapi yang lebih disukai untuk keratitis stroma CMV adalah pemberian valgansiklovir oral. Namun, sangat penting untuk memonitor pasien secara ketat selama pengobatan ini karena terjadinya efek samping yang penting, termasuk anemia aplastik (Byrd dan Martin, 2022).

Ulkus jamur biasanya menunjukkan hasil yang lebih buruk dibandingkan dengan ulkus bakteri karena terbatasnya ketersediaan

modalitas terapi. Saat ini, pendekatan terapeutik yang utama adalah dengan menggunakan natamisin, agen poliena topikal yang pada awalnya diluncurkan pada tahun 1960-an. Alternatif lain yang dapat dipertimbangkan adalah penggunaan Amfoterisin B dengan konsentrasi mulai dari 0,3% hingga 0,5%. Namun, penting untuk dicatat bahwa penggunaan alternatif ini mungkin dibatasi karena potensi toksisitasnya. Dalam *Mycotic Ulcer Treatment Trail* (MUTT I), diamati bahwa vorikonazol, triazol yang lebih baru, menunjukkan efektivitas yang lebih buruk dibandingkan dengan natamisin (Byrd dan Martin, 2022).

Pendekatan standar untuk menangani keratitis *Acanthamoeba* dan ulkus kornea sering kali meliputi pengangkatan lapisan epitel dan terapi antiamoeba yang berlangsung sekitar tiga hingga empat bulan. Pengobatan awal untuk infeksi amuba melibatkan penggunaan kombinasi klorheksidin dan poligeksametilen biguanida, yang telah terbukti berkhasiat dalam menargetkan trofozoit dan kista. Pada kasus yang lebih parah, zat tambahan seperti diamidin, flukonazol, itrakonazol, neomisin, dan obat-obatan yang mengandung yodium dapat disertakan (Byrd dan Martin, 2022).

Perawatan PUK yang terkait dengan penyakit autoimun dan penyakit pembuluh darah kolagen memerlukan pemberian imunosupresan sistemik dan obat-obatan sitotoksik. Selain itu, pengobatan yang efektif melibatkan upaya kolaboratif antara ahli reumatologi dan dokter spesialis mata. Sangat penting untuk melakukan pengawasan yang cermat dan melakukan analisis hematologi secara teratur untuk individu yang menjalani pengobatan dengan obat imunosupresif (Byrd dan Martin, 2022).

2.3.7 Antibiotik Ofloxacin 0,3% Eye Drop

a. Definisi dan Mekanisme Kerja

Ofloxacin adalah obat di kelas fluoroquinolone yang digunakan untuk mengobati beberapa infeksi bakteri gram positif dan gram negatif. Mirip dengan obat fluoroquinolone generasi kedua lainnya, ofloksasin menunjukkan sifat antibakteri spektrum luas dan memiliki aktivitas bakterisida (Graham dan Tripp, 2023).

Mekanisme kerjanya melibatkan pengikatan dan penghambatan topoisomerase II bakteri (DNA gyrase), enzim yang bertanggung jawab atas relaksasi DNA superkoil, serta topoisomerase IV, enzim yang terlibat dalam pemisahan kromosom anak yang terhubung setelah replikasi. Tindakan penghambatan yang dijelaskan di atas berfungsi untuk mengganggu proses replikasi, transkripsi, dan perbaikan DNA, sehingga menghambat pembelahan sel bakteri. Selain itu, fluoroquinolones menunjukkan sifat bakterisidal dan memiliki kemampuan untuk terakumulasi di dalam sel, yang mengarah pada pemberantasan bakteri intraseluler dengan cepat (Graham dan Tripp, 2023).

b. Indikasi dan Kontraindikasi

Ofloxacin diindikasikan pada ulkus kornea akibat infeksi *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, atau *Cutibacterium acnes* dengan menggunakan sediaan larutan mata 0,3% (Graham dan Tripp, 2023).

Pemberian Ofloxacin tidak dianjurkan untuk pasien yang memiliki riwayat medis kejadian hipersensitivitas yang terkait dengan penggunaan kuinolon, miastenia gravis, atau interval QTc yang diperpanjang. Kecuali jika tidak ada pilihan alternatif yang tersedia,

pemberian obat ini juga tidak disarankan untuk diberikan kepada mereka yang memiliki riwayat medis atau berisiko tinggi mengalami aneurisma aorta, sindrom *Marfan*, atau sindrom *Ehlers-Danlos* (Graham dan Tripp, 2023).

2.4 *Staphylococcus aureus*

2.4.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dijelaskan dalam tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

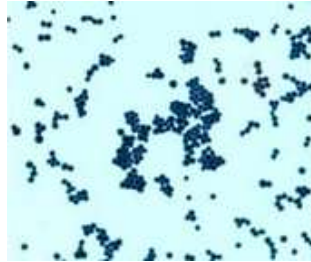
Klasifikasi	Nama
Kingdom	Monera
Divisi	Firmicutes
Kelas	Bacilli
Ordo	Bacillales
Famili	Staphylococcaceae
Genus	Staphylococcus
Species	<i>Staphylococcus aureus</i>

Sumber: (Liu, 2015)

2.4.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Sel *Staphylococcus aureus* menunjukkan fenotipe Gram-positif dan memiliki morfologi bulat yang khas. Ketika diberikan pewarnaan Gram dan diperiksa di bawah mikroskop cahaya, bakteri ini sering muncul sebagai kelompok yang menyerupai tandan buah anggur seperti yang terlihat pada gambar 5. Istilah 'Staphylococcus' berasal dari bahasa Yunani, yaitu dari kata 'staphyle' dan 'kokkos', yang masing-masing diterjemahkan menjadi 'tandan anggur' dan 'buah beri'. Analisis pemindaian mikroskop elektron menunjukkan adanya sel yang memiliki morfologi sebagian besar berbentuk bola, yang ditandai dengan permukaan luar yang halus. Diameter sel memiliki kisaran 0,5 hingga 1,0 μM . Analisis seluler menggunakan mikroskop elektron transmisi

menunjukkan adanya dinding sel yang substansial, membran sitoplasma yang dapat dilihat, dan sitoplasma non-kristal (Gnanamani, *et al.*, 2017).



Gambar 5. *Staphylococcus aureus* (Asley, *et al.*, 2019)

2.4.3 Sifat *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah mikroorganisme yang menunjukkan karakteristik aerobik dan anaerobik fakultatif. Ia mampu membentuk koloni yang cukup besar dengan tampilan kuning atau putih pada media agar yang berlimpah nutrisi. Organisme ini menghasilkan karotenoid, yang bertanggung jawab untuk memberikan warna kuning pada koloni. Etimologi istilah 'aureus' dapat ditelusuri kembali ke asal bahasa Latinnya, di mana ia menandakan warna yang terkait dengan emas. Organisme ini sering menunjukkan aktivitas hemolitik pada agar darah sebagai hasil dari kemampuannya untuk menghasilkan empat bentuk hemolisin yang berbeda, yaitu alfa, beta, gamma, dan delta. Sebagian besar isolat *Staphylococcus aureus* mampu menghasilkan enzim koagulase, yang berfungsi sebagai faktor virulensi dan membantu dalam identifikasi organisme. Organisme ini menunjukkan toleransi garam dan mampu tumbuh subur dalam media manitol-garam agar dengan konsentrasi natrium klorida 7,5%. Organisme ini memiliki reaksi positif untuk katalase dan reaksi negatif untuk oksidase (Gnanamani, *et al.*, 2017).

2.4.4 Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Adhesin permukaan *Staphylococcus aureus*, yang disebut sebagai MSCRAMMS (*microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules*), telah diidentifikasi sebagai fasilitator perlekatan bakteri pada beberapa komponen matriks ekstraseluler inang, termasuk kolagen, fibronektin, fibrinogen, laminin, dan elastin. Adhesin pengikat kolagen (MSCRAMM Cna) berfungsi sebagai faktor virulensi untuk keratitis *Staphylococcus aureus* dan berperan pada tahap awal patogenesis infeksi kornea *Staphylococcus aureus*. Selain itu, terdapat peran dari *fibronectin binding protein* (FnBP) yang berfungsi sebagai ligan permukaan untuk sel kornea manusia dan secara signifikan terlibat dalam memediasi interaksi inang-parasit yang memiliki peran penting sebagai agen perekat untuk memulai invasi pada kasus keratitis ulseratif yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* (Lakhundi, *et al.*, 2017).

Alfa-toksin adalah sitotoksin yang disintesis oleh hampir semua strain *Staphylococcus aureus* dan berfungsi untuk membuat pori serta menginduksi lisis sel. Setelah menembus membran sitoplasma, bakteri tersebut bergerak lateral hingga tujuh subunit berkumpul dalam konfigurasi melingkar. Molekul toksin tersebut terlibat dalam interaksi dengan cavoline-1, menghasilkan pembentukan pori di dalam membran. Alfa-toksin secara signifikan berkontribusi terhadap perkembangan keratitis stafilocokus, yang mengakibatkan kerusakan jaringan kornea di dalam mata yang terinfeksi. Sebuah penelitian menunjukkan bahwa pemberian toksin alfa murni dalam jumlah nanogram menghasilkan pengelupasan epitel kornea yang signifikan pada kelinci, disertai dengan edema kornea dan iritis parah.

Toksin gamma, yang berasal dari *Staphylococcus aureus*, adalah toksin biner yang terdiri dari dua komponen, yaitu komponen F dan komponen S. Secara individual, komponen-komponen ini tidak memiliki sifat berbahaya. Komponen S pada awalnya menempel pada sel target,

diikuti dengan pengikatan komponen F. Selanjutnya, kedua komponen tersebut mengalami pergerakan lateral di dalam membran sel, berasosiasi dengan pasangan F-S tambahan untuk menciptakan struktur cincin yang menembus membran, yang pada akhirnya menyebabkan lisis sel. Virulensi dari bakteri ini terjadi melalui aksi gamma dan alfa-toksin. Secara khusus, alfa-toksin ditemukan bertanggung jawab atas erosi epitel mata. Strain yang tidak memiliki toksin menunjukkan penurunan virulensi secara signifikan dibandingkan dengan strain induk dan *rescued strain*. *Staphylococcus aureus* menghasilkan berbagai macam racun dengan dua komponen, masing-masing terdiri dari komponen S dan F yang berbeda. Kompleksitas sistem toksin dua komponen pada *Staphylococcus aureus* muncul dari kemampuan komponen S dari satu toksin untuk berikatan dengan komponen F dari toksin lainnya, sehingga menghasilkan beberapa kombinasi berbeda yang menunjukkan sifat berbahaya yang khas. Dampak yang tepat dari racun ini terhadap patogenesis kornea masih belum diketahui. Protein yang disintesis oleh gen *setnm-1* telah terbukti menginduksi kerusakan signifikan pada kornea. Efek ini difasilitasi oleh aktivitas protease dan saat ini diakui sebagai faktor penting dalam patogenesis keratitis *Staphylococcus aureus*. Selain itu, mutan yang tidak memiliki ekspresi gen ini menunjukkan penurunan virulensi secara signifikan dibandingkan dengan strain induknya dan *rescued strain* (Lakhundi, *et al.*, 2017).

Eksotoksin dan protease bakteri secara konsisten dan aktif disekresikan selama proliferasi bakteri. Toksin dan enzim memiliki kemampuan untuk bertahan di dalam kornea dalam jangka waktu yang lama, sehingga mengakibatkan kerusakan yang berkelanjutan pada lapisan stroma dan potensi gangguan fungsi penglihatan. Mayoritas eksotoksin menunjukkan sensitivitas terhadap panas dan memiliki karakteristik antigenik (Lakhundi, *et al.*, 2017).

2.4.5 Faktor Risiko

Pembentukan bekas luka dipengaruhi oleh kedua faktor internal (seperti ukuran, kedalaman, lokasi, dan waktu penyembuhan) yang terkait dengan luka itu sendiri dan faktor eksternal (seperti genetika, usia, dan hormon) yang terkait dengan karakteristik individu (Han, *et al.*, 2023).

2.5 Teh Hijau (*Camellia sinensis*)

2.5.1 Taksonomi

Klasifikasi dari teh hijau (*Camellia sinensis*) dijelaskan dalam tabel sebagai berikut:

Tabel 2. Klasifikasi *Camellia sinensis*

Klasifikasi	Nama
Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Super-division	Spermatophyte
Division	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Sub-class	Dillenidea
Order	Theales
Family	Theaceae
Genus	<i>Camellia</i> L.
Species	<i>Camellia sinensis</i>

Sumber: (Khurshid, *et al.*, 2016)

2.5.2 Morfologi

Bunga-bunga putih yang mekar, berdiameter 4 cm, ditemukan baik secara individu maupun berpasangan. Setiap bunga terdiri dari lima sepal dan jumlah kelopak bunga yang bervariasi, mulai dari lima hingga sembilan. Buahnya berwarna hijau kecoklatan dan memiliki satu hingga empat biji yang berbentuk bulat atau pipih. Ukuran daun teh menunjukkan variasi di antara berbagai jenis, dengan panjang mulai dari 3,8 hingga 25 cm. Daun teh menunjukkan berbagai karakteristik,

termasuk bergerigi, berlekuk, atau tepi yang halus, serta berbagai tingkat kekakuan atau kelembutan. Orientasi daun dapat bervariasi dari tegak lurus hingga menggantung, dan jumlah rambut halus yang menutupi daun dapat berbeda secara signifikan di setiap tanaman (Wang, *et al.*, 2022).



Gambar 6. Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*) (Hilal, 2017)

2.5.3 Komponen Bioaktif *Camellia sinensis*

Komponen kimia teh memiliki tingkat kerumitan yang tinggi. Daun teh memiliki banyak komponen kimia, yang memainkan peran penting dalam menentukan rasa dan aroma berbagai varietas teh. Selama proses produksi teh, senyawa-senyawa ini mengalami transformasi yang menghasilkan pembentukan komponen yang lebih rumit, yang pada akhirnya berkontribusi pada kualitas teh secara keseluruhan. Persepsi penciuman teh dikaitkan dengan berbagai bahan kimia yang mudah menguap, yang secara kolektif dikenal sebagai "kompleks aroma", yang ada dalam seduhan teh. Seduhan teh mengandung berbagai bahan kimia yang tidak mudah menguap, beberapa di antaranya larut dalam air.

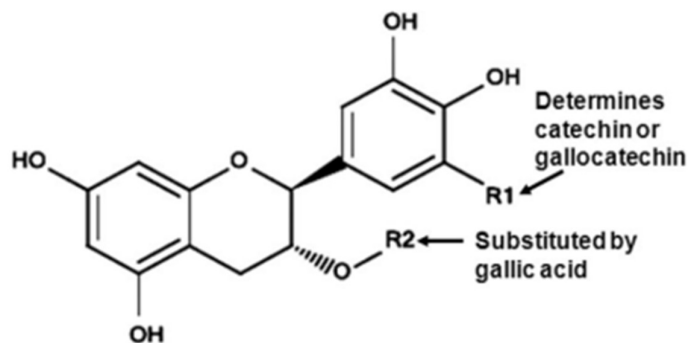
Namun, kelarutan senyawa-senyawa ini dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti suhu, total padatan terlarut, pH, dan variabel terkait lainnya. Daun teh terdiri dari beberapa komponen seperti polifenol (*flavonoid*), asam amino, enzim, pigmen, karbohidrat, *alkaloid*, metilxantin, vitamin, mineral, dan berbagai senyawa aromatik yang mudah menguap. Konstituen ini berkontribusi pada karakteristik visual, aroma, dan rasa teh yang menarik (Samanta, 2020).

a. Polifenol teh

Flavonoid adalah kelas senyawa yang dicirikan oleh struktur kimianya yang terdiri dari kerangka 2-fenil benzopiran. Senyawa ini dapat diklasifikasikan ke dalam enam kategori yang berbeda, yaitu flavon, flavanon, isoflavon, flavonol, flavanol, dan antosianin. Flavanol (flavan-3-ols) dan flavonol adalah polifenol utama yang ditemukan dalam teh, dengan proporsi yang signifikan dari 25-35% dari berat kering daun segar. Mereka terutama berfungsi sebagai antioksidan, membersihkan *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive carbonyl species* (RCS), sehingga memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan. Teh juga diketahui mengandung asam galat, senyawa yang secara kimiawi diklasifikasikan sebagai asam hidroksibenzoat (Samanta, 2020).

Katekin, khususnya flavan-3-ols, secara luas dikenal sebagai *flavonoid* utama yang ditemukan dalam teh. Senyawa ini menunjukkan susunan struktural yang terdiri dari dua cincin benzena (A dan B) dan sebuah cincin C (heterosiklik dihidropiran) yang memiliki gugus hidroksil pada karbon 3 seperti yang ditunjukkan pada gambar 7. Cincin A dan cincin B terhubung melalui cincin C heterosiklik, yang terdiri dari tiga atom karbon. Cincin A dan cincin B menunjukkan kemiripan yang mencolok dengan bagian resorsinol dan bagian katekol. Cincin A dicirikan oleh adanya gugus hidroksil pada posisi 5 dan 7. Cincin B memiliki gugus hidroksil baik pada atom karbon 3' dan 4' (gugus *ortho*-3'4')

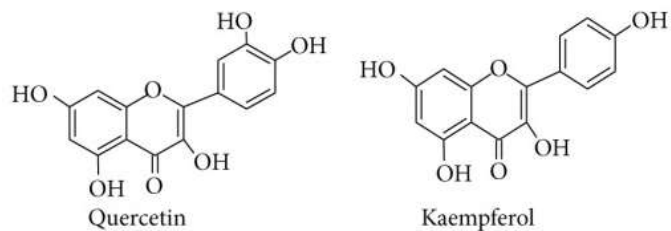
dihydroxyl) atau pada atom karbon 3', 4', dan 5' (gugus 3'4'5' *trihydroxy*). Subkelas flavanon, flavonol, flavon, isoflavon, antosianidin, dan flavan-3-ol dibedakan dengan adanya gugus hidroksil pada berbagai posisi dan ikatan rangkap antara atom karbon 2 dan 3 pada cincin C. *Katekin* galat dibentuk oleh pelekatan gugus galat pada posisi 3 cincin C. *Katekin* menunjukkan terjadinya dua isomer *trans* dan dua isomer *cis* sebagai akibat dari adanya dua pusat kiral yang masing-masing terletak pada karbon 2 dan 3. Ada berbagai macam *katekin* dan ester asam galatnya dalam teh, termasuk *epikatekin* (EC), *epikatekin* galat (ECG), *galokatekin* (GC), *epigallokatekin* (EGC), dan *epigallokatekin* galat (EGCG). Sekitar 80% dari keseluruhan *katekin* terdiri dari EGCG, ECG, dan EGC (Samanta, 2020).



Gambar 7. Struktur Kimia *Katekin* (Samanta, 2020)

b. Glikosida flavonol

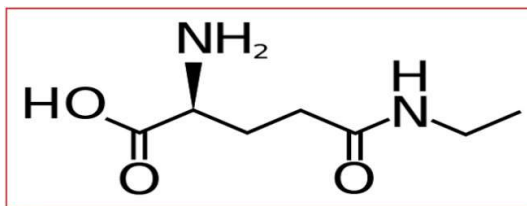
Padatan teh mengandung sekitar 2-3% glikosida flavonol yang larut dalam air. Kandungan yang berbeda seperti, *quercetin*, kaempferol, myricetin, dan glikosidanya termasuk dalam keluarga glikosida flavonol yang memiliki gugus 4-oxo dan 3-hydroxy pada cincin C seperti yang ditunjukkan pada gambar 8. Kaempferol-3-O-glucosyl-(1-3)-rhamnosyl-(1-6)-galactoside, *quercetin*-3-O-glucosyl-(1-3)-rhamnosyl-(1-6)-glucoside, and *quercetin*-3-O-glucosyl-(1-3)-rhamnosyl-(1-6)-galactoside umumnya ada di dalam daun teh (Samanta, 2020).



Gambar 8. Struktur Kimia *Quercetin* dan *Kaempferol* (Kumar dan Pandey, 2013)

c. Asam amino L-theanine

Daun teh memiliki kandungan asam amino non-protein yang tidak dapat diabaikan, dengan konsentrasi berkisar antara 3-5 mg/g berat segar. Theanine dapat digambarkan sebagai L- γ -glutamyl ethylamide dengan struktur kimia seperti pada gambar 9. Sintesis asam amino khusus ini terjadi di dalam struktur akar dan kemudian terakumulasi di dalam daun. Pada tingkat fisiologis, theanine memiliki afinitas pengikatan untuk reseptor AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid), kainite, dan NMDA (N-methyl-D-aspartic acid). Senyawa ini menunjukkan efek penghambatan pada reseptor AMPA dan kainite, tapi menunjukkan efek pengaktifan pada reseptor NMDA. Theanine bertanggung jawab untuk memunculkan rasa umami, yang membedakannya dari empat rasa utama lainnya, yaitu asin, asam, manis, dan pahit (Samanta, 2020).

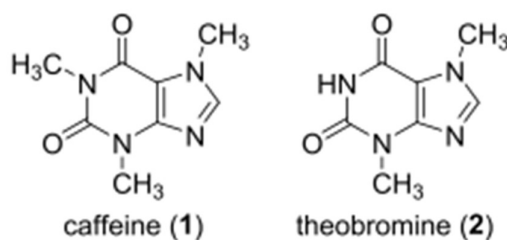


Gambar 9. Struktur Kimia L-theanine (Saeed, *et al.*, 2020)

d. Kafein dan teobromin (metilxantin)

Teh terdiri dari sekitar 3% kafein. Kafein diklasifikasikan sebagai 1,3,7-trimethylxanthine, sedangkan theobromine dikategorikan

sebagai 3,7-dimethylxanthine dengan struktur kimia seperti yang ditunjukkan pada gambar 10. Kedua zat ini menunjukkan efek fisiologis yang menjanjikan. Theacrine, juga dikenal sebagai 1,3,7,9-tetramethyluric acid, adalah contoh molekul metilxantin yang menunjukkan sifat asam. Paraxanthine dan teofilin adalah produk sampingan metabolisme dari kafein. Zat-zat ini biasanya disebut sebagai methylxanthines. Kafein berfungsi sebagai antagonis reseptor GABA, sehingga memberikan efek perlindungan terhadap perkembangan penyakit Alzheimer dan Parkinson. Theobromine berfungsi sebagai antagonis reseptor adenosin, sehingga meningkatkan pelepasan neurotransmitter dan menghasilkan efek stimulasi. Kafein juga menginduksi tindakan antagonis pada reseptor adenosin. Konsumsi kafein atau teobromin dapat mempengaruhi fungsi reseptor adenosin A1 pada otot jantung, yang mengakibatkan peningkatan aktivitas jantung melalui percepatan denyut jantung (Samanta, 2020).



Gambar 10. Struktur Kimia Kafein dan Teobromin (Faudone, *et al.*, 2021)

Daun teh juga mengandung sejumlah kecil teofilin, senyawa dimetilxantin lainnya. Zat ini berfungsi sebagai antagonis terhadap reseptor adenosin dan secara kompetitif menghambat prostaglandin E (PGE) tipe III dan IV. Hasilnya adalah peningkatan kadar *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) intraseluler di dalam sel otot polos saluran napas, yang menyebabkan bronkodilatasi dan reaksi antiinflamasi yang ditandai dengan penurunan sitokin kemoatraktan

neutrofil IL-8. Induksi cAMP menghasilkan aktivasi protein fosfatase yang bergantung pada cAMP, yang kemudian mengarah pada inaktivasi mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 (MKP-1) dan penekanan produksi sitokin. Teofilin memberikan dampak pada panjang dan kompleksitas proses dendritik pada melanosit. Senyawa methylxanthine menunjukkan efek penghambatan pada fosfodiesterase, yang menyebabkan peningkatan kadar cAMP dan stimulasi melanogenesis selanjutnya (Samanta, 2020).

2.5.4 Efek Farmakologis

a. Efek antifibrotik

Fibrosis dikaitkan dengan perbaikan jaringan yang menyimpang sebagai respons terhadap cedera jaringan yang berkepanjangan dan berulang. Kondisi ini mengakibatkan penambahan jaringan ikat fibrosa pada bekas luka sebagai akibat dari proliferasi fibroblas yang berlebihan dan perkembangan serat kolagen. Fibroblas adalah jenis sel mesenkim yang diketahui memiliki keterlibatan yang signifikan dalam proses fibrosis terkait dengan akumulasi ECM dan peradangan. Keloid adalah kondisi fibroproliferatif yang umum dikaitkan dengan proses penyembuhan luka yang tidak normal. Anomali dalam sintesis kolagen mengakibatkan terganggunya metabolisme matriks ekstraseluler (ECM) (Xu, *et al.*, 2021).

Sebuah penelitian menunjukkan bahwa pembentukan kolagen tipe I pada fibroblas yang dikultur bersama dengan sel mast secara signifikan ditekan oleh EGCG. Sifat antifibrotik EGCG juga diperiksa melalui penggunaan model yang menggunakan fibroblas keloid turunan manusia yang ditransplantasikan ke tikus telanjang. Terlihat bahwa pengobatan dengan EGCG menghasilkan pengurangan pembentukan kolagen dan keloid. Efek penekanan EGCG pada karakteristik degeneratif keloid dicapai melalui

pemblokiran jalur pensinyalan STAT3. Ditemukan juga bahwa pengobatan dengan EGCG menghasilkan pengurangan ukuran keloid, penghambatan proliferasi intrakeloid, penurunan sintesis kolagen, dan penurunan regulasi jalur utama yang berhubungan dengan fibrosis, seperti VEGF, matriks metaloproteinase (MMP-2 dan -9), dan TGF- β 2 (Xu, *et al.*, 2021).

Quercetin dapat mengurangi fibrosis dengan memodifikasi komponen integrin pada permukaan sel sehingga memungkinkan sel bermigrasi lebih efektif dan menurunkan produksi ECM serta meningkatkan kualitas kesembuhan luka (Doersch dan Newell-Rogers, 2017). Sebuah penelitian menunjukkan bahwa pemberian *quercetin* menghasilkan penekanan indikator fibrotik yang penting, termasuk kolagen tipe III dan aktin otot polos, pada sel stroma kornea keratokonus manusia. Selain itu, temuan ini menunjukkan bahwa *quercetin* memiliki efek downregulasi pada *transforming growth factor*- β 2 (TGF- β 2) pada dua kondisi, dengan dan tanpa kelebihan laktat (McKay dan Karamichos, 2017).

b. Efek antioksidan

Polifenol teh menunjukkan sifat antioksidan yang berkaitan erat dengan komposisi struktural *flavonoid*. Efek antioksidan dari *flavonoid* difasilitasi oleh adanya struktur katekol *o*-dihydroxyl (gugus 3' dan 4' OH) pada cincin B, ikatan rangkap antara posisi dua dan tiga cincin C, dan gugus 4-okso pada cincin yang sama. Aktivitas antioksidan polifenol teh dikaitkan dengan keterlibatan gugus hidroksil pada posisi C3 dan C5 dalam struktur flavan-3-ol, yang berpartisipasi dalam ikatan hidrogen (Samanta, 2020).

Teh hijau dianggap sebagai sumber epigallocatechin gallate (EGCG) yang sangat melimpah, yang memiliki sifat membersihkan *reactive oxygen species* (ROS). Pelestarian keseimbangan redoks

difasilitasi oleh teh hijau melalui pemeliharaan kadar glutathione (GSH) yang berkurang dan aktivitas glutathione peroksidase. Theaflavin menunjukkan kemanjuran yang kuat dalam membersihkan radikal bebas, melampaui efektivitas EGCG. Di antara banyak theaflavin, telah diamati bahwa TF3 memiliki karakteristik antioksidan yang paling menonjol, dengan TF2 dan TF1 menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan yang relatif lebih rendah. TF memiliki kemampuan untuk mengatur pembentukan senyawa karbonil protein dan memfasilitasi pemanfaatan gugus sulfhidril (-SH) untuk mengurangi stres oksidatif yang dihasilkan oleh tert-butil hidroperoksida (t-BHP) (Samanta, 2020).

Teh juga mengandung *quercetin* yang juga dapat membersihkan ROS dan meningkatkan kemampuan tubuh untuk menangkal stres oksidatif dengan memodulasi tingkat glutathione (GSH), yang merupakan antioksidan penting. Ketika radikal bebas oksigen diproduksi di dalam tubuh, superoksida dismutase (SOD) dengan cepat menangkap O₂⁻ dan mengubahnya menjadi H₂O₂. Enzim ini juga memfasilitasi pemecahan H₂O₂ menjadi H₂O non-toxic. GSH diperlukan sebagai donor hidrogen untuk reaksi ini (Xu, *et al.*, 2021).

c. Efek antiinflamasi

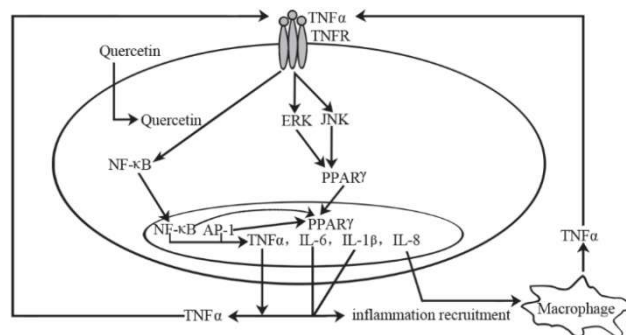
Katekin menurunkan IL-5, IL-13, dan menjaga keseimbangan antara sel Th 2 dan Th 1. Zat ini menunjukkan aktivitas anti-thymic stromal lymphopoietin (TSLP) dan menghambat jalur pensinyalan NF-κB. Jalur regulasi yang berkontribusi terhadap efek anti-inflamasi melibatkan penurunan subunit NF-κBp65, fosforilasi dan translokasi subunit p65 ke nukleus, dan penekanan degradasi IκBα. Oleh karena itu, *katekin* secara efektif menghambat respon inflamasi (Samanta, 2020).

Epikatekin memberikan efek imunomodulator langsung pada neutrofil. *Epikatekin* menghambat ekspresi TLR4, NF κ B, dan iNOS, menurunkan kadar TNF- α , IL-1 β , dan IL-6, serta menekan aktivitas myeloperoxidase (MPO). Sintesis ROS, oksida nitrat (NO), peroksinitrit, dan asam hipoklorit (HOCl) juga menunjukkan penurunan. Selain itu, *epikatekin* meningkatkan aktivitas enzim antioksidan, termasuk superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathion peroksidase (GPx), dan glutathion reduktase (GR), serta kapasitas fagositosis (Samanta, 2020). Sebuah studi *in-vitro* menunjukkan efek EGCG pada sel fibroblas kornea manusia yang dikultur dalam gel kolagen 3 dimensi, hasilnya menunjukkan bahwa EGCG dapat menghambat faktor inflamasi IL-1 β , hal ini mengarah pada pengurangan aktivator plasminogen tipe urokinase pada fibroblas kornea (Sugioka, *et al.*, 2019).

Theaflavin memiliki sifat antiinflamasi yang kuat. Senyawa ini memiliki kemampuan untuk menghambat aktivasi NF- κ B dan JNK yang diinduksi oleh lipopolisakarida, serta ekspresi molekul adhesi sel pada permukaan sel epitel. Turunan dari theaflavin, TF2B, secara efektif mengurangi aktivitas NF- κ B dan menurunkan ekspresi COX-2, TNF- α , dan iNOS (Samanta, 2020).

Kafein memberikan efek antiinflamasi dengan menghambat enzim fosfodiesterase melalui penghambatan kompetitif nonselektif. Konsentrasi cAMP intraseluler meningkat, yang mengarah pada aktivasi protein kinase A (PKA). Fosforilasi mengatur produksi TNF- α dan sitokin lainnya melalui PKA. Kafein menghambat sekresi IL-2 dan IFN- γ dari sel Th1, serta IL-4 dan IL-5 dari sel Th2. Aktivitas kemotaktik neutrofil dan monosit ditekan oleh paraxanthine, metabolit kafein sehingga meningkatkan efektivitas anti-inflamasi (Samanta, 2020).

Terdapat pengembangan model berbasis *quercetin* untuk menjelaskan mekanisme yang digunakan untuk menghambat peradangan yang diperantarai oleh faktor nekrosis tumor- α (TNF α) seperti yang terlihat pada gambar 11. *Quercetin* menghambat aktivasi langsung dari *extracellular signal-related kinase* (ERK), *c-Jun NH2-terminal kinase* (JNK), *c-Jun*, dan *nuclear factor- κ B* (NF- κ B) oleh TNF- α . Faktor-faktor ini merupakan stimulator kuat ekspresi gen inflamasi dan sekresi protein. Selain itu, *quercetin* secara tidak langsung dapat menghambat peradangan dengan meningkatkan aktivitas reseptor yang diaktifkan proliferasi peroksisom c (PPAR γ), yang pada gilirannya menangkal aktivasi transkripsi gen inflamasi oleh NF- κ B atau protein aktivator-1 (AP-1). Secara kolektif, ini memblokir inisiasi kaskade inflamasi yang disebabkan oleh TNF- α (Li, *et al.*, 2016).



Gambar 11. Mekanisme *Quercetin* dalam Mempengaruhi Peradangan dan Fungsi Immunologis (Li, *et al.*, 2016).

d. Efek antibakteri

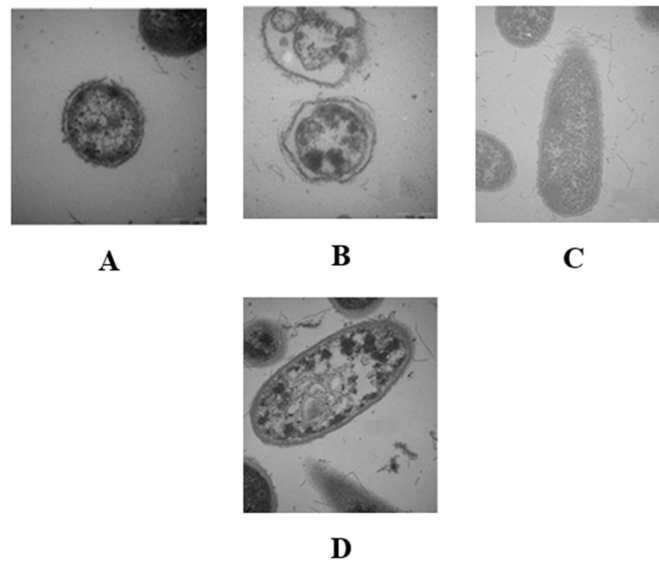
Polifenol teh memberikan pengaruh pada penyakit akibat infeksi bakteri. Polifenol dianggap memberikan efek antimikroba dengan menyebabkan pengendapan protein membran sel bakteri melalui interaksi dengan polifenol. Beberapa asam fenolik dan *flavonoid* telah ditemukan dapat menginduksi perforasi membran sel dan/atau menurunkan fluiditas membran, yang mengakibatkan kerusakan pada membran sitoplasma (Liu, *et al.*, 2022).

Katekin menunjukkan sifat antibakteri. Khasiatnya lebih tinggi terhadap bakteri Gram positif dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. *Katekin* mudah melekat pada protein, menghambat pengikatan bakteri ke permukaan sel (Samanta, 2020). *Katekin* memiliki banyak gugus hidroksil fenolik dan struktur polisiklik, yang memungkinkannya untuk berikatan kuat dengan biomakromolekul seperti lipid, protein, hidrokarbon, dan asam nukleat. *Katekin* memiliki daya tarik yang kuat terhadap membran sel bakteri, memungkinkan mereka untuk berinteraksi dengannya. Interaksi ini mengacaukan struktur sel, mengubah fluiditas membran sel, dan pada akhirnya menyebabkan kerusakan (Liu, *et al.*, 2022).

Secara umum, terlihat bahwa permeabilitas dan integritas membran *Staphylococcus aureus* lebih rentan terhadap *katekin* dibandingkan dengan *Escherichia coli*. Perbedaan kerentanan ini dapat berkontribusi pada kemanjuran antibakteri yang lebih besar dari *katekin* terhadap *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan *Escherichia coli*. Telah didokumentasikan bahwa *katekin* tidak dapat melintasi lapisan lipopolisakarida bakteri Gram-negatif, tetapi mereka menunjukkan efek antibakteri melalui interaksi dengan lapisan peptidoglikan bakteri Gram-positif. Penentu utama untuk variasi dalam efektivitas antibakteri *katekin* dikaitkan dengan karakteristik struktural yang kontras yang ditunjukkan oleh bakteri Gram-positif dan Gram negatif (Liu, *et al.*, 2022).

Quercetin memiliki efek antibakteri dengan menyebabkan beberapa perubahan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Beberapa perubahan yang dapat terjadi pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang diberikan *quercetin*, yaitu pelepasan pili ekstraseluler, kerusakan membran sel, dan distribusi kepadatan

endospora yang tidak merata seperti yang ditunjukkan pada gambar 12A. Selain itu, kehadiran *quercetin* mengakibatkan visibilitas isi endokilema yang berubah, lisis kromatin, dan pembentukan rongga di daerah nukleus seperti yang ditunjukkan pada gambar 12B. Sedangkan perubahan pada bakteri *Escherichia coli* yang terjadi akibat dari pemberian *quercetin*, yaitu terlihat adanya kerusakan pada integritas struktural dan membran sel. Selain itu, kepadatan endokrin menjadi tidak merata, yang menyebabkan kebocoran isi sitoplasma (gambar 12C dan D), serta terlihat adanya kavitasasi sel seperti yang ditunjukkan pada gambar 12D (Wang, *et al.*, 2018).



Gambar 12. Perubahan pada Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Setelah Diberikan *Quercetin* (Wang, *et al.*, 2018)

Terdapat beberapa senyawa lain yang terkandung di dalam daun teh yang juga memiliki efek antibakteri, seperti *alkaloid*, *saponin*, dan *tanin*. Dalam mekanisme antibakteri, *alkaloid* alami memiliki kemampuan untuk merusak membran sel bakteri, mengganggu aktivitas DNA, dan membatasi sintesis protein (Yan, *et al.*, 2021). *Saponin* memiliki efek bakteriostatik yang kuat yang dapat mengubah permeabilitas membran, mengganggu struktur membran sel, dan menghentikan pertumbuhan bakteri (Zhao, *et al.*, 2020). Di

dalam sel, *saponin* berikatan dengan kolesterol untuk membentuk kompleks *saponin*-kolesterol, yang pada akhirnya menyebabkan sel lisis. Dengan menempel pada membran luar sel bakteri, *saponin* mengganggu permeabilitasnya (Khan, *et al.*, 2018). Khasiat antibakteri dari *tanin* disebabkan oleh kemampuannya untuk menembus dinding sel bakteri dan mencapai membran bagian dalam, di mana *tanin* mengganggu metabolisme sel, yang pada akhirnya menyebabkan kematian dari sel bakteri tersebut (Kaczmarek, 2020)

e. Perlindungan terhadap penyakit kardiovaskular

Peradangan pembuluh darah dan aterosklerosis merupakan faktor penyebab utama penyakit kardiovaskular (CVD). ROS memiliki peran penting dalam memfasilitasi proses oksidasi lipoprotein densitas rendah (LDL) di dalam wilayah endotel pembuluh darah. Lipoprotein densitas rendah teroksidasi (ox-LDL) memiliki afinitas terhadap monosit/makrofag, yang mengarah ke adhesi pada permukaan lapisan sel endotel. Monosit memulai proses penangkapan ox-LDL dan kemudian bermanifestasi sebagai sel busa. Sel busa memulai perkembangan plak aterosklerotik. Oleh karena itu, penurunan fungsi endotel berkontribusi terhadap perkembangan penyakit kardiovaskular (CVD). Investigasi epidemiologi telah menunjukkan bahwa minum teh, dikaitkan dengan penurunan asam urat plasma, protein C-reaktif (CRP), glukosa, trigliserida, rasio LDL/HDL, dan kadar kolesterol plasma. Ditemukan bahwa pemberian suplemen teh menghasilkan peningkatan aliran darah di dalam arteri brakialis di antara individu yang didiagnosis dengan penyakit kardiovaskular (CVD). Konstituen tambahan, theobromine, terbukti memodifikasi kadar lipoprotein plasma. Secara khusus, hal ini diamati untuk meningkatkan kadar kolesterol HDL sekaligus menurunkan konsentrasi LDL (Samanta, 2020).

f. Aktivitas pencegahan kanker

Teh menunjukkan sifat anti-kanker yang signifikan. Aktivitas onkostatik difasilitasi melalui beberapa mekanisme, termasuk mitigasi kerusakan DNA dan stres oksidatif, penghapusan radikal bebas, detoksifikasi karsinogen, dan regulasi ekspresi gen yang terkait dengan karsinogenesis. Semua polifenol teh, kecuali (-)-*epikatekin*, menunjukkan karakteristik menghambat proliferasi sel. Selain itu, telah disarankan bahwa *flavonoid* yang ada dalam teh dapat berperan dalam inisiasi kematian sel terprogram, yang juga dikenal sebagai apoptosis. Investigasi eksperimental model hewan telah menunjukkan kemanjuran polifenol teh hijau dalam memerangi beberapa jenis kanker, termasuk yang mempengaruhi paru-paru, rongga mulut, kerongkongan, lambung, usus kecil, usus besar, kandung kemih, hati, pankreas, kulit, prostat, dan payudara. Modulasi karsinogenesis oleh teh hijau melibatkan regulasi berbagai proses biologis, termasuk metilasi DNA, modifikasi histon, aktivitas mikro-RNA, apoptosis, siklus sel, invasi, angiogenesis, dan metastasis. Molekul polifenol, khususnya EGCG, memiliki kemampuan untuk memodifikasi jalur metabolisme, memiliki sifat penghambat pertumbuhan, dan menunjukkan aktivitas antiangiogenik (Samanta, 2020).

g. Efek anti-obesitas

Dampak potensial dari polifenol teh pada regulasi obesitas patut dipertimbangkan. Temuan percobaan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak teh hijau pada partisipan pria yang memiliki kondisi kesehatan yang baik menghasilkan aktivasi sistem saraf simpatik. Aktivasi ini dicapai dengan pengurangan degradasi nor-adrenalin. Konsekuensi selanjutnya meliputi peningkatan beta-oksidasi dan pengeluaran energi berlebih. Faktor transkripsi (TF) memberikan efek penekanan pada proses lipogenesis melalui

penghambatan aktivitas sintase asam lemak, sehingga menyebabkan penurunan penumpukan lipid. Tindakan ini terkait dengan penurunan regulasi jalur PI3K/Akt/Sp-1. Bahan kimia polifenol lainnya, seperti EGCG yang ditemukan dalam teh hijau dan metilasi EGCG yang ditemukan dalam teh oolong, juga dianggap sebagai agen anti-obesitas yang potensial. *Katekin* memberikan pengaruh pada mikrobiota usus, yang mengarah pada pembentukan *short-chain fatty acids* (SCFA) seperti asetat, propionat, dan butirat melalui penggunaan prebiotik. SCFA merangsang aktivasi protein kinase yang dimediasi oleh AMP, sehingga meningkatkan metabolisme lipid (Samanta, 2020).

h. Efek anti-diabetes

Teh telah diakui potensinya sebagai obat anti diabetes. Pemberian ekstrak teh hijau telah diamati menghasilkan penurunan kadar glukosa puasa dalam aliran darah. Efek insulinotropik dari *katekin* telah dibuktikan oleh uji klinis. Sekresi insulin postprandial dipicu oleh EGCG, sejenis polifenol teh. Konsumsi teh hijau menghasilkan peningkatan kadar insulin dan penurunan konsentrasi hemoglobin terglikosilasi (HbA1c) (Samanta, 2020).

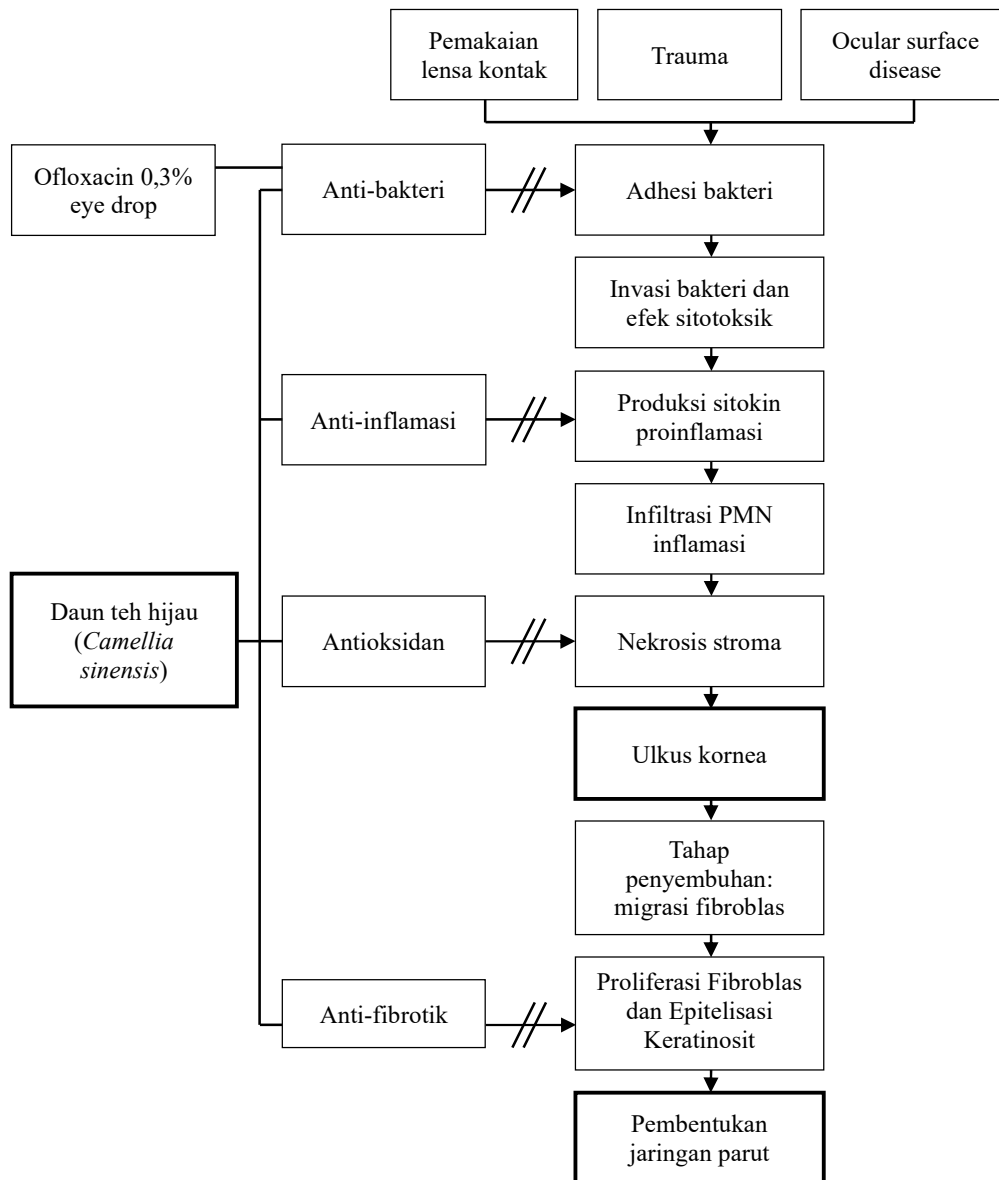
i. Perlindungan saraf, mental, dan menjaga *mood*

Kafein dan theobromine, yang diklasifikasikan sebagai methylxanthines, bertindak sebagai antagonis terhadap reseptor adenosin. Reseptor ini bertanggung jawab untuk mengenali molekul adenosin ekstraseluler, yang berfungsi sebagai pembawa pesan seperti hormon dan perantara metabolisme. Keluarga reseptor adenosin terdiri dari empat sub tipe yang berbeda, yaitu A1, A2A, A2B, dan A3. Kafein menunjukkan tingkat kemiripan struktural yang tinggi dengan molekul adenosin. Penghambatan fosfodiesterase digunakan untuk mempertahankan konsentrasi *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) yang stabil. Selain itu,

ini memainkan peran penting dalam pengaturan konsentrasi kalsium intraseluler. Kafein dan teobromin berfungsi sebagai zat psikoaktif. Methylxanthines memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan struktur asam nukleat, menghasilkan pembentukan kompleks. Hubungan ini memodulasi ekspresi gen, yang mungkin memberikan efek perlindungan terhadap penyakit Alzheimer dan Parkinson (Samanta, 2020).

2.6 Kerangka Penelitian

2.6.1 Kerangka Teori



Gambar 13. Kerangka Teori (Lakhundi, *et al.*, 2017); (McKay dan Karamichos, 2017); (Salmon, 2020); (Xu, *et al.*, 2021); (Byrd dan Martin, 2022).

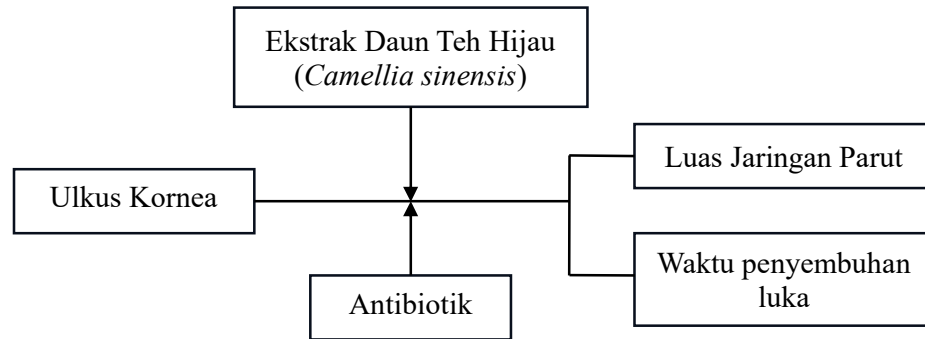
Keterangan:

→ : Menyebabkan

//→ : Menghambat

▭ : Yang diteliti

2.6.2 Kerangka Konsep



Gambar 14. Kerangka Konsep

2.7 Hipotesis

2.7.1 Hipotesis Null (H0)

Ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) tidak dapat membantu penyembuhan luka pada kelinci model ulkus kornea.

2.7.2 Hipotesis Alternatif (Ha)

Ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat membantu penyembuhan luka pada kelinci model ulkus kornea.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk mengetahui efek ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap penyembuhan luka pada kelinci model ulkus kornea oleh *Staphylococcus aureus*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-April 2024.

3.2.2 Tempat Penelitian

Pembuatan ekstrak dilakukan pada 2 tempat, yaitu Laboratorium Biokimia, Biologi molekuler, dan Fisiologi (BBF) Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk melakukan maserasi dan Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam untuk melakukan evaporasi. Uji Fitokimia juga dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Pengamatan efek ekstrak daun teh hijau terhadap kelinci model ulkus kornea dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama 3 minggu.

3.3 Subjek Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah kelinci, sedangkan sampel yang digunakan adalah kelinci yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

3.3.1.1 Kriteria Inklusi

Adapun kriteria inklusi yang digunakan dalam pemilihan sampel kelinci pada penelitian ini adalah:

- a. Kelinci jantan
- b. Sehat (ditandai dengan tidak ada eksudat pada mata, mata jernih dan bergerak aktif)
- c. Umur 4-6 bulan
- d. Berat 1-2 kg

3.3.1.2 Kriteria Eksklusi

- a. Memiliki penyakit mata
- b. Mengalami perforasi kornea
- c. Mati selama perlakuan

3.3.2 Sampel Penelitian

Pada penelitian ini sampel dibagi dalam lima kelompok perlakuan, dimana satu kelompok adalah *control group* dan empat kelompok lainnya adalah *experimental groups*.

3.3.2.1 Besar Sampel

Ukuran sampel untuk penelitian ini ditentukan dengan menggunakan rumus Federer untuk data homogen, yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana t adalah jumlah kelompok perlakuan dan n adalah jumlah sampel per kelompok (Sastroasmoro dan Ismael, 2014). Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan yang terdiri dari: (1) kelompok kontrol (K) yang diberikan terapi

ofloxacin 0,3% (5 mg/mL); (2) kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberi perlakuan terapi ekstrak daun teh hijau 2% dan ofloxacin 0,3%; (3) kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberi perlakuan terapi ekstrak daun teh hijau 4% dan ofloxacin 0,3%; (4) kelompok perlakuan 3 (P3) yang diberi perlakuan terapi ekstrak daun teh hijau 8% dan ofloxacin 0,3%; dan (5) kelompok perlakuan 4 (P4) yang diberi perlakuan terapi ekstrak daun teh hijau 10% dan ofloxacin 0,3% sebanyak 6 tetes per hari, sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan adalah:

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

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Berdasarkan rumus tersebut, jumlah minimal sampel yang diperlukan untuk setiap kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah 5 ekor kelinci, dengan total 25 sampel yang diperlukan untuk lima kelompok perlakuan. Kemudian untuk mengantisipasi adanya kelinci yang *drop out* saat penelitian dilakukan, maka dilakukan penambahan 10% dari jumlah minimal sampel sehingga masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 6 ekor kelinci sehingga totalnya menjadi 30 ekor.

3.3.2.2 Teknik Sampling

Dalam penelitian ini, sampel diambil dari populasi dengan menggunakan prosedur *probability sampling*, yaitu pendekatan pengambilan sampel yang memberikan setiap elemen (anggota) populasi kesempatan yang sama untuk dipilih sebagai anggota sampel. Teknik sampling yang digunakan adalah *Simple Random Sampling* yang dilakukan secara acak dan tanpa memperhatikan strata pada populasi, karena anggota populasi

kelinci disediakan dengan cara dan karakteristik yang sama (Amin, *et al.*, 2023).

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah waktu penyembuhan dan luas jaringan parut mata kelinci model ulkus kornea oleh *Staphylococcus aureus*.

3.5 Definisi Operasional Variabel Penelitian

Tabel 3. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Variabel Bebas				
Ekstrak daun teh hijau (<i>Camellia sinensis</i>)	Hasil ekstraksi dari daun teh hijau dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi.	Menggunakan persamaan: $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$	Ekstraksi daun teh hijau dengan konsentrasi 2%, 4%, 8%, dan 10% (Becker, <i>et al.</i> , 2019).	Ordinal
Variabel Terikat				
Waktu penyembuhan luka	Didapatkan hasil negatif pada tes fluoresensi	Tes dengan menggunakan zat warna fluorescein dan cahaya biru kobalt untuk mendeteksi cacat pada kornea.	Waktu penyembuhan luka pada masing masing kelompok dihitung dalam minggu.	Ordinal
Jaringan parut	Terbentuk jaringan parut bila terdapat kekeruhan berwarna keputihan.	Mengambil gambar jaringan parut lalu diukur luasnya dengan menggunakan aplikasi <i>Image J</i> (Cho, <i>et al.</i> , 2014).	Luas jaringan parut dengan satuan milimeter persegi (mm ²).	Rasio

3.6 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan hewan coba kelinci model ulkus korena oleh *Staphylococcus aureus* sebagai objek penelitian. Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *post-test only control group*. Pada objek dihitung waktu penyembuhan luka dan diamati luas jaringan parut setelah pemberian ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai terapi *adjuvant*.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu masker, *handscoon*, neraca analitik, ayakan *mesh*, wadah tertutup, kertas saring, *rotary evaporator*, *water bath*, gelas kimia, benjana tertutup, plat tetes, gelas ukur, batang pengaduk, *autoclave*, tabung reaksi, *vortex*, mikroskop, *object glass*, erlenmeyer, *alumunium foil*, *hot plate*, inkubator, batang penjepit, cawan petri, pipet steril, *hockey stick*, *colony counter*, *anaerobic jar*, *Laminar Air Flow*, bunsen, jarum ose, pipet tetes, mikropipet, pinset, kertas label, rak tabung reaksi, spidol, kandang kelinci, tempat makan dan minum kelinci, label kelinci, *disposable syringe* insulin 1 cc 30 gauge, *disposable syringe* 27 gauge, oftalmoskop (*cobalt blue light*), pipet, *beaker glass*, penggaris, dan aplikasi *Image J*.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu media nutrient agar (NA), larutan NaCl 0,9%, larutan BaCl₂ 1%, larutan H₂SO₄ 1%, tetracaine 0,5%, bakteri *Streptococcus aureus*, daun teh, etanol 96%, akuades, Xylazine 2%, dan ketamin 10%, ofloxacin 0,3%, ekstrak daun teh hijau, dan zat fluorescein.

3.7.3 Aklimatisasi dan Pemeliharaan Hewan Coba

Proses aklimatisasi kelinci berlangsung selama satu minggu, di mana hewan-hewan tersebut secara bertahap disesuaikan dengan lingkungan yang baru mereka kenal. Kelinci-kelinci tersebut ditempatkan dalam kandang dengan panjang 0,9 meter, lebar 0,6 meter, dan tinggi 0,45 meter. Penerangan di dalam kandang diatur dengan jadwal 12 jam terang diikuti dengan 12 jam gelap dengan suhu yang dibiarkan alami.

Subjek diberikan pelet setiap hari sebagai makanan dan minum diberikan secara *ad libitum*.

3.7.4 Pemilihan dan Pembagian Hewan Coba

Jumlah hewan yang dipakai adalah 30 ekor kelinci jantan kemudian dibagi menjadi 5 kelompok secara alokasi randomisasi dengan kriteria sehat, berumur 4-6 bulan, dan memiliki berat badan 1-2 kg. Pembagian kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 4 Dalam pemilihan dan pemeliharaan hewan coba ini menganut prinsip 3R, yaitu *replacement*, *reduction*, dan *refinement*.

Tabel 4. Pembagian kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Bentuk Perlakuan
Kelompok Kontrol (+)	1. Injeksi suspensi bakteri sebanyak 0,05 mL menggunakan <i>disposable syringe</i> 1 mL dengan jarum berukuran 30 G 2. Pemberian ofloxacin 0,3% sebanyak 6 tetes per hari selama 3 minggu hingga didapatkan hasil negatif pada tes fluoresensi
Kelompok P1	1. Injeksi suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> sebanyak 0,05 mL menggunakan <i>disposable syringe</i> 1 mL dengan jarum berukuran 30 G 2. Pemberian ekstrak daun teh hijau 2% dan ofloxacin 0,3% sebanyak 6 tetes per hari selama 3 minggu hingga didapatkan hasil negatif pada tes fluoresensi
Kelompok P2	1. Injeksi suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> sebanyak 0,05 mL menggunakan <i>disposable syringe</i> 1 mL dengan jarum berukuran 30 G 2. Pemberian ekstrak daun teh hijau 4% dan ofloxacin 0,3% sebanyak 6 tetes per hari selama 3 minggu hingga didapatkan hasil negatif pada tes fluoresensi
Kelompok P3	1. Injeksi suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> sebanyak 0,05 mL menggunakan <i>disposable syringe</i> 1 mL dengan jarum berukuran 30 G 2. Pemberian ekstrak daun teh hijau 8% dan ofloxacin 0,3% sebanyak 6 tetes per hari selama 3 minggu hingga didapatkan hasil negatif pada tes fluoresensi
Kelompok P4	1. Injeksi suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> sebanyak 0,05 mL menggunakan <i>disposable syringe</i> 1 mL dengan jarum berukuran 30 G 2. Pemberian ekstrak daun teh hijau 10% dan ofloxacin 0,3% sebanyak 6 tetes per hari selama 3 minggu hingga didapatkan hasil negatif pada tes fluoresensi

3.7.5 Peremajaan Bakteri

a. Pembuatan media Agar Miring

Proses pembuatan media agar miring diawali dengan menimbang *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 1,36 g kemudian dilarutkan dengan 68 mL akuades di dalam erlenmeyer. Larutan tersebut dipanaskan dengan *hot plate* hingga larut sempurna, kemudian diukur pH $7,4 \pm 0,2$ menggunakan kertas pH. Selanjutnya, media dimasukkan ke dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C , kemudian

dituangkan ke cawan petri dan dibiarkan mengeras pada suhu ruang dengan kemiringan 30° (Rini, *et al.*, 2023).

b. Inokulasi bakteri

Inokulasi bakteri adalah menumbuhkan bakteri dengan cara penggoresan pada media agar yang telah dibuat di dalam cawan petri. Proses pembuatan stok bakteri dilakukan untuk merevitalisasi dan memperbanyak populasi bakteri. Spesimen bakteri diinokulasikan ke media agar dengan menggunakan ose, dilanjutkan dengan inkubasi di inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Rizki, *et al.*, 2021).

c. Pembuatan standar kekeruhan suspensi bakteri (*McFarland 0,5*)

Larutan McFarland biasanya digunakan sebagai standar referensi untuk mengukur kekeruhan suspensi bakteri selama pengujian laboratorium. Larutan McFarland 0,5 dibuat dengan mencampurkan 0,05 ml larutan BaCl₂ 1% dengan 9,95 ml larutan H₂SO₄ 1%. Larutan tersebut kemudian diaduk dengan vortex hingga homogen (Rizki, *et al.*, 2021).

d. Pembuatan suspensi bakteri

Pembuatan larutan suspensi bakteri dilakukan dengan melarutkan 1 ose bakteri dengan 10 ml larutan NaCl fisiologis 0,9% ke dalam tabung reaksi, kemudian dikocok sampai diperoleh larutan yang homogen. Terakhir, suspensi distandarisasi menggunakan larutan McFarland yang telah dibuat sebelumnya yang berarti konsentrasi bakteri dalam suspensi adalah $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Rizki, *et al.*, 2021).

3.7.6 Pembuatan Ekstrak Daun Teh Hijau

Sebelum melakukan prosedur ekstraksi, daun teh hijau yang berasal dari salah satu perkebunan di Kabupaten Bandung Barat dan dijual oleh

toko KnQ Herbal, dikering-anginkan di dalam ruangan terlebih dahulu dan dioven hingga benar-benar kering. Daun teh hijau yang telah kering dipotong kecil-kecil, kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak hingga menjadi serbuk, lalu ditimbang (Sari, *et al.*, 2017).

Ekstraksi daun teh hijau pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan cara melarutkan serbuk daun teh hijau sebanyak 1000 g yang sudah dikeringkan sebelumnya menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 2,5 L. Dilakukan pengadukan dan penggantian larutan tiap 24 jam sampai bening, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Proses selanjutnya adalah menguapkan maserat yang telah didapatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga selesai menguap dan didapatkan ekstrak daun kental (Sari, *et al.*, 2017).

3.7.7 Penentuan Dosis Ekstrak

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Becker, *et al.* (2019), dalam uji 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide didapatkan hasil bahwa pada konsentrasi 2% dan 10% dari ekstrak daun teh hijau memiliki sifat sitotoksik terhadap keratinosit manusia yang merupakan komponen penting dalam proses penyembuhan luka. Oleh karena itu, peneliti hendak menggunakan konsentrasi diantara 2% dan 10% sebagai batas atas dan batas bawah dosis ekstrak daun teh hijau, tepatnya pada konsentrasi 2%, 4%, 8%, dan 10%.

3.7.8 Anestesi Hewan Coba

Anestesi untuk kelinci pada penelitian ini menggunakan kombinasi obat injeksi intramuskular xylazine 2% dengan dosis 5 mg/kgBB dan ketamine 10% dengan dosis 50 mg/kgBB (Herling, 2016). Peralatan yang digunakan untuk anestesi pada kelinci adalah *disposable syringe* dengan jarum berukuran 27 G (Al-Nawaiseh, *et al.*, 2016). Selanjutnya,

aplikasi topikal tetracaine 0,5% diberikan sebelum induksi ulserasi kornea oleh *Staphylococcus aureus* (Feghi, *et al.*, 2023).

3.7.9 Induksi Ulkus Kornea oleh *Staphylococcus aureus*

Disposable syringe 1 mL dengan jarum berukuran 30 G digunakan untuk menembus lapisan tengah stroma kornea. Jarum dihentikan pada batas zona optik berukuran 2 mm yang menghasilkan induksi ulkus (Feghi, *et al.*, 2023). Kemudian injeksikan 0,05 mL suspensi bakteri yang telah disiapkan sebelumnya ke dalam kornea kelinci (Aldebasi, *et al.*, 2014). Penilaian ulkus kornea pada kelinci dilakukan dengan tes fluoresensi yang diberikan 45 jam setelah induksi ulkus kornea.

Tes fluoresensi adalah tes dengan menggunakan zat warna fluorescein dan cahaya biru kobalt yang dapat mendeteksi cacat pada kornea. Sebelum melakukan tes ini, teteskan terlebih dahulu tetracaine 0,5% sebanyak 1 tetes pada mata, lalu basahi strip pewarna fluorescein dengan normal saline. Oleskan fluorescein di atas lesi atau forniks konjungtiva posterior dan biarkan zat warna merata. Ulkus kornea dikatakan positif ketika zat warna fluorescein memberikan warna hijau pada cacat epitel kornea (Campbell dan Gnugnoli, 2022).

3.7.10 Pemberian Antibiotik

Ofloxacin *eye drop* 0,3% adalah antibiotik yang dipilih sebagai terapi ulkus kornea pada penelitian ini dengan dosis 6 tetes per hari selama 3 minggu hingga didapatkan hasil negatif pada tes fluoresensi pada semua kelompok penelitian. Pemberian antibiotik dimulai setelah terbentuknya ulkus kornea.

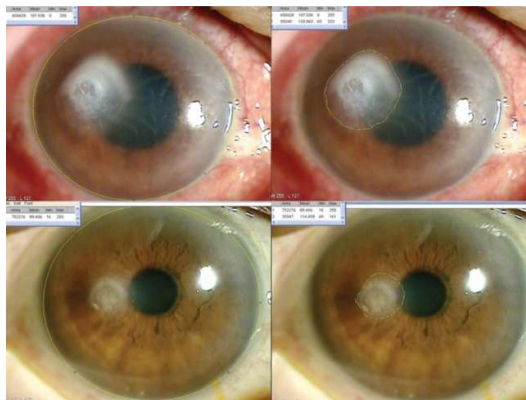
3.7.11 Pemberian Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*)

Ekstrak daun teh hijau diberikan dengan konsentrasi 2%, 4%, 8%, dan 10% sebanyak 6 tetes per hari selama 3 minggu hingga didapatkan hasil

negatif pada tes fluoresensi pada masing-masing kelompok perlakuan seperti yang sudah ditetapkan dan diberikan setelah terbentuknya ulkus kornea.

3.7.12 Pencatatan Waktu Penyembuhan Luka dan Luas Jaringan Parut

Pengukuran luas jaringan parut dilakukan satu minggu setelah pemberian perlakuan dengan ekstrak daun teh hijau dan antibiotik ofloxacin 0,3% di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pengukuran dilakukan dengan cara mengambil gambar jaringan parut lalu diukur luasnya dengan menggunakan aplikasi image J (Cho, *et al.*, 2014) dan dinyatakan dalam satuan mm² seperti yang terlihat pada gambar 15. Sedangkan untuk waktu penyembuhan luka akan dihitung sejak terbentuknya ulkus kornea sampai didapatkan hasil negatif pada tes fluoresensi.



Gambar 15. Pengukuran Luas Jaringan Parut Menggunakan Image J
(Cho, *et al.*, 2014)

3.7.13 Terminasi dan Pemusnahan Kelinci

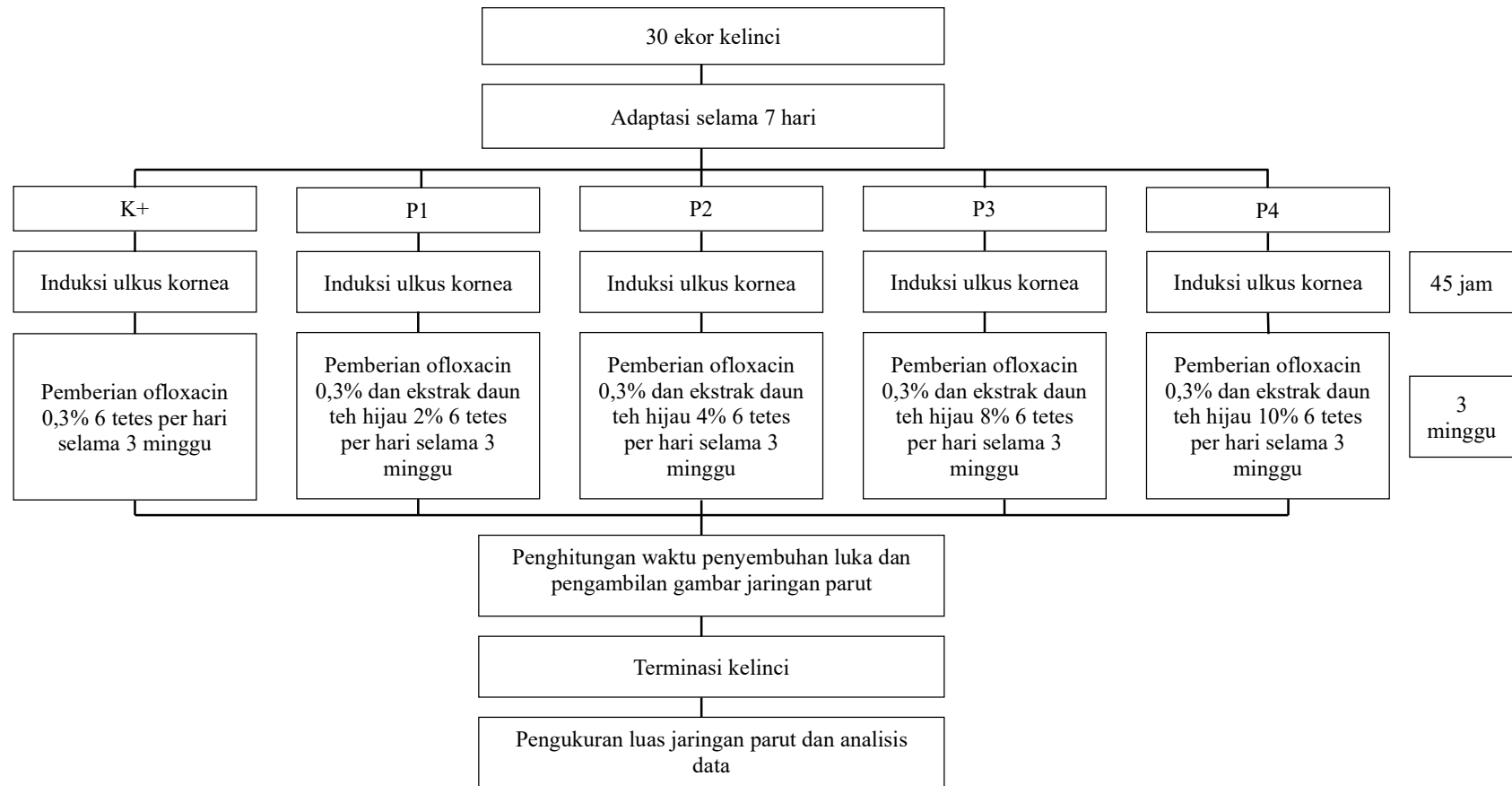
Anestesi untuk kelinci pada penelitian ini menggunakan kombinasi obat injeksi intramuskular xylazine 2% dengan dosis 5 mg/kgBB dan ketamine 10% dengan dosis 50 mg/kgBB (Herling, 2016). Peralatan yang digunakan untuk anestesi pada kelinci adalah *disposable syringe*

dengan jarum berukuran 30 G (Al-Nawaiseh, *et al.*, 2016). Setelah efek anestesi tercapai, penyembelihan kelinci dilakukan dengan memotong *trakhea*, esofagus, arteri karotis dan vena jugularis (Wahyono, *et al.*, 2021). Setelah penyembelihan selesai, pemusnahan hewan coba dilakukan dengan cara dibakar dan dikubur.

3.8 Analisis Data

Metode analisis data dilakukan dengan menggunakan program analisis statistik. Uji statistik yang digunakan untuk menilai efek ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai terapi *adjuvant* terhadap waktu penyembuhan luka adalah uji *Mann-Whitney*, karena data yang diperoleh merupakan data kategorik ordinal, namun tak memenuhi syarat uji *Chi-square* yaitu lebih dari 20% sel mempunyai *expected count* kurang dari 5. Sedangkan, uji statistik yang digunakan untuk menilai luas jaringan parut adalah uji *Kruskal-Wallis* dikarenakan data yang diperoleh tidak menunjukkan distribusi normal dan homogen. Selanjutnya, uji post hoc *Mann-Whitney* digunakan untuk memastikan adanya perbedaan signifikansi secara statistik antar kelompok.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 16. Alur Penelitian

3.11 Etika Penelitian

Ethical clearence penelitian ini telah diajukan ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan disetujui dengan nomor 1323/UN26.18/PP.05.02.00/2024.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai terapi *adjuvant* terbukti dapat mempercepat penyembuhan luka ulkus kornea pada konsentrasi 10%.
2. Ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai terapi *adjuvant* terbukti dapat mengurangi pembentukan luas jaringan parut pada semua konsentrasi.
3. Konsentrasi ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) yang diberikan berbanding terbalik dengan rata-rata luas jaringan parut yang terbentuk, kecuali pada konsentrasi 10% dimana rata-rata luasnya lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi 8%.
4. Konsentrasi optimal ekstrak untuk mempercepat waktu penyembuhan luka adalah 10%.
5. Konsentrasi optimal ekstrak untuk mengurangi pembentukan jaringan parut adalah 8%.

5.2 Saran

1. Peneliti dapat melakukan uji fitokimia secara kuantitatif, seperti menggunakan metode spektrofotometer Uv-Vis.
2. Peneliti dapat melakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan daun teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai terapi *adjuvant* pada ulkus kornea menggunakan metode fraksinasi dan pelarut lainnya, seperti n-

heksana dan etil asetat, serta metode uji dan induksi mikroba yang berbeda.

3. Peneliti dapat melakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek terapi kandungan metabolit sekunder pada daun teh hijau (*Camellia sinensis*), seperti flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan terpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, A. V., Andari, M. Y. (Jan 2023). Sebuah Tinjauan Pustaka: Diagnosis Hingga Prognosis Ulkus Kornea. *Jurnal Medika Hutama*, 4(2), 3292-3298.
- Akbar, M., Helijanti, N., Munir, M. A., Sofyan, A. (2019). Conjunctival Laceration of The Tarsalis Palpebra Inferior Et Causa by Fishing Hook. *Journal Medical Profession*, 1(2), 151-166.
- Aldebasi, Y. H., Mohamed, H. A., Aly, S. M. (2014). Histopathological Studies on Rabbits Infected by Bacteria Causing Infectious Keratitis in Human through Eye Inoculation. *International Journal of Health Sciences*, 8(3), 257-267. doi:10.12816/0023978
- Alghamdi, A. I. (2023). Antibacterial activity of green tea leaves extracts against specific bacterial strains. *Journal of King Saud University*, 35(5).
- Al-Nawaiseh, S., Thieltges, F., Liu, Z., Strack, C., Brinken, R., Braun, N., *et al.* (2016). A Step by Step Protocol for Subretinal Surgery in Rabbits. *Journal of Visualized Experiments*, 115. doi:10.3791/53927
- Amin, N. F., Garancang, S., Abunawas, K. (2023). Konsep Umum Populasi dan Sampel Dalam Penelitian. *Jurnal Kajian Islam Kontemporer*, 14(1), 15-31.
- Asley, R., Miller, F. C., Mursalin, M. H., Coburn, P. S., Callegan, M. C. (2019). An Eye on Staphylococcus aureus Toxins: Roles in Ocular Damage and Inflammation. *Toxins*, 11(6), 356. doi:10.3390/toxins11060356
- Becker, L. C., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D. C., *et al.* (2019). Safety Assessment of Camellia sinensis–Derived Ingredients As Used in Cosmetics. *International Journal of Toxicology*, 38(3), 48-70. doi:10.1177/1091581819889914
- BPS RI. (2020). *Statistik Teh Indonesia*. Jakarta: Badan Pusat Statistik Republik Indonesia.
- Byrd, L. B., Martin, N. (2022). Corneal Ulcer. i *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

- Campbell, T. D., Gnugnoli, D. M. (2022). Seidel Test. i *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Hämtat från <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541019/>
- Cantu, R., Steffe, J. A. (2013). Soft Tissue Healing Considerations After Surgery. i L. Maxey, & J. Magnusson, *Rehabilitation for the Postsurgical Orthopedic Patient* (3 uppl., ss. 15-25). Mosby.
- Chang, A. Y., Purt, B. (2023). Biochemistry, Tear Film. In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Cho, Y.-W., Yoo, W.-S., Kim, S.-J., Chung, I.-Y., Seo, S.-W., Yoo, J.-M. (2014). Efficacy of Systemic Vitamin C Supplementation in Reducing Corneal Opacity Resulting from Infectious Keratitis. *Medicine*, 93(23), 125. doi:10.1097/MD.0000000000000125
- Darby, I. A., Desmouliere, A. (2020). Scar Formation: Cellular Mechanisms. i *Textbook on Scar Management: State of the Art Management and Emerging Technologies* (ss. 19-26). Cham (CH): Springer.
- Delshad, S., Chun, J. M. (2013). Corneal endothelial cell density and morphology in low and moderate myopic Chinese eyes. *International Journal of Ophtalmology*, 6(4), 467-470.
- Dewi, B., Wardandi, T., Nurhayati, N. (2022). *Fitokimia*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Dianda, T. P., Suharti, P. H. (2022). Pengaruh Waktu Dan Kadar Etanol Pada Maserasi Lidah Buaya Terhadap Antiseptik Hand Sanitizer Gel. *Distilat Jurnal Teknologi Separasi*, 8(4), 1000-1008.
- Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia* (2 uppl.). Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Doersch, K. M., Newell-Rogers, M. K. (2017). The impact of quercetin on wound healing relates to changes in αV and $\beta 1$ integrin expression. *Experimental Biology and Medicine*, 242(14), 1424-1431. doi:10.1177/1535370217712961
- Eghrari, A. O., Riazuddin, A., Gottsch, J. D. (2015). Overview of the Cornea: Structure, Function, and Development. *Molecular Biology and Translational Science*, 134, 7-23. doi:10.1016/bs.pmbts.2015.04.001

- Endarini, L. H. (2021). Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L). *2-TRIK: Tunas-Tunas Riset Kesehatan*, *11*(2), 113-115.
- Faudone, G., Arifi, S., Merk, D. (2021). The Medicinal Chemistry of Caffeine. *Journal of Medical Chemistry*, *64*(11), 7156-7178. doi:10.1021/acs.jmedchem.1c00261
- Feghi, M., Makhmalzadeh, S., Masihpour, N., Amin, M., Mortazavinia, N. (2023). Investigating the effect of eye drops based on iodine nanoparticles in the treatment of corneal ulcers in rabbit eyes. *Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection*, *13*(47). doi:10.1186/s12348-023-00367-w
- Fitriani, A., Ngatimin, D., Anggara, A. (2020). OS CORNEAL ULCER. *Jurnal Medical Profession*, *2*(3), 161-165.
- Ghosh, A., Singh, V. K., Singh, V., Basu, S., Pati, F. (2022). Recent Advancements in Molecular Therapeutics for Corneal Scar Treatment. *Cells*, *11*(20), 3310.
- Gnanamani, A., Hariharan, P., Paul-Satyaseela, M. (2017). Staphylococcus aureus: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. i *Frontiers in Staphylococcus aureus* (ss. 1-28). Rijeka: IntechOpen.
- Graham, D. B., Tripp, J. (2023). Ofloxacin. i *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Guillamat-Prats, R. (2021). The Role of MSC in Wound Healing, Scarring and Regeneration. *Cells*, *10*(7), 1729. doi:10.3390/cells10071729
- Habibi, A. I., Arizal, F. R., Setyawati, S. M. (2018). Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*, *6*(2), 1-4.
- Han, H. S., Choi, S. Y., Kim, W.-S., Choi, Y.-J., Yoo, K. H. (2023). A narrative review of scar formation. *Medical Lasers*, *12*(2), 90-95. doi:10.25289/ML.23.017
- Hassanpour, K., ElSheikh, R. H., Arabi, A., Frank, C. R., Elhusseiny, A. M., Eleiwa, T. K., *et al.* (2022). Peripheral Ulcerative Keratitis: A Review.

Journal of Ophthalmic & Vision Research, 17(2), 252-275.
doi:10.18502/jovr.v17i2.10797

- Herling, A. W. (2016). Anesthesia of Experimental Animals. In *Drug Discover and Evaluation Pharmacological Assays* (4 ed., pp. 4296-4275). Cham: Springer.
- Hikmawanti, N. P., Fatmawati, S., Asri, A. W. (2020). The Effect of Ethanol Concentrations as The Extraction Solvent on Antioxidant Activity of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) Leaves Extracts. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 755. Yogyakarta: IOP Publishing.
- Hilal, Y. (2017). Morphology, Manufacturing, Types, Composition and Medicinal Properties of Tea (*Camellia sinensis*). *Journal of Basic and Applied Plant Sciences*, 1(2), 1-10.
- Kaczmarek, B. (2020). Tannic Acid with Antiviral and Antibacterial Activity as A Promising Component of Biomaterials—A Minireview. *Materials (Basel)*, 13(14), 3224.
- Khan, M. I., Ahhmed, A., Shin, J. H., Baek, J. S., Kim, M. Y., Kim, J. D. (2018). Green Tea Seed Isolated *Saponins* Exerts Antibacterial Effects against Various Strains of Gram Positive and Gram Negative Bacteria, a Comprehensive Study In Vitro and In Vivo. *Evid Based Complement Alternat Med*, 3486106.
- Khurshid, Z., Zafa, M. S., Zohaib, S., Najeeb, S., Naseem, M. (2016). Green Tea (*Camellia Sinensis*): Chemistry and Oral Health. *The Open Dentistry Journal*, 10, 166-173.
- Kumar, S., Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of *Flavonoids*: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 1-16.
- Lakhundi, S., Siddiqui, R., Khan, N. A. (2017). Pathogenesis of microbial keratitis. *Microbial Pathogenesis*, 104, 97-109.
- Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., Wang, S., *et al.* (2016). Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients*, 8(3), 167. doi:10.3390/nu8030167

- Liu, D. (2015). Enterotoxin-Producing *Staphylococcus aureus*. i Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Poxton, & J. Schwartz, *Molecular Medical Microbiology* (2 uppl., ss. 979-995). China: Academic Press.
- Liu, S., Zhang, Q., Li, H., Qiu, Z., Yu, Y. (2022). Comparative Assessment of the Antibacterial Efficacies and Mechanisms of Different Tea Extracts. *Foods*, 11(4), 620. doi:10.3390/foods11040620
- Livingston, E. T., Mursalin, M. H., Callegan, M. C. (2019). A Pyrrhic Victory: The PMN Response to Ocular Bacterial Infections. *Microorganisms*, 7(11), 537. doi:10.3390/microorganisms7110537
- Lobo, A.-M., Agelidis, A. M., Shukla, D. (2019). Pathogenesis of herpes simplex keratitis: the host cell response and ocular surface sequelae to infection and inflammation. *Ocul Surf*, 17(1), 40-49.
- Ludwig, P. E., Lopez, M. J., Sevensma, K. E. (2023). Anatomy, Head and Neck, Eye Cornea. i *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Hämtat från <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470340/>
- Mahardika, N. P., Himayani, R. (2019). Ulkus Kornea Cum Hipopion Berhubungan Trauma Tumbuhan pada Mata. *J Agromedicine*, 6(1), 216-220.
- Marshall, C. D., Hu, M. S., Leavitt, T., Barnes, L. A., Lorenz, H. P., Longaker, M. T. (2018). Cutaneous Scarring: Basic Science, Current Treatments, and Future Directions. *Advances In Wound Care*, 7(2), 29-45. doi:10.1089/wound.2016.0696
- Martono, B., Setiyono, R. T. (2014). Skrining Fitokimia Enam Genotipe Teh. *J. TIDP*, 1(2), 63-68.
- Mathew, M., Arya, A. R., Cherian, A. (2022). Factors associated with poor prognosis in corneal ulcer: A clinical and epidemiological study. *Kerala Journal of Ophthalmology*, 34(1), 37-41.
- McKay, T. B., Karamichos, D. (2017). Quercetin and the ocular surface: What we know and where we are going. *Experimental Biology and Medicine*, 242, 565-572. doi:10.1177/1535370216685187
- Mescher, A. L. (2013). *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas* (13 uppl.). Jakarta: EGC.

- Mills, B., Radhakrishnan, N., Rajapandian, S. G., Rameshkumar, G., Lalitha, P., Venkatesh, P. N. (2021). The role of fungi in fungal keratitis. *Experimental Eye Research*, 202.
- Novilla, A., Margahyani, W., Rihibiha, D. D. (2022). Antioxidant Activities of Green Tea (*Camellia sinensis* L.) Leaves From Ciwidey, West Java. *The 4th International Seminar on Global Health* (ss. 143-150). KnE Medicine.
- Paulsen, F., Waschke, J. (2011). *Sobotta Atlas of Human Anatomy* (15 uppl.). Jakarta: EGC.
- Peiffer, R. L., Pohm-Thorsen, L., Corcoran, K. (2013). Models in Ophthalmology and Vision Research. *The Biology of the Laboratory Rabbit, 1994*, 409-433. doi:10.1016/B978-0-12-469235-0.50025-7
- PERDAMI. (2019). *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Ulkus Kornea Bakteri*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Putri, D. M., Lubis, S. S. (2020). Skrining Fitokimia EKstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). *Amina*, 2(3), 120-125.
- Rahardjo, M., Mangalik, G., Sihombing, M., Costa, J. F. (2018). Effect of the Extraction Solvent Polarity and the Ratio of Feed and Solvent on the Phytochemical Content and Antioxidant Activity of Red Betel Leaves (*Piper crocatum*). *Indonesian Journal of Agricultural Research*, 1(1), 71-77.
- Rahayu, R. M., Wulan, A. J. (Jan 2016). Laki-Laki 24 Tahun dengan Ulkus Kornea dan Prolaps Iris Oculi Dextra. *J Medula Unila*, 5(2), 81-85.
- Rini, C. S., Saidi, I. A., Rohmah, J. (2023). Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Flour as an Alternative Culture Media for the Growth of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 12(1), 32-37.
- RISKESDAS. (2013). *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Rizki, S. A., Latief, M., Fitrianiingsih, Rahman, H. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, dan Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan

- Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi*, 442-457.
- Saeed, M., Khan, M. S., Kamboh, A. A., Alagawany, M., Khafaga, A. F., Noreldin, A. E., *et al.* (2020). L-theanine: an astounding sui generis amino acid in poultry nutrition. *Poultry Science*, 99(11), 5625-5636. doi:10.1016/j.psj.2020.07.016
- Salmon, J. F. (2020). *KANSKI'S Clinical Ophtalmology A Systematic Approach* (9 ed.). China: Elsevier.
- Salsabila, R. (2019). *Efek Ekstrak Bawang Bombay (Allium cepa L.) Terhadap Luas Jaringan Parut pada Kelinci Model Ulkus Kornea oleh Staphylococcus aureus*. Jember: FK Universitas Jember.
- Samanta, S. (2020). Potential Bioactive Components and Health Promotional Benefits of Tea (*Camellia sinensis*). *Journal of the American College of Nutrition*, 41(1), 65-93. doi:10.1080/07315724.2020.1827082
- Santra, M., Liu, Y.-C., Jhanji, V., Yam, G. H.-F. (2022). Human SMILE-Derived Stromal Lenticule Scaffold for Regenerative Therapy: Review and Perspectives. *International Journal of Moleculer Sciences*, 23(14), 7967. doi:10.3390/ijms23147967
- Sari, R., Muhani, M., Fajriaty, I. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(3), 143-154.
- Saryono. (2013). Potensi Teh Hijau Dalam Penyembuhan Luka: Sistematis Review. *Prosiding Konferensi Nasional PPNI Jawa Tengah* (ss. 202-205). Purwokerto: FKIK Universitas Jenderal Soedirman.
- Sastroasmoro, S., Ismael, S. (2014). *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Sidgwick, G. P., McGeorge, D., Bayat, A. (2015). A comprehensive evidence-based review on the role of topicals and dressings in the management of skin scarring. *Archives of Dermatological Research*, 307, 461-477. doi:10.1007/s00403-015-1572-0

- Sitorus, R. S., Widyawati, S., Sitompul, R., Bani, A. P. (2017). *Buku Ajar Oftalmologi* (1 uppl.). Jakarta: Badan Penerbit FK UI.
- Sridhar, M. S. (2018). Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian Journal of Ophtalmology*, 66(2), 190-194.
- Sugioka, K., Yoshida, K., Murakami, J., Itahashi, M., Mishima, H., Nishida, T., Kusaka, S. (2019). Inhibition by Epigallocatechin Gallate of IL-1-Induced Urokinase-Type Plasminogen Activator Expression and Collagen Degradation by Corneal Fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 60(8), 2895-2903.
- Sumbayak, D. G. P. S., Himayani, R., Yusran, M. (2019). Ulkus Kornea Impending Perforasi. *Majority*, 8(1), 35-39.
- Titilal, J. S., Negi, S., Anand, A., Tandon, R., Sharma, N., Vajpayee, R. B. (2006). Risk factors for perforation in microbial corneal ulcers in north India. *British Journal of Ophtalmology*, 90(6), 686-689.
- Wahyono, T., Sadarman, Handayani, T., Trinugraha, A. C., Priyoatmojo, D. (2021). Evaluasi Performa Karkas Kelinci Lokal dan New Zealand White Jantan pada Berat Potong yang Berbeda. *Jurnal Peternakan*, 18(1), 51-60.
- Wang, C., Han, J., Pu, Y., Wang, X. (2022). Tea (*Camellia sinensis*): A Review of Nutritional Composition, Potential Applications, and Omics Research. *Applied Sciences*, 12(12), 5874.
- Wang, S., Yao, J., Zhou, B., Yang, J., Chaudry, M. T., Wang, M., *et al.* (2018). Bacteriostatic Effect of Quercetin as an Antibiotic Alternative In Vivo and Its Antibacterial Mechanism In Vitro. *Journal of Food Protection*, 81(1), 68-78. doi:10.4315/0362-028X.JFP-17-214
- Wardani, T. (2021). *Isolasi dan Analisis Tumbuhan Obat*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Wuletaw, T., Geta, M., Bitew, A., Mulugeta, W., Gelaw, B. (2021). Clinical and Microbiological Profile of Bacterial and Fungal Suspected Corneal Ulcer at University of Gondar Tertiary Eye Care and Training Centre, Northwest Ethiopia. *Journal of Ophtalmology*, 2021, 1-9.
- Xu, F.-W., Lv, Y.-L., Zhong, Y.-F., Xue, Y.-N., Wang, Y., Zhang, L.-Y., *et al.* (2021). Beneficial Effects of Green Tea EGCG on Skin Wound Healing: A

Comprehensive Review. *Molecules*, 26(20), 6123.
doi:10.3390/molecules26206123

- Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B., Li, M. (2021). Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural *Alkaloids*: A Review. *Antibiotics (Basel)*, 10(3), 318.
- Yunita, S. L., Atmadani, R. N., Titani, M. (2021). Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pengatahuan dan Perilaku Penggunaan Antibiotika Pada Mahasiswa Farmasi Universitas Muhammadiyah Malang. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 63(2), 119-123.
- Zhao, Y., Su, R., Zhang, W., Yao, G.-L., Chen, J. (2020). Antibacterial activity of tea *saponin* from *Camellia oleifera* shell by novel extraction method. *Industrial Crops and Products*, 153, 112604.