

**PERBEDAAN ANTARA KADAR VITAMIN C PADA  
NEONATUS DENGAN KADAR BILIRUBIN  
MENINGKAT DAN TIDAK MENINGKAT**

**THE DIFFERENCE BETWEEN THE LEVEL OF VITAMIN C IN  
NEONATES WITH AND WITHOUT INCREASING BILIRUBIN LEVEL**



**Tesis**

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana S-2 dan  
memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Kesehatan Anak**

**M. Rifki Agung C.**

**G4A005009**

**PROGRAM PASCA SARJANA MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
DAN  
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I ILMU KESEHATAN ANAK  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2010  
DAFTAR ISI**

<b>JUDUL.....</b>	<b>i</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>ii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>BAB 1- PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1. LATAR BELAKANG.....	1
1.2. RUMUSAN MASALAH.....	3
1.3. TUJUAN PENELITIAN .....	4
1.3.1. TUJUAN UMUM .....	4
1.3.2. TUJUAN KHUSUS .....	4
1.4. MANFAAT PENELITIAN .....	4
1.5. ORISINALITAS PENELITIAN .....	5
<b>BAB 2-TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1. HIPERBILIRUBINEMIA .....	7
2.1.1. BATASAN .....	7
2.1.2. METABOLISME BILIRUBIN .....	8
2.1.3. PENYEBAB HIPERBILIRUBINEMIA .....	11
2.1.4. DAMPAK HIPERBILIRUBINEMIA .....	13
2.2. OKSIDAN DAN ANTIOKSIDAN.....	15
2.2.1. OKSIDAN.....	15
2.2.2. ANTIOKSIDAN.....	16
2.2.2. DAMPAK OKSIDAN .....	17
2.3. VITAMIN C .....	17
2.3.1. METABOLISME VITAMIN C .....	17
2.3.2. VITAMIN C SEBAGAI ANTIOKSIDAN .....	20
2.4. VITAMIN E SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN METABOLISME .....	23
2.5. INTERAKSI ANTAR ANTIOKSIDAN .....	24
<b>BAB 3-KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS ..</b>	<b>27</b>
3.1. KERANGKA TEORI .....	27
3.2. KERANGKA KONSEP .....	28
3.3. HIPOTESIS .....	28
<b>BAB 4-METODE PENELITIAN .....</b>	<b>29</b>
4.1. RUANG LINGKUP PENELITIAN .....	29

4.2. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN .....	29
4.3. RANCANGAN PENELITIAN .....	29
4.4. POPULASI DAN SAMPEL .....	30
4.4.1. POPULASI PENELITIAN .....	30
4.4.2. SAMPEL PENELITIAN .....	30
4.4.3. CARA SAMPLING .....	30
4.4.4. BESAR SAMPEL .....	31
4.5. VARIBEL PENELITIAN .....	32
4.6. DEFINISI OPERASIONAL .....	32
4.7. PENGUMPULAN DATA .....	33
4.8. ALUR PENELITIAN .....	35
4.9. ANALISIS DATA .....	36
4.10. ETIKA PENELITIAN .....	38
<b>BAB 5-HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>39</b>
5.1. KARAKTERISTIK SUBJEK PENELITIAN .....	39
5.2. RERATA KADAR BILIRUBIN .....	41
5.3. RERATA KADAR VITAMIN C .....	42
5.4. RERATA KADAR VITAMIN E .....	42
5.5. PERBEDAAN KADAR VITAMIN C DAN VITAMIN E PADA KADAR BILIRUBIN MENINGKAT DAN TIDAK MENINGKAT.....	43
5.6. ANALISIS MULTIVARIAT KADAR VITAMIN C DAN VITAMIN E TERHADAP PENINGKATAN KADAR BILIRUBIN.....	45
<b>BAB 6-PEMBAHASAN .....</b>	<b>47</b>
<b>BAB 7-KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>51</b>
7.1. KESIMPULAN .....	51
7.2. SARAN .....	51
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>53</b>

## DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1 : Normogram bilirubin terhadap usia bayi  
Gambar 2 : Alur Metabolisme Pemecahan Hem dan Pembentukan Bilirubin  
Gambar 3 : Metabolisme Bilirubin  
Gambar 4 : Penyebab terjadinya hiperbilirubinemia indirek  
Gambar 5: Interaksi dan sinergisme antara system antioksidan fase lipid dan sitosol  
Gambar 6 : Biosintesis vitamin C  
Gambar 7: Siklus vitamin E  
Gambar 8: Siklus vitamin E dan vitamin C sebagai antioxidant network bereaksi terhadap radikal bebas

## DAFTAR TABEL

- Tabel 1 : Konsentrasi vitamin C pada berbagai organ  
Tabel 2 : Plasma Vitamin C, prevalensi defisiensi vitamin C dan prevalensi deplesi vitamin C sesuai katagori Etnik  
Tabel 3 : Efek vitamin C terhadap antioksidan yang lain  
Tabel 4 : Karakteristik ibu dan neonatus pada kelompok kadar bilirubin meningkat dan tidak meningkat  
Tabel 5 : Kadar bilirubin berdasar kategori kadar bilirubin meningkat dan tidak meningkat  
Tabel 6 : Kadar vitamin C berdasar kategori kadar bilirubin meningkat dan tidak meningkat.  
Tabel 7 : Kadar vitamin E berdasar kategori kadar bilirubin meningkat dan tidak meningkat.  
Tabel 8 : Perbedaan kadar vitamin C berdasarkan kategori kadar bilirubin meningkat dan tidak meningkat  
Tabel 9 : Perbedaan kadar vitamin E berdasarkan kategori kadar bilirubin meningkat dan tidak meningkat.  
Tabel 10 : Pengaruh kadar vitamin C dan vitamin E terhadap peningkatan kadar bilirubin

## DAFTAR SINGKATAN

- SOD* = *Superoxyde Dismutase*  
*CAT* = *Catalase*

<i>SOR</i>	=	<i>Spesies Oksigen Reaktif</i>
<i>G6PD</i>	=	<i>Glucose 6 Phosphate Dehydrogenase</i>
<i>GPx</i>	=	<i>Glutathion Peroxydase</i>
<i>GR</i>	=	<i>Glutathion Reductase</i>
<i>GSSG</i>	=	<i>Glutation teroksigenasi</i>
<i>GSH</i>	=	<i>Glutation tereduksi</i>
<i>MDA</i>	=	<i>Malondealdehide</i>
<i>H2O2</i>	=	<i>Hydrogen peroxyde</i>
<i>Co Hb</i>	=	<i>Carboxyhaemoglobine</i>
<i>HO</i>	=	<i>Hem Oxygenase</i>
<i>Met Hb.</i>	=	<i>Methaemoglobin</i>
<i>NADPH</i>	=	<i>Niacin Adenin Dinucleotide Phosphate</i>
<i>PBRT</i>	=	<i>Pelayanan Bayi Risiko Tinggi.</i>
<i>SH</i>	=	<i>gugus Sulfidril</i>
<i>GC</i>	=	<i>guanylyl cyclase</i>
<i>cGMP</i>	=	<i>cyclic guanosine monophosphate</i>
<i>HbO</i>	=	<i>oksi hemoglobin</i>

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Angka kematian bayi usia kurang 1 tahun (*AKB/Infant Mortality Rate*), 2/3-nya merupakan kematian bayi kurang 1 bulan (*AKN/Neonatal Mortality Rate*), sehingga dapat dikatakan bahwa AKN merupakan bagian terbesar AKB, dimana AKB dijadikan indikator kemajuan kesehatan di suatu negara (*Sistem Kesehatan Nasional/SKN*).<sup>1</sup> Hiperbilirubinemia merupakan salah satu penyebab kematian bayi dan kecacatan dikemudian hari, sehingga faktor risiko yang dapat menimbulkan hiperbilirubinemia perlu mendapat perhatian.<sup>2</sup>

Hiperbilirubinemia adalah peningkatan kadar bilirubin serum melebihi normal, ikterus atau kuning pada kulit akan terlihat apabila kadar bilirubin lebih dari 5 mg/dl. Pada bayi aterm terjadi peningkatan kadar bilirubin yang mencapai puncak 5-6 mg/dl pada hari ke 3-4 kehidupan kemudian akan menurun, hal ini disebut ikterus fisiologis.<sup>2,3</sup> Pada kebanyakan bayi baru lahir, hiperbilirubinemia merupakan fenomena transisional yang normal, tapi pada beberapa bayi terjadi peningkatan bilirubin secara berlebihan sehingga bilirubin berpotensi menjadi patologis. Pada penelitian ini yang dimaksud kadar bilirubin meningkat adalah kadar bilirubin yang melebihi kadar puncak yaitu  $> 5$  mg/dl, sedangkan kadar bilirubin tidak meningkat adalah kadar bilirubin yang kurang dari kadar puncak yaitu  $< 5$  mg/dl. Bilirubin dapat melewati sawar darah otak, bersifat toksik terhadap sel-sel susunan saraf pusat,

sehingga dapat menimbulkan kerusakan otak menetap dan berisiko kematian atau menimbulkan gejala sisa berupa kecacatan perkembangan di kemudian hari.<sup>2,4,5</sup> Peningkatan bilirubin disebut patologis bila : ikterus terjadi sebelum umur 24 jam, setiap peningkatan kadar bilirubin serum yang memerlukan fototerapi, peningkatan bilirubin total serum  $>0,5$  mg/dl/jam, adanya tanda-tanda penyakit yang mendasari pada setiap bayi (muntah, letargis, malas, menetek, penurunan berat badan yang cepat, apnea, takipnea, atau suhu yang tidak stabil), ikterus yang bertahan setelah 8 hari pada bayi cukup bulan atau setelah 14 hari pada bayi kurang bulan.<sup>6</sup>

Bilirubin pada neonatus sebagian besar berasal dari pemecahan hemoglobin akibat lisis eritrosit, sehingga kadar bilirubin dapat dipakai sebagai petunjuk adanya hemolisis, sebagian kecil lainnya berasal dari pelepasan hemoglobin karena eritropoeisis yang tidak efektif di dalam sumsum tulang, jaringan yang mengandung protein hem (mioglobin, katalase, peroksidase, sitokrom) dan hem bebas. Tingginya kadar bilirubin pada neonatus disebabkan karena lisis eritrosit akibat tingginya siklus pergantian eritrosit dan pemendekan waktu hidup eritrosit yaitu 80 hari dibanding pada usia dewasa 120 hari. Bilirubin ini disebut bilirubin *unconjugated* (bilirubin indirek)<sup>7</sup>, sehingga pada penelitian ini yang dimaksud dengan kadar bilirubin adalah kadar bilirubin indirek. Eritrosit bayi baru lahir relatif sensitif terhadap oksidan dibandingkan eritrosit anak, hal ini karena berkurangnya kemampuan kapasitas eritrosit neonatus terhadap stres oksidatif sebagai akibat penurunan sistem pertahanan antioksidan terutama pada bayi kurang bulan (BKB).<sup>6</sup>

Akhir-akhir ini perhatian dunia kedokteran terhadap oksidan makin meningkat. Perhatian ini terutama ditimbulkan oleh kesadaran bahwa oksidan dapat menimbulkan kerusakan sel dan menjadi penyebab atau mendasari berbagai keadaan patologis. Oksidan kuat sebagian berbentuk radikal bebas yang dihasilkan selama proses metabolisme dalam eritrosit maupun sebagian besar sel tubuh. Oksidan kuat dapat mengganggu integritas sel, khususnya yang mengandung asam lemak tak jenuh dimana merupakan komponen fosfolipid penyusun membran sel, DNA dan protein sel. Pembentukan radikal bebas yang melebihi *antioxidant defense capacity* menyebabkan stres oksidatif atau peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (SOR) yang berdampak kerusakan organ yang rentan seperti lipid membran sel, asam amino penyusun protein enzim, dan DNA.<sup>8</sup>

Tubuh mempunyai sistem pertahanan antioksidan yang efisien terhadap stres oksidatif, yaitu beberapa enzim termasuk katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD), glutathione peroksidase (GPx), dan antioksidan non enzim seperti glutathione tereduksi (GSH), vitamin C dan vitamin E. Vitamin C ikut serta mencegah terjadinya hemolisis yang kemudian dapat mencegah hiperbilirubinemia pada neonatus.<sup>8</sup> Vitamin E suatu antioksidan poten yang bekerja pada membran sel dengan cara mencegah peroksidasi lipid yang secara efektif melindungi membran sel termasuk membran sel eritrosit.<sup>8</sup>

Vitamin C berasal dari ibu dan *intake* setelah lahir. Kerusakan oksidatif pada eritrosit dapat mengakibatkan hiperbilirubinemia. Vitamin C sebagai antioksidan berfungsi mengurangi atau menghindari stres oksidatif. Pada penelitian Wen Y<sup>9</sup> dkk

disebutkan peranan vitamin C meningkatkan glutathion tereduksi (GSH) serta menurunkan kadar malonaldehida (MDA) sel eritrosit sehingga proses hemolisis dapat dikurangi atau dicegah. Vitamin C mempunyai kemampuan antioksidan karena mampu bereaksi dengan radikal bebas dengan cara melepas elektronnya. Vitamin C melepas elektron menjadi radikal askorbil, bereaksi dengan SOR terutama dengan radikal hidroksil (OH<sup>·</sup>) dan anion superoksida (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>), serta meregenerasi vitamin E.

Penelusuran pustaka oleh peneliti tentang hubungan antioksidan vitamin C dengan kejadian hiperbilirubinemia masih belum banyak dijumpai, khususnya di Indonesia.

Berdasar latar belakang tersebut maka penulis bermaksud mengadakan penelitian tentang perbedaan kadar vitamin C serum pada neonatus dengan kadar bilirubin meningkat dan neonatus dengan kadar bilirubin tidak meningkat.

## **1. 2. Rumusan Masalah**

Berdasarkan patofisiologi, bahwa stres oksidatif dapat menyebabkan hemolisis yang berdampak peningkatan kadar bilirubin. Vitamin C dan vitamin E merupakan antioksidan yang dapat mencegah atau menurunkan reaksi stres oksidatif, maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut: **Apakah terdapat perbedaan antara kadar vitamin C serum pada neonatus dengan kadar bilirubin meningkat dan neonatus dengan kadar bilirubin tidak meningkat ?**

### **1. 3. Tujuan Penelitian**

#### **1. 3. 1. Tujuan Umum**

Menganalisis perbedaan antara kadar vitamin C serum neonatus dengan kadar bilirubin meningkat dan tidak meningkat.

#### **1. 3. 2. Tujuan Khusus**

1. Mengetahui kadar vitamin C serum pada neonatus dengan kadar bilirubin meningkat.
2. Mengetahui kadar vitamin C serum pada neonatus dengan kadar bilirubin tidak meningkat.
3. Menganalisis perbedaan antara kadar vitamin C serum pada neonatus dengan kadar bilirubin meningkat dan neonatus dengan kadar bilirubin tidak meningkat.
4. Menganalisis pengaruh kadar vitamin C terhadap peningkatan kadar bilirubin dengan mempertimbangkan pengaruh vitamin E.

### **1. 4. Manfaat Penelitian**

#### **1. Pendidikan**

Sebagai tambahan pustaka dan pengetahuan, khususnya mengenai antioksidan vitamin C dalam kaitannya dengan kadar bilirubin pada neonatus.

## 2. Penelitian

Penelitian tentang hubungan kadar vitamin C sebagai antioksidan dengan kadar bilirun pada neonatus, diharapkan dapat dijadikan dasar bagi penelitian selanjutnya.

## 3. Pelayanan Kesehatan

Diharapkan dari hasil penelitian dapat dipertimbangkan penelitian lebih lanjut/multisenter pemberian vitamin C sebagai antioksidan pada bayi baru lahir.

### 1. 5. Orisinalitas Penelitian

Berdasarkan penelusuran pustaka yang telah dilakukan, penelitian tentang hubungan antioksidan khususnya vitamin C dengan kadar bilirubin pada neonatus masih terbatas.

#### **Beberapa penelitian terdahulu yang berkaitan dengan hiperbilirubinemia :**

No	Judul, peneliti, nama jurnal	Tujuan, Jumlah sampel, Desain	Hasil
1	- <i>Antioxidant vitamins and hyperbilirubinemia in neonates</i> <sup>10</sup> - Abdul-Razzak,	- Melihat hubungan antara kadar vitamin E dan vitamin C plasma dengan keparahan hiperbilirubinemia pada neonatus aterm dengan aktivitas G-6-PD yang normal.	Kadar vitamin C dan E plasma rata-rata hari pertama neonatus aterm yang berkembang menjadi hiperbilirubinemia

No	Judul, peneliti, nama jurnal	Tujuan, Jumlah sampel, Desain	Hasil
	Nusier, Obediat, Salim. GMS Ger Med Sci 2007; 5: Doc03.	- 130 neonatus. - <i>Cross-sectional</i> .	secara signifikan < dibanding neonatus aterm yang tidak berkembang menjadi hiperbilirubinemia.
2	- <i>Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant enzymes in neonatal jaundice patients.</i> <sup>11</sup> - Mohan, Priya V. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2008;(3)827-32.	- Mengetahui status antioksidan dan pro-oksidan pada neonatus yang mengalami ikterus. - 48 neonatus yang mengalami ikterus dan 48 neonatus yang sehat. - Penelitian observasional.	Produksi oksigen radikal bebas yang tinggi, ditunjukkan oleh peningkatan kadar MDA, dan penurunan kadar GSH, vitamin C, vitamin E, dan aktivitas katalase, mendukung adanya stres oksidatif pada neonatus yang mengalami ikterus.
3	<i>The effect of pharmacological supplementation</i>	Melihat efek vitamin C terhadap antioksidan yang lain.	11 orang diberikan suplementasi vitamin C selama 4 minggu

No	Judul, peneliti, nama jurnal	Tujuan, Jumlah sampel, Desain	Hasil
	<i>with vitamin C on low-density lipoprotein oxidation</i> <sup>9</sup> Wen Y, Cooke T, Feely J <i>Brithish Journal Pharmacology.</i> 1997; 44; 94-97.	Randomized Control Trial (RCT).	dan 9 orang sebagai kontrol. Didapatkan penurunan MDA, peningkatan vitamin E dan GSH darah merah

Pada penelitian ini berbeda dengan penelitian yang sudah ada sebelumnya, yaitu pada variabel kadar bilirubin dibedakan antara kadar meningkat ( $\geq 5\text{mg/dl}$ ) dengan kadar tidak meningkat ( $< 5\text{mg/dl}$ ), kasus/sampel diambil pada hari ke-3 dengan alasan merupakan saat kadar bilirubin mencapai puncak pada kadar 5-6 mg/dl setelah itu akan menurun. Populasi pada penelitian ini adalah bayi sehat yang dirawat di Ruang X RSUP Dr. Kariadi.

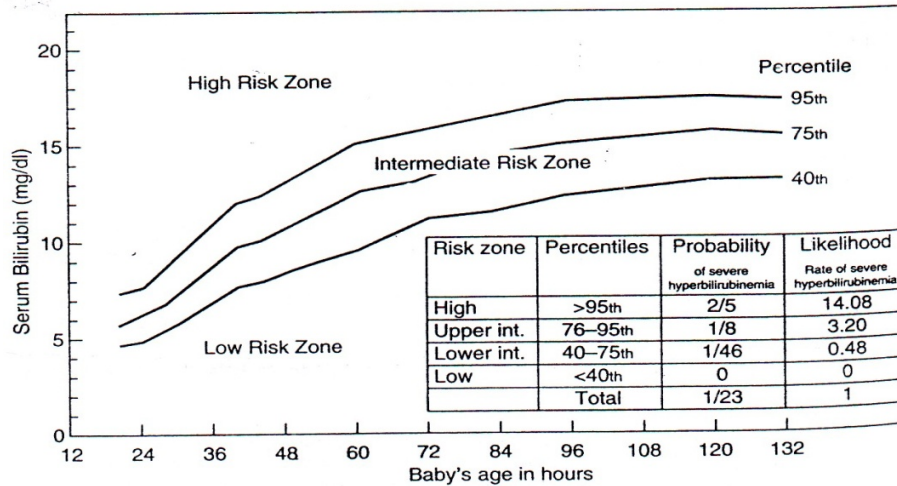
## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Hiperbilirubinemia**

##### **2.1.1. Batasan**

Hiperbilirubinemia adalah peningkatan kadar bilirubin serum melebihi normal, ikterus atau kuning pada kulit akan terlihat apabila kadar bilirubin lebih dari 5 mg/dl. Pada bayi aterm akan terjadi peningkatan bilirubin mencapai puncak 5-6 mg/dl pada hari ke 3-4 kehidupan kemudian akan menurun, disebut ikterus fisiologis.<sup>2,3</sup> Pada kebanyakan bayi baru lahir, hiperbilirubinemia merupakan fenomena transisional yang normal, tapi pada beberapa bayi terjadi peningkatan bilirubin secara berlebihan sehingga bilirubin berpotensi menjadi patologis. Bilirubin dapat melewati sawar darah otak, bersifat toksik terhadap sel-sel susunan saraf pusat, sehingga dapat menimbulkan kerusakan otak menetap dan berisiko kematian atau menimbulkan gejala sisa berupa kecacatan perkembangan di kemudian hari.<sup>2,4,5</sup>



Gambar 1 : Normogram bilirubin terhadap usia bayi

Sumber : Bhutani VK, Johnson LH<sup>3</sup>

Peningkatan kadar bilirubin disebut patologis bila : ikterus terjadi sebelum umur 24 jam, setiap peningkatan kadar bilirubin serum yang memerlukan fototerapi, peningkatan bilirubin total serum  $>0,5$  mg/dl/jam, adanya tanda-tanda penyakit yang mendasari pada setiap bayi (muntah, letargis, malas, menetek, penurunan berat badan yang cepat, apnea, takipnea, atau suhu yang tidak stabil), ikterus yang bertahan setelah 8 hari pada bayi cukup bulan atau setelah 14 hari pada bayi kurang bulan.<sup>6</sup>

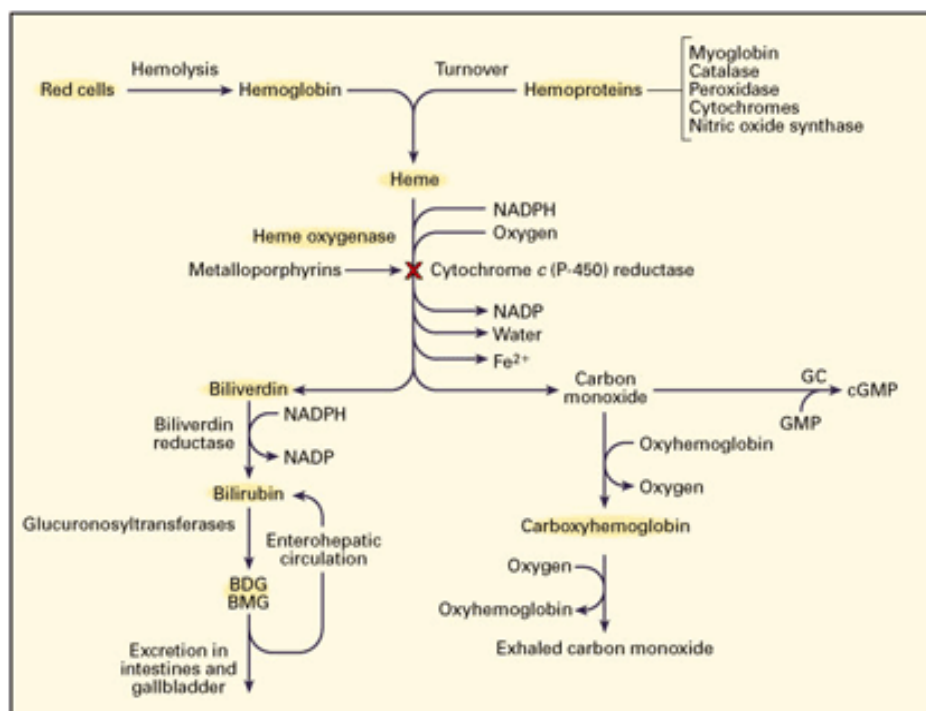
Bilirubin pada neonatus sebagian besar berasal dari pemecahan hemoglobin akibat lisis eritrosit, sehingga kadar bilirubin dapat dipakai sebagai petunjuk adanya hemolisis, bilirubin ini disebut bilirubin *unconjugated* (bilirubin indirek), sehingga pada penelitian ini yang dimaksud dengan kadar bilirubin adalah kadar bilirubin indirek. Sebagian kecil lainnya berasal dari pelepasan hemoglobin karena

eritropoeisis yang tidak efektif di dalam sumsum tulang, jaringan yang mengandung protein hem (mioglobin, katalase, peroksidase, sitokrom) dan hem bebas. Tingginya kadar bilirubin pada neonatus disebabkan karena lisis eritrosit akibat tingginya siklus pergantian eritrosit dan pemendekan waktu hidup eritrosit yakni 80 hari dibanding pada usia dewasa 120 hari.<sup>7</sup>

### **2.1.2. Metabolisme Bilirubin**

Pada neonatus sekitar 75% produksi bilirubin berasal dari katabolisme hemoglobin dimana 1 gram hemoglobin akan menghasilkan 34 mg bilirubin, sehingga kadar bilirubin bisa dijadikan petanda hemolisis, 25% sisanya berasal dari pelepasan hemoglobin karena eritropoesis yang tidak efektif di dalam sumsum tulang, jaringan yang mengandung protein hem (mioglobin, katalase, peroksidase, sitokrom), dan hem bebas.<sup>12,13</sup> Mula-mula hem dilepaskan dari hemoglobin eritrosit yang mengalami hemolisis di sel-sel retikuloendotelial juga dari hemoprotein lain (mioglobin, katalase, peroksidase, sitokrom, nitrit oksida sintase) yang terdapat di berbagai organ dan jaringan. Selanjutnya, globin akan diuraikan menjadi unsur-unsur asam amino untuk digunakan kembali, zat besi dari hem memasuki depot zat besi untuk pemakaian kembali, sedangkan hem akan dikatabolisme melalui serangkaian proses enzimatik. Bagian porfirin tanpa besi pada hem juga diuraikan, terutama di dalam sel-sel retikuloendotelial pada hati, limpa dan sumsum tulang. Hem yang dilepaskan oleh hemoglobin didegradasi secara enzimatik dalam fraksi mikrosom sel retikuloendotelial. Proses ini dikatalisir oleh enzim hem oksigenase, yaitu enzim

pertama dan enzim pembatas-kecepatan (*a rate-limiting enzyme*) yang bekerja dalam suatu reaksi dua tahap dengan melibatkan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) dan oksigen ( $O_2$ ). Gambar 1 menunjukkan hem direduksi oleh NADPH,  $O_2$  ditambahkan pada jembatan  $\alpha$ -metenil antara pirol I dan II porfirin, penambahan lebih banyak oksigen, ion fero ( $Fe^{2+}$ ) dilepaskan, menghasilkan karbon monoksida (CO) dan biliverdin IX- $\alpha$  dengan jumlah ekuimolar dari pemecahan cincin tetrapirrol. Metalloporfirin, yaitu analog hem sintetis, dapat secara kompetitif menghambat aktivitas hem oksigenase (tanda X).<sup>5</sup>

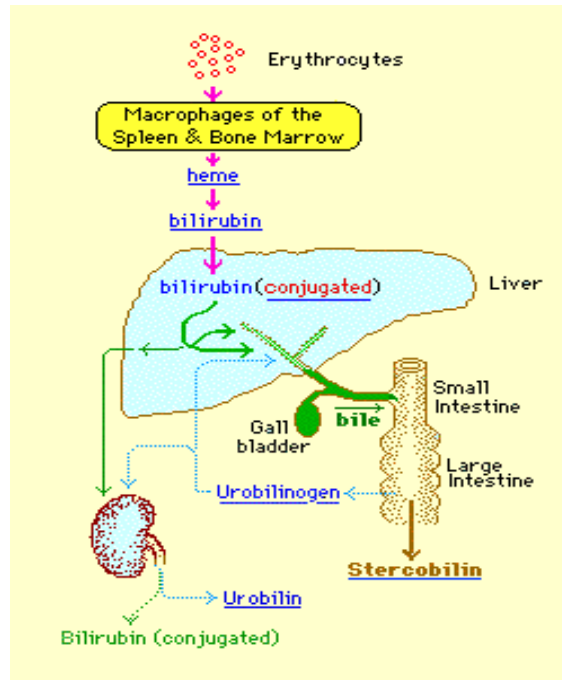


Gambar 2. Alur Metabolisme Pemecahan Hem dan Pembentukan Bilirubin

Sumber : Dennery PA, Seidman PS, Stevenson DK<sup>5</sup>

CO mengaktivasi GC (*guanylyl cyclase*) menghasilkan pembentukan cGMP (*cyclic guanosine monophosphate*). CO juga dapat menggeser O<sub>2</sub> dari oksidasi hemoglobin (HbO) atau diekshalasi. Reaksi ini melepaskan O<sub>2</sub> dan menghasilkan karboksihemoglobin (COHb). Selanjutnya COHb dapat bereaksi kembali dengan oksigen, menghasilkan oksidasi hemoglobin (HbO<sub>2</sub>) dan CO yang diekshalasi.<sup>5</sup>

Biliverdin dari hasil degradasi hem direduksi menjadi bilirubin oleh enzim biliverdin reduktase dalam sitosol. Bilirubin inilah (suatu pigmen berwarna kuning) yang disebut sebagai bilirubin indirek (*unconjugated bilirubin*), dalam jaringan perifer diikat oleh albumin, diangkut oleh plasma ke dalam hati. Peristiwa metabolisme ini dapat dibagi menjadi tiga tahapan, (1) pengambilan bilirubin oleh sel parenkim hati, (2) konjugasi bilirubin dalam retikulum endoplasma halus, dan (3) sekresi bilirubin terkonjugasi ke dalam empedu.<sup>5</sup>



Gambar 3. Metabolisme Bilirubin

Sumber: Halamek LP, Stevenson DK<sup>7</sup>

### 2.1.3. Penyebab Hiperbilirubinemia

Pada neonatus kadar bilirubin serum total didominasi oleh peningkatan kadar bilirubin indirek.

Penyebabnya antara lain: <sup>5,6,7</sup>

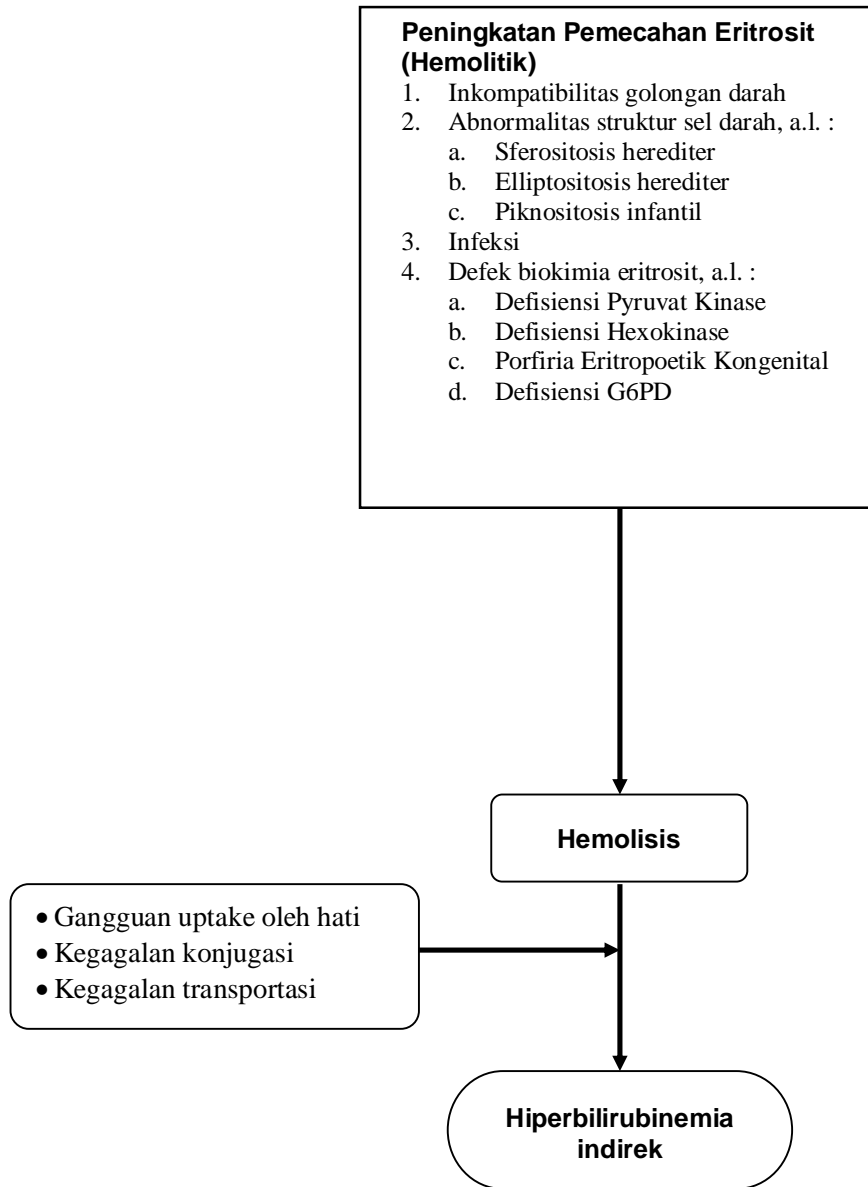
#### 1. Proses Fisiologis

Pada neonatus, terutama BKB, terjadi peningkatan kadar bilirubin indirek serum pada minggu pertama kehidupan. Keadaan ini disebabkan karena :

- i. Beban bilirubin (*bilirubin load*) meningkat pada neonatus : volume eritrosit meningkat sebagai kompensasi tekanan partial oksigen yang rendah, umur eritrosit pendek, dan peningkatan resirkulasi bilirubin entero hepatal.
  - ii. Kurangnya “uptake hati” sebagai dampak penurunan kadar protein pengikat bilirubin (seperti ligandin).
  - iii. Kurangnya konjugasi karena masih rendahnya aktivitas enzim glukoronil transferase.
2. Peningkatan Produksi
- Peningkatan berlebihan lisis eritrosit (hemolisis) menyebabkan peningkatan jumlah hem yang dilepaskan sehingga kadar bilirubin indirek meningkat, hal ini dapat disebabkan antara lain :
- i. Inkompatibilitas golongan darah : Rhesus, ABO, dan lain-lain.
  - ii. Defek biokimia (enzim) eritrosit, antara lain : defisiensi G6PD, defisiensi *Pyruvat Kinase*, defisiensi *Hexokinase*.
  - iii. Abnormalitas struktur (membran) eritrosit, antara lain : Sferositosis herediter, Elliptositosis herediter, Piknositosis infantil.
  - iv. Infeksi, antara lain : Bakterial, Viral, dan Protozoa.
3. Kelainan ambilan (*uptake*) oleh hati.
4. Defek/kegagalan konjugasi.
- i. Defisiensi kongenital enzim glukoronil transferase (misalnya pada penyakit sindroma Crigler-Najjar dan sindroma Gilbert)

- ii. Inhibisi enzim glukoronil transferase (misalnya karena pengaruh obat dan sindroma Lucey-Driscoll)
- 5. Sekuestrasi eritrosit, seperti: sefal hematoma, perdarahan intrakranial, dan perdarahan saluran cerna, akan menyebabkan peningkatan hemolisis dan membebani jalur degradasi bilirubin

Pada penelitian ini hiperbilirubinemia yang dimaksud adalah hiperbilirubinemia oleh peningkatan kadar bilirubin indirek.



Gambar 4. Penyebab terjadinya hiperbilirubinemia

(modifikasi dari berbagai sumber)<sup>5,6,7</sup>

#### 2.1.4. Dampak Hiperbilirubinemia

Pada tingkat seluler, bilirubin dapat menghambat enzim mitokondrial, mengganggu sintesis DNA, menginduksi patahnya benang DNA, dan menghambat sintesis dan fosforilasi protein. Bilirubin mempunyai afinitas terhadap fosfolipid membran, dan menghambat pengambilan tirosin, yaitu suatu penanda transmisi sinaptik serta menghambat fungsi kanal ion reseptor *N-methyl-d-aspartate*. Hal ini menunjukkan bahwa bilirubin dapat mengganggu sinyal neuroeksitasi sehingga memperlambat konduksi saraf (khususnya saraf auditorik).<sup>7</sup> Bilirubin dapat menghambat pertukaran elektrolit dan transport air di ginjal, karena sifat hidrofobitasnya maka hanya bilirubin indirek yang bisa melewati sawar darah otak untuk masuk ke dalam sistem saraf pusat.<sup>6,7</sup> Dalam keadaan terikat dengan albumin dan dalam konsentrasi tinggi, bilirubin indirek dapat menembus sawar darah otak (*blood brain barrier*) yang mengalami perubahan permeabilitas dan bersifat toksik terhadap sel-sel otak, mengakibatkan ensefalopati bilirubin.<sup>6</sup>

Kondisi yang merubah permeabilitas sawar darah otak misalnya infeksi, asidosis, hiperoksia, sepsis, prematuritas, dan hiperosmolaritas, dapat mempengaruhi masuknya bilirubin indirek ke dalam otak.<sup>6,7</sup> Pengendapan bilirubin pada pH yang rendah mempunyai efek toksik, menyebabkan kerusakan sel-sel otak menetap, sehingga dapat timbul disfungsi neuronal dan ensefalopati berisiko mengalami kematian atau sekuele berupa kecacatan perkembangan di kemudian hari.<sup>3</sup> *Kernicterus* merupakan diagnosis patologi anatomi. Pada keadaan ini terjadi kerusakan di ganglia dan nukleus batang otak akibat deposisi bilirubin tak

terkonjugasi pada jaringan otak. *Kernicterus* dapat terjadi pada bayi sehat cukup bulan, memiliki mortalitas yang tinggi, dan dapat menyebabkan gejala sisa seperti palsy serebral, tuli nada tinggi, paralisis dan displasia dental yang berdampak pada kualitas hidup.<sup>14,15</sup> Kepekaan terhadap efek neurotoksik bilirubin bervariasi sesuai dengan tipe sel, maturitas otak, dan metabolisme otak.<sup>6,7</sup>

Gejala dan tanda ensefalopati bilirubin akut terbagi dalam tiga fase

1. Hipotonia, letargi, tangis melengking tinggi, dan malas minum.
2. Hipertonia dari otot-otot ekstensor (disertai opistotonus, rigiditas, *oculogyric crisis*, dan *retrocollis*), demam, serta kejang.

Banyak neonatus yang meninggal pada fase ini.

3. Hipotonia kembali setelah usia 1 minggu.

Neonatus yang dapat bertahan hidup berkembang menjadi ensefalopati bilirubin kronik, dengan ditandai adanya atetosis, tuli sensorineural parsial atau komplit, tatapan mata ke arah superior terbatas, displasia dentis, dan defisit intelektual ringan.<sup>14</sup>

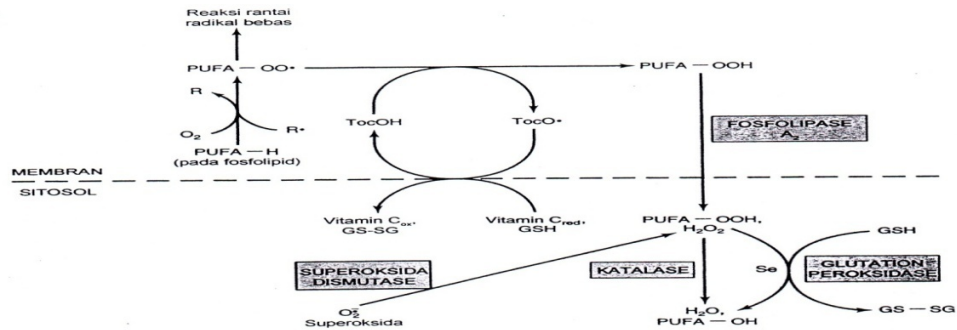
## **2.2. Vitamin C Sebagai Antioksidan**

Oksidan adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa yang dapat menarik elektron. Oksidan dapat mengganggu integritas sel karena dapat bereaksi dengan komponen-komponen sel yang penting untuk mempertahankan kehidupan sel, baik komponen struktural (misalnya molekul-molekul penyusun membran) maupun komponen-komponen fungsional (misalnya

enzim-enzim dan DNA). Organisme aerobik memerlukan oksigen untuk menghasilkan ATP, dalam proses tersebut berjalan kurang sempurna sehingga terjadi SOR yang sangat berbahaya, yang akan merusak sel apabila tidak diredam.<sup>7</sup>

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tak berpasangan (*unpaired electron*), yang cenderung untuk membentuk pasangan dengan menarik elektron dari senyawa lain sehingga terbentuk radikal baru.<sup>8</sup> Radikal bebas mempunyai sifat reaktifitas tinggi, karena kecenderungan menarik elektron serta dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal. Apabila radikal bebas ini kemudian menjumpai molekul lain maka akan membentuk radikal baru lagi, sehingga terjadilah reaksi rantai (*chain reaction*) dan bersifat merusak. Reaksi rantai tersebut baru berhenti apabila radikal tersebut dapat diredam.<sup>16</sup>

Antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron (*elektron donors*). Dibagi menjadi dua yaitu antioksidan pencegah (*preventif antioxidants*) dan pemutus rantai (*chain-breaking antioxidants*). Antioksidan pencegah diantaranya adalah superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutathion peroksidase (GPx). Antioksidan pemutus rantai diantaranya adalah vitamin E (*tocopherol*), vitamin C (asam askorbat), dan  $\beta$ -karoten. Senyawa glutathion tereduksi (GSH) dan sistein (Cys-SH) dapat berperan sebagai antioksidan pencegah maupun antioksidan pemutus rantai.<sup>8</sup> GSH berfungsi sebagai pemecah peroksida dan oksidan radikal  $H_2O_2$ .<sup>17,18</sup> Vitamin E dan  $\beta$ -karoten bersifat lipofilik, sehingga dapat berperan pada membran sel untuk mencegah peroksidasi lipid. Sebaliknya, vitamin C, glutathion dan sistein bersifat hidrofilik dapat berperan dalam sitosol.<sup>19</sup>



Gambar 5 : Interaksi dan sinergisme antara sistem antioksidan fase lipid dan sitosol.

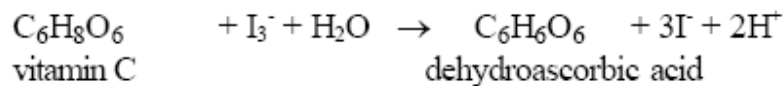
Sumber : Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW<sup>20</sup>

Dampak oksidan dapat terjadi pada : membran sel, DNA dan protein. Dampak pada membrane sel dapat merusak komponen sel terutama fosfolipid dan glikolipid yang penting untuk mempertahankan integritas dan kehidupan sel, dikenal dengan nama peroksidasi lipid (*lipid peroxidation*), berdampak terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain aldehida, seperti *malonaldehida (MDA)*, 9-hidroksi-nonenal serta bermacam-macam hidrokarbon seperti etana ( $C_2H_6$ ) dan pentana ( $C_5H_{12}$ ). Hal-hal tersebut menyebabkan kerusakan parah membran sel tak terkecuali membran eritrosit.<sup>8,21</sup>

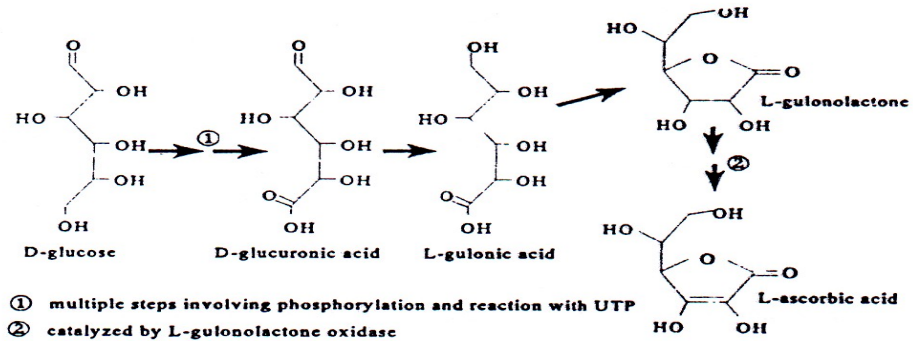
Vitamin C merupakan metabolit dari glukosa pada sebagian besar spesies, pada sebagian kecil spesies termasuk manusia, tubuh tidak dapat mensintesis vitamin C sehingga membutuhkan asupan dari luar untuk memenuhi kebutuhannya. Manusia mengabsorpsi vitamin C melalui proses saturasi dengan mekanisme tranport aktif

yang tergantung Na dan penghambatan oleh aspirin. Mekanisme yang lain yaitu mekanisme difusi pasif terjadi pada asupan vitamin C yang tinggi. Efisiensi absorpsi vitamin C tinggi terjadi pada dosis fisiologis (180 mg/hari orang dewasa) yaitu sekitar 80-90% dan akan menurun pada dosis diatas 1 gram.<sup>22</sup>

Vitamin C sangat penting pada banyak fungsi fisiologis, beberapa fungsi diantaranya termasuk fungsi redoks yang memainkan peran sangat penting pada *α-tocopherol*, *reduced glutathione*, dan faktor lain sebagai antioksidan yang memproteksi sel. Vitamin C mewakili sebagian besar *water-soluble antioxidant* (hidrofilik) pada plasma, menunjang redoks *α-tocopherol recycling*, membantu bioavailabilitas besi serta berperan pada ikatan enzim metal.<sup>23</sup> Struktur vitamin C sangat mirip dengan glukosa, dari glukosa inilah vitamin C diturunkan pada sebagian besar mamalia.



Manusia tidak bisa mensintesis sendiri vitamin C disebabkan tidak adanya enzim L-gulonolakton oksidase yang mengkatalisis perubahan L-gulonolakton menjadi L-askorbik acid maka tidak terbentuk vitamin C sehingga tergantung asupan dari luar tubuh.



Gambar 6: Biosintesis vitamin C.

Sumber : Combs GF<sup>22</sup>

Transportasi vitamin C plasma dalam bentuk tereduksi (asam askorbat). Dehidroaskorbat tidak terlihat dalam plasma, kecuali setelah berubah bentuk melalui oksidasi asam askorbat ekstraseluler. Ambilan vitamin C melalui dua mekanisme : pertama melibatkan transport aktif Na dan *energy-dependent transporter*, yang kedua melibatkan transport asam dehidroaskorbat melalui satu atau lebih transporter glukosa. Asam dehidroaskorbat sangat cepat tereduksi intraseluler menjadi asam askorbat, kemungkinan oleh *glutaredoxine reduktase* dan mungkin secara kimiawi oleh GSH. Insulin mendorong pengambilan dehidroaskorbat seluler sedangkan glukosa akan menghambatnya. Vitamin C diresorpsi kembali oleh ginjal melalui sistem transport aktif yang tergantung Na. Vitamin C terdistribusi pada beberapa jaringan organ dengan berbagai konsentrasi.<sup>22</sup> Eritrosit mengandung fraksi substansial vitamin C dalam darah, konsentrasi vitamin C pada lekosit mempunyai nilai diagnosis tersendiri tergambar pada konsentrasi vitamin C pada plasma.<sup>22</sup>

Metabolisme vitamin C terdiri dari : oksidasi, ekskresi dan regenerasi. Hasil oksidasi vitamin C yang pertama adalah radikal bebas askorbil yang bisa berubah secara reversibel menjadi bentuk vitamin C kembali atau akan mengalami oksidasi ireversibel menjadi *dehydro-L-ascorbid acid*. Vitamin C dapat juga mengalami oksidasi setelah bereaksi dengan vitamin E atau radikal urat.

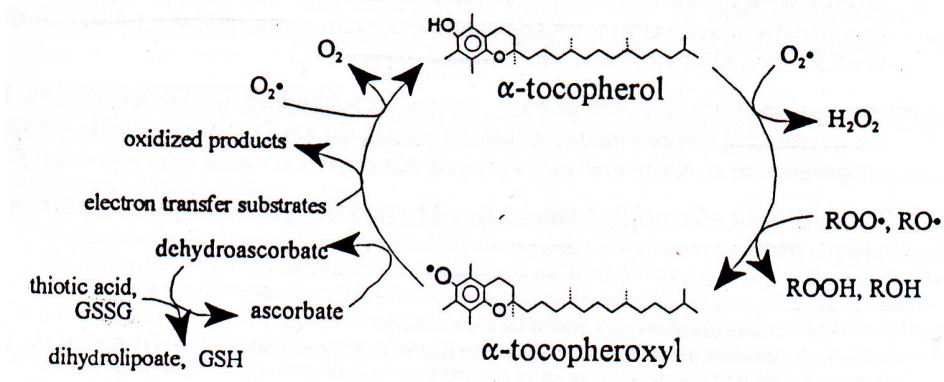
Vitamin C dapat dengan mudah melepaskan elektron karena oksidasi monovalen reversibel menjadi radikal askorbil, sehingga dapat berperan dalam sistem redoks biokimia. Peranan vitamin C sebagai antioksidan karena kemampuan bereaksi dengan radikal bebas : SOR, anion superoksida dan radikal hidroksil. Vitamin C bersifat hidrofilik lebih berperan menjadi proteksi sel di dalam sitosol dengan cara menurunkan semistabil radikal kromanoksil dan meregenerasi vitamin E.<sup>24</sup> Efisiensi antioksidan vitamin C sangat besar pada konsentrasi vitamin yang rendah, pada kondisi tersebut reaksi yang predominan adalah reaksi pemutus. Pada konsentrasi tinggi, vitamin C menghambat secara signifikan reaksi rantai yang berlanjut antara asam askorbil dan molekul oksigen.<sup>24</sup> Fungsi metabolik vitamin C sebagai kofaktor enzim (*hydroxylating enzymes*), agen protektif (*hydroxylases* pada biosintesis collagen), dan sebagai radikal yang bereaksi dengan metal ion.<sup>24</sup>

Asupan vitamin C pada bayi direkomendasikan sebesar 25 mg/hari berdasarkan batas bawah konsentrasi vitamin C pada air susu ibu (ASI) sebesar 3-8 mg/dl dengan rata-rata pengeluaran sebesar 750 ml/hari dan efisiensi absorpsi 90%. Asupan dan kadar vitamin C pada ASI seperti tersebut diatas akan memproteksi bayi dari penyakit *scurvy*. Pada saat didalam kandungan kadar vitamin C plasma pada

fetus 50% lebih tinggi dibanding kadar plasma darah ibu, hal ini mengindikasikan adanya tranport aktif vitamin C yang melewati plasenta. Pada masa laktasi kadar pada ASI 3-10 kali lebih besar dibanding kadar plasma darah ibu. Kadar vitamin C ini akan meningkat jika asupan vitamin C ibu meningkat, tetapi asupan melebihi 90 mg/hari tidak akan meningkatkan kadar vitamin C pada ASI.<sup>25</sup>

Defisiensi vitamin C terjadi jika asupan kurang atau terganggu absorpsinya terutama pada bayi. Pada penelitian Wen Y<sup>9</sup> dkk disebutkan peranan vitamin C meningkatkan GSH serta menurunkan kadar MDA sel eritrosit sehingga proses hemolisis dapat dikurangi atau dicegah.<sup>8</sup> Smith AR dkk mendapatkan perbedaan hasil pemeriksaan kultur sel endotel aorta manusia yang diberikan vitamin C dan tanpa pemberian vitamin C. Kerusakan oksidatif lebih besar didapatkan pada sampel tanpa pemberian vitamin C. Pada penelitian tersebut digunakan parameter oksidatif : kadar vitamin C intraseluler, GSH, rasio GSH/GSSG, dan rasio NADPH/NADP. *Scurvy* esensial terjadi pada sel endotel aorta pada manusia yang diterapi vitamin C.<sup>16</sup> Defisiensi akut vitamin C bisa menimbulkan penyakit *scurvy*. Manifestasi *Scurvy* yang klasik berhubungan dengan gangguan sintesis kolagen yang diperlihatkan dalam bentuk perdarahan subkutan serta perdarahan lain, kelemahan otot, gusi membengkak dan lunak, serta tanggalnya gigi. Pada anak sindrom defisiensi vitamin C disebut *Moller-Barlow disease* didapatkan pada bayi tanpa ASI, biasanya pada umur 6 bulan dengan ciri-ciri pelebaran batas kartilago tulang khususnya tulang rusuk, penekanan kartilago epifiseal ekstremitas, nyeri sendi, anemi dan sering panas.<sup>23</sup>

Vitamin E dikenal sebagai komponen penting sistem pertahanan antioksidan seluler, yang melibatkan enzim-enzim lain seperti superoksida dismutase (SODs), glutathion peroksidase (GPXs), glutathion reduktase (GR), katalase, tioredoksin reduktase (TR), dan faktor-faktor non enzim misalnya glutathion, asam urat yang mana banyak tergantung pada zat gizi esensial lain. Vitamin E merupakan antioksidan larut lemak dalam sel, berada pada bagian lemak dalam membran sel, melindungi fosfolipid *unsaturated* dalam membran dari degradasi oksidatif terhadap SOR dan radikal bebas yang lain. Vitamin E mempunyai kemampuan untuk mengurangi radikal bebas menjadi metabolit yang tidak berbahaya dengan memberikan gugus hidrogennya.<sup>27</sup> Vitamin E dapat didaur ulang dengan reduksi radikal *tocopheroxyl* kembali menjadi tokoferol. Beberapa mekanisme dikemukakan untuk reduksi *in vivo* *tocopheroxyl* oleh beberapa reduktan intraselular. Pada penelitian *in vitro* ditunjukkan bahwa proses ini dapat terjadi dalam liposom oleh asam askorbat (vitamin C), dalam mikrosom oleh NADPH, dan dalam mitokondria oleh NADH dan suksinat, dengan dua sistem terakhir menunjukkan sinergisme dengan glutathion tereduksi (GSH).<sup>24</sup>



Gambar 7. Siklus vitamin E.

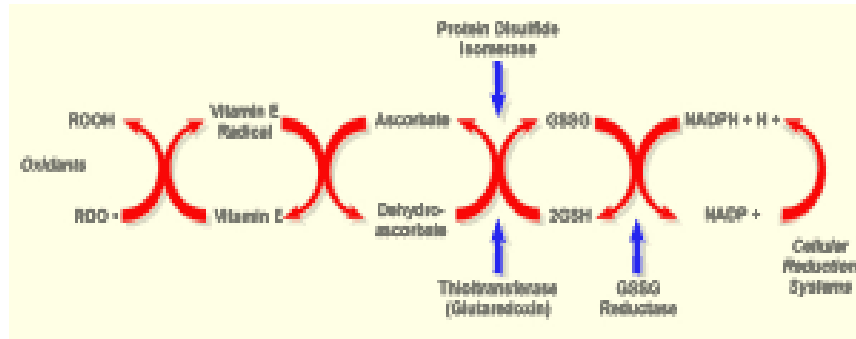
Sumber: Combs GF<sup>24</sup>

Kadar tokoferol plasma berhubungan berkebalikan terhadap kerentanan terhadap hemolisis oksidatif. Hubungan ini membuat kadar alfa-tokoferol berguna sebagai parameter status vitamin-E. Pada orang sehat, kadar  $\geq 0,5$  mg/dl berhubungan dengan perlindungan terhadap hemolisis dan dipakai sebagai indikasi kecukupan nutrisi. Kadar tokoferol ibu meningkat selama kehamilan tetapi kadar pada fetus tetap rendah, hal ini menunjukkan adanya penahan pada aliran transplasental dari vitamin ini. Kadar vitamin E pada neonatus saat dalam kandungan hanya sedikit dipengaruhi oleh asupan vitamin E ibu melalui transfer plasental, mengakibatkan bayi baru lahir mempunyai kadar yang rendah. Pada bayi prematur mempunyai risiko kekurangan vitamin E karena kapasitas absorpsi lemak yang terbatas.<sup>27</sup> Air susu ibu (ASI), terutama kolustrum mengandung vitamin E konsentrasi tinggi. Pada neonatus dengan

kadar vitamin E sepertiga dari kadar vitamin E ibunya, dalam 4-6 hari menyusui kadarnya akan sama dengan kadar vitamin E pada dewasa.<sup>27</sup>

### **2.3. Interaksi antar Antioksidan**

Vitamin C tidak hanya menetralkan radikal hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ ), alkoksil ( $\cdot\text{OL}$ ) dan peroksil ( $\text{LOO}\cdot$ ) dengan cara mendonorkan hidrogen, vitamin C juga menetralkan bentuk radikal antioksidan yang lain seperti glutathione ( $\text{GS}$ ) dan Vitamin E ( $\text{Toc/tocopherol}$ ). Interaksi ini bersifat sinergis dan mempunyai efek saling memberi dimana satu antioksidan melindungi yang lain melawan destruksi oksidatif. Sebagai contoh vitamin C memberdayakan efek antioksidan vitamin E dengan cara membentuk kembali bentuk aktif vitamin E setelah berinteraksi dengan radikal bebas. Vitamin E dan mineral selenium (bahan dasar glutathione peroksidase) bekerja secara sinergis juga, pada percobaan binatang pemberian suplemen satu nutrisi akan mengurangi gejala-gejala defisiensi nutrisi yang lain. Demikian juga terdapat hubungan yang sinergis antara vitamin E dan glutathione peroksidase dalam fungsinya untuk melindungi membran sel dari serangan peroksidase lipid.<sup>8</sup>



Gambar 8. Siklus vitamin E dan vitamin C sebagai *antioxidant network* bereaksi terhadap radikal bebas

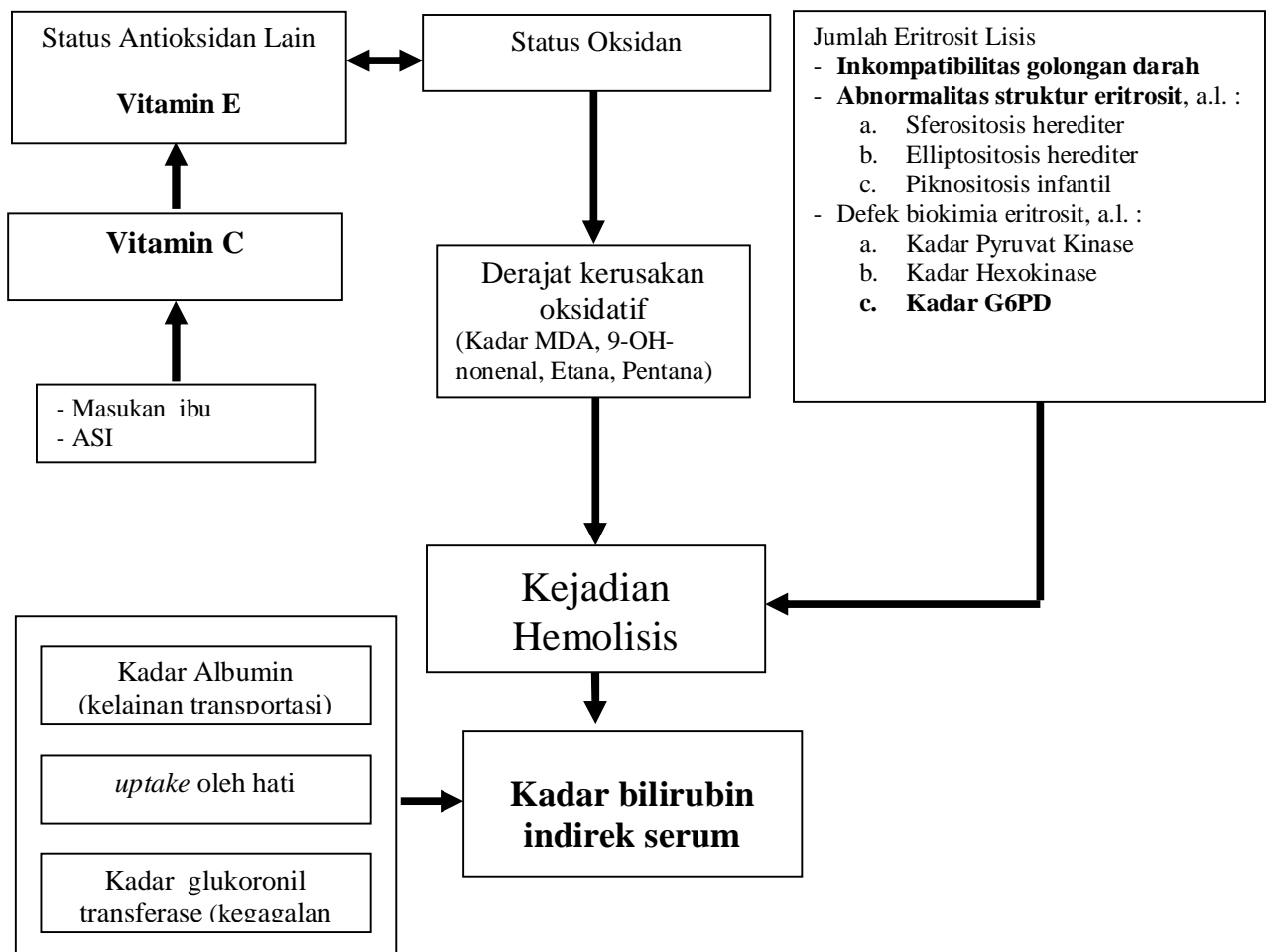
Sumber: Packer L.<sup>28</sup>

Dalam keadaan normal peroksida dan radikal bebas dibuang oleh katalase dan glutathione peroksidase, selanjutnya meningkatkan produksi GSSG. Senyawa GSH pada awalnya adalah suatu glutathion bentuk disulfida (glutathion teroksidasi/GSSG) yang direduksi menjadi glutathion bentuk sulfidril (glutathion tereduksi/GSH). GSH dibentuk dari GSSG dengan bantuan enzim glutathion reduktase yang keberadaannya tergantung pada NADPH. Fungsi GSH adalah mempertahankan residu sistein pada hemoglobin dan protein-protein lain pada membran eritrosit agar tetap dalam bentuk tereduksi dan aktif, mempertahankan hemoglobin dalam bentuk fero, mempertahankan struktur normal eritrosit, serta berperan dalam proses detoksifikasi, dimana GSH merupakan substrat kedua bagi enzim glutathion peroksidase dalam menetralkan hidrogen peroksida yang merupakan suatu oksidan yang berpotensi untuk menimbulkan kerusakan oksidatif pada sel darah merah. Pada studi yang lain disebutkan bahwa kadar GSH eritrosit meningkat secara signifikan setelah suplementasi vitamin C.<sup>30</sup>

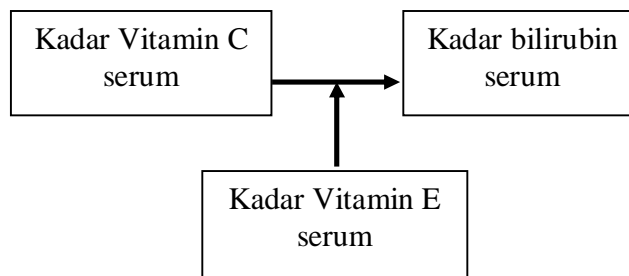
### BAB 3

## KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

### 3.1. Kerangka Teori



### 3.2. Kerangka Konsep



### 3.3. Hipotesis

1. Terdapat perbedaan antara kadar vitamin C serum pada neonatus dengan kadar bilirubin meningkat dan neonatus dengan kadar bilirubin tidak meningkat.
2. Pengaruh kadar vitamin C terhadap peningkatan kadar bilirubin dipengaruhi oleh kadar vitamin E.

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1. Ruang Lingkup Penelitian**

Penelitian dilakukan dalam lingkup SMF Ilmu Kesehatan Anak Sub Bagian Perinatologi RSUP Dr. Kariadi/FK UNDIP Semarang.

#### **4.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

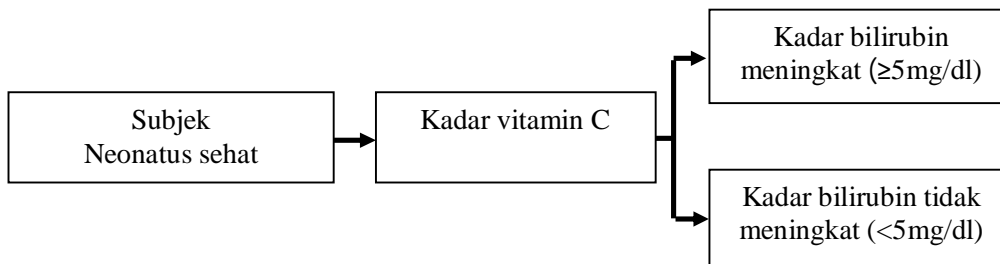
Penelitian dilakukan di bangsal rawat gabung SMF Ilmu Kesehatan Anak RSUP Dr. Kariadi. Penelitian dilaksanakan setelah proposal penelitian mendapat persetujuan untuk dilaksanakan.

Pemeriksaan laboratorium dilakukan di Instalasi Laboratorium RSUP Dr. Kariadi Semarang dan Laboratorium Bioteknologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

#### **4.3. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian observasional dengan rancangan *cross-sectional*. Rancangan penelitian *cross-sectional* pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Hari ke-3 pasca kelahiran



#### 4.4. Populasi dan Sampel

##### 4.4.1. Populasi Penelitian

###### a. Populasi Target

Populasi target adalah neonatus sehat.

###### b. Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau adalah neonatus sehat yang dirawat di ruang Rawat Gabung (R.X) RSUP Dr. Kariadi Semarang.

##### 4.4.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah bayi baru lahir sehat yang dirawat di ruang Rawat Gabung (R. 10) RSUP Dr. Kariadi Semarang yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut :

###### 1. Kriteria Inklusi

- a. Neonatus sehat
- b. Lahir cukup bulan (masa gestasi  $\geq 37$  minggu).
- c. Berat lahir 2500 – 4000 gram.

- d. Mendapatkan ASI
- e. Tidak terdapat kelainan bawaan berat/mayor.
- f. Mendapat persetujuan orang tua/wali untuk diikutsertakan dalam penelitian.

2. Kriteria Eksklusi

Neonatus yang dieksklusi adalah neonatus dengan :

- a. Inkompatibilitas golongan darah (tes Coombs positif).
- b. Defisiensi enzim G6PD.
- c. Abnormalitas strktur eritrosit.

#### **4.4.3. Cara Sampling**

Pengambilan sampel penelitian dilakukan dengan cara *consecutive sampling*, dimana pemilihan sampel akan sesuai dengan masuknya neonatus ke ruang Rawat Gabung. Pengambilan sampel dihentikan apabila jumlah sampel telah sesuai dengan besar sampel minimal.

#### **4.4.4. Besar Sampel**

Sesuai dengan hipotesis penelitian yaitu untuk mencari perbedaan kadar vitamin C serum pada neonatus dengan kadar bilirubin meningkat dengan kadar bilirubin tidak meningkat, maka besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus besar sampel untuk uji hipotesis rerata 2 populasi yaitu: <sup>31</sup>

$$n_1 = n_2 = 2 \left( \frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{X_1 - X_2} \right)^2$$

Keterangan :

$\alpha$  adalah besar kesalahan tipe I = 0,05, maka  $Z\alpha=1,96$

$\beta$  adalah besarnya kesalahan tipe II = 0,2, power = 80%, maka  $Z\beta=0,842$

S adalah simpang baku pada kadar vitamin C neonatus yaitu sebesar 0,48 mg/dL<sup>32</sup>

$X_1 - X_2$  adalah perbedaan vitamin C antara neonatus dengan kadar bilirubin meningkat dengan tidak meningkat adalah minimal sebesar 1 SD yaitu 0,48 mg/dL

Dari hasil penghitungan rumus tersebut diatas, jumlah sampel yang dibutuhkan untuk setiap kelompok yang diobservasi adalah sebanyak 16 neonatus dengan kadar bilirubin meningkat dan 16 neonatus dengan kadar bilirubin tidak meningkat.

Apabila diperkirakan kemungkinan *drop-out* adalah 10% maka besar sampel dengan koreksi *drop-out* adalah sebagai berikut:

$$n_{do} = \frac{n}{(1 - do)}$$

Berdasarkan perhitungan rumus-rumus tersebut di atas, maka besar sampel penelitian minimal untuk setiap kelompok adalah 18 neonatus dengan kadar

bilirubin meningkat dan 18 neonatus dengan kadar bilirubin tidak meningkat, sehingga secara keseluruhan sampel minimal yang dibutuhkan adalah 36 neonatus.

#### 4.5. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : Kadar vitamin C
2. Variabel terikat : Kadar Bilirubin
3. Variabel perancu : Kadar vitamin E

#### 4.6. Definisi Operasional

No.	Definisi Operasional	Skala
1.	<p>Kadar bilirubin</p> <p>Adalah kadar bilirubin indirek serum yang ditentukan berdasarkan pengukuran kadar bilirubin total serum dikurangi kadar bilirubin direk, menggunakan metoda TBIL modifikasi prosedur Jendrassik dan Grof.</p> <p>Kategori peningkatan kadar bilirubin indirek:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Meningkat = <math>\geq 5</math> mg/dl.</li><li>- Tidak Meningkat = <math>&lt; 5</math> mg/dl.</li></ul>	Nominal

2. Kadar vitamin C adalah konsentrasi vitamin C (asam askorbat) dalam serum. Rasio  
Pengukuran menggunakan metoda *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC).  
Nilai normal :  $\geq 7$  ug /mL
  
3. Kadar vitamin E adalah konsentrasi vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) dalam serum. Rasio  
Pengukuran menggunakan metoda *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC).  
Nilai normal :  $\geq 0,22$  mg/dl

#### **4.7. Pengumpulan Data**

Data yang dikumpulkan adalah data primer dari neonatus yang dirawat di Ruang Rawat Gabung RSUP Dr. Kariadi Semarang selama periode penelitian.

Pemeriksaan laboratorium untuk kadar bilirubin, enzim G6PD, dan gambaran hemolisis dikerjakan di Instalasi Laboratorium RSUP Dr. Kariadi Semarang dan Laboratorium Bioteknologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Teknik dan instrumen serta peralatan yang digunakan untuk pengumpulan data adalah sebagai berikut :

## 1. Vitamin C

Kadar vitamin C dalam darah diperiksa dengan metoda *isocratic high performance liquid chromatography* (HPLC) dengan deteksi elektrokimia pada 650 mV. Serum darah segar sebanyak 1 bagian (500  $\mu$ L) ditambahkan 4 bagian 6 % *metaphoric acid* (MPA) untuk mengasamkan serum dan menstabilkan asam askorbat. Serum disimpan pada suhu  $-70^{\circ}\text{C}$ . Serum darah di *thawing* pada suhu kamar dan disentrifugasi pada 2500 RPM selama 1 menit. supernatan diambil dan dicampur larutan trisodium fosfatdithiothreitol untuk mereduksi dehidroaskorbat menjadi asam askorbat dan diasamkan kembali dengan 40% MPA untuk mestabilkan asam askorbat. Disaring untuk menghilangkan partikel-partikel yang tidak terlarut, kemudian diinjeksikan kedalam *C-18 reversed-phase column* dan dilarutkan dengan *mobile-phase* yang mengandung 0,15 mol/L *monochloroacetic acid*, 2 mmol/L *disodium ethylene diamine tetraacetate*, dan 0,13 mmol/L *octysulfonic acids* yang pH dibuat menjadi  $3,0\pm 0,05$  dengan menambahkan 10 N NaOH. Kadar vitamin C ditentukan berdasarkan puncak tertinggi. Kurve standar dibuat dengan menggunakan sampel 3 kadar vitamin C yang telah diketahui sebelumnya (0,005, 0,03 dan 0,1 mg/dl).

Nilai normal neonatus:  $\geq 7$  ug /mL.<sup>32</sup>

## 2. Vitamin E

Kadar vitamin E serum diperiksa dengan metode *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan deteksi elektrokimiawi. 500  $\mu$ L serum dipersiapkan, dan 25 ml asam askorbat (10 mg = ml air) dan ditambahkan 2000 U  *$\beta$ -glucoronidase*. Setelah inkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C dan setelah didinginkan, 5 ml ekstrak pelarut (50% heksana, 50% diklormetan dan 0,1% BHT) diteteskan pada campuran tersebut. Diikuti putaran dan disentrifugasi pada 5000 rpm selama 5 menit, 4 ml supernatannya diuapkan sampai kering. Kemudian residu yang timbul dilarutkan dalam 200 ml etanol dan 20 ml aliquot diinjeksikan ke dalam sistem HPLC.

Untuk menentukan voltase optimum untuk deteksi elektrokimia, area puncak dari  $\alpha$ -CEHC dan  $\gamma$ -CEHC didapatkan dari perbedaan potensial yang dipergunakan. Volume injeksi untuk voltamogram adalah 41,3 pmol untuk  $\gamma$ -CEHC dan 17,2 pmol untuk  $\alpha$ -CEHC.

Nilai normal BCB :  $\geq 0,22$  mg/dl.<sup>24</sup>

## 3. Bilirubin

Bahan yang diukur diambil serum dari darah beku penderita sebanyak  $\pm 0,5$  cc. Untuk kadar bilirubin diukur dengan menggunakan alat Dimension® TBIL Calibrator (Cat. No. DC17), sedangkan untuk bilirubin direk dengan menggunakan Dimension® DBIL Calibrator (Cat. No. DC17).

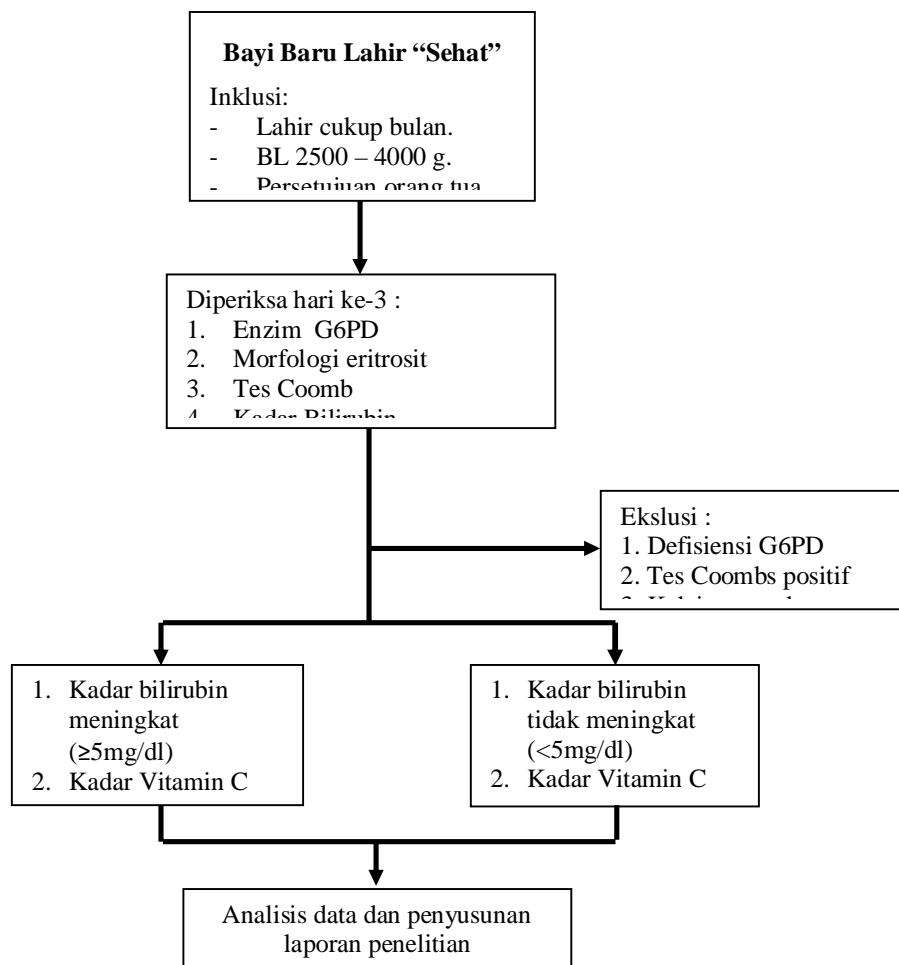
Keduanya buatan Dade Behring, Jerman yang dioperasikan di laboratorium Patologi Klinik RS Dr. Kariadi Semarang. Nilai kadar bilirubin dinyatakan dalam mg/dl.<sup>33</sup>

#### 4.8. Alur Penelitian

Berdasarkan rancangan penelitian diatas, tahapan penelitian dimulai dari bayi baru lahir masuk dirawat di ruang Rawat Gabung RSUP Dr. Kariadi dengan diagnosis **Neonatus aterm sehat**. Pertama dilakukan pemeriksaan untuk kriteria inklusi , yaitu lahir cukup bulan, berat lahir normal 2500-4000 gram, skor Apgar pada menit pertama  $>7$  , bayi aktif, tangis dan minum kuat, tidak terdapat kelainan bawaan berat/mayor. Kemudian dilakukan *informed consent* kepada orang tua/wali untuk diikutsertakan dalam penelitian. Hanya neonatus yang mendapat persetujuan yang disertakan dalam penelitian.

Dilakukan pengambilan **sampel darah pada hari ke-3** untuk pemeriksaan: bilirubin, enzim G6PD (kualitatif), Coomb's test untuk mengetahui inkompatibilitas darah. Sebagian sampel darah disimpan untuk pemeriksaan kadar vitamin C dan kadar vitamin E. Sampel dibedakan berdasarkan hasil pemeriksaan kadar bilirubin meningkat  $\geq 5\text{mg/dl}$  dan kadar bilirubin tidak meningkat  $< 5\text{ mg/dl}$  dengan alasan kadar bilirubin mencapai puncak yaitu 5-6 mg/dl pada hari ke-3.

Data-data yang didapat dilakukan analisis, untuk kemudian disusun dalam laporan penelitian. Alur penelitian ditampilkan sebagai berikut :



#### 4.9. Analisis Data

Data yang terkumpul melalui anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan laboratorium dimasukkan ke dalam kuesioner dengan format khusus

yang dibuat oleh peneliti. Dilakukan data *cleaning* untuk memeriksa kesalahan yang mungkin terjadi. Segala kekurangan pada tahap editing akan dikoreksi dengan mengkonfirmasikannya dengan kuesioner dan bila perlu dengan orang tua responden kembali. Setelah dilakukan data *cleaning* dilakukan pengkodean dan tabulasi, kemudian dimasukkan ke dalam komputer. Selanjutnya data divalidasi untuk menjamin tidak ada kesalahan pemasukan data. Kemudian dilakukan data *cleaning* sekali lagi dengan mencetak data yang telah dimasukkan dan diperiksa konsistensinya. Data yang berskala kategorial seperti jenis kelamin dan sebagainya akan dinyatakan dalam tabel distribusi frekuensi dan persentase ataupun diagram batang. Sedangkan data yang berskala kontinyu seperti umur, vitamin E, vitamin C dan bilirubin akan dinyatakan dalam rerata dan simpang baku, atau median bila datanya berdistribusi tidak normal. Distribusi data juga akan ditampilkan sebagai diagram *box-plot*.

Normalitas distribusi data kadar vitamin E, vitamin C dan bilirubin serum. Uji normalitas menggunakan uji Shapiro Wilky. Distribusi data dinyatakan tidak normal apabila  $p < 0,05$ . Perbedaan kadar vitamin C pada neonatus yang memiliki kadar bilirubin meningkat dengan neonatus yang memiliki kadar bilirubin tidak meningkat diuji dengan uji t-tidak berpasangan. Apabila kadar vitamin C berdistribusi tidak normal maka akan digunakan uji Mann-Whitney sebagai pengganti uji t-tidak berpasangan. Pengaruh vitamin C dan vitamin E terhadap adanya peningkatan kadar bilirubin dilakukan analisis diskriminan jika memenuhi syarat, jika tidak memenuhi syarat dianalisis dengan

uji multivariate regresi logistik. Nilai p dianggap bermakna apabila  $p < 0,05$  dengan 95% interval kepercayaan. Analisis data akan menggunakan program SPSS for Windows v.15 (SPSS Inc USA).

#### **4.10. Etika Penelitian**

Protokol penelitian dimintakan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran UNDIP/RSUP Dr. Kariadi, Penanggung Jawab/Supervisor ruang Rawat Gabung, Kepala Bagian Ilmu Kesehatan Anak RSUP Dr. Kariadi, Kepala Bagian Obstetri & Ginekologi RSUP Dr. Kariadi, serta Direktur RSUP Dr. Kariadi. *Informed consent* tertulis dimintakan pada orang tua/wali dengan penjelasan secara lisan tentang tujuan dan manfaat penelitian, serta diberikan hadiah atau kenang-kenangan kepada bayi yang telah menjadi sampel penelitian. Segala konsekuensi yang berhubungan dengan penelitian, khususnya mengenai pembiayaan ditanggung oleh peneliti. Untuk penderita dengan ikterus atau hiperbilirubinemia patologis tetap diberikan terapi sesuai dengan prosedur standar yang berlaku di bangsal terkait. Data pribadi penderita dijamin kerahasiaannya.

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan RS Dr. Kariadi dengan nomor 102/EC/FK/RSDK/2009 dan oleh Direktur SDM dan Pendidikan RSUP Dr. Kariadi Semarang dengan surat ijin penelitian nomor DL.00.02.DIKLIT-050.

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN

#### 5.1. Karakteristik subjek penelitian

Pada penelitian ini dilibatkan 40 subjek neonatus sehat pada periode penelitian yang dirawat di Ruang Rawat Gabung RSUP Dr. Kariadi Semarang dan sesuai dengan kriteria sampel. Subjek penelitian dibedakan menjadi dua kelompok secara *consecutive sampling*, yaitu 20 neonatus sehat yang dikategorikan kadar bilirubin meningkat (peningkatan kadar bilirubin serum  $\geq 5$  mg/dl) dan 20 neonatus sehat yang dikategorikan kadar bilirubin tidak meningkat (peningkatan kadar bilirubin serum  $< 5$  mg/dl).

Perbandingan karakteristik data subjek penelitian selengkapnya dapat dilihat pada tabel berikut ini :

**Tabel 1. Karakteristik ibu dan bayi pada kelompok kadar bilirubin meningkat dan tidak meningkat**

Karakteristik subyek	Kelompok kadar bilirubin		p
	Meningkat ( $\geq 5$ mg/dl)	Tidak Meningkat ( $< 5$ mg/dl)	
Jenis kelamin			
- Laki-laki (%)	12(30%)	8 (20%)	0,34¥
- Perempuan	8(20%)	12(30%)	
Rerata berat lahir	2880 $\pm$ 385	2910 $\pm$ 335	0,39€
Rerata pjg badan lahir	48,5 $\pm$ 1,9	48,3 $\pm$ 2,1	0,75€

Rerata lingkak kepala	33,8±1,9	33,0±1,9	0,21§
Usia kehamilan	39,5(4,37-41)	38,5 (4,37-41)	0,23€

Karakteristik subyek	<u>Kelompok kadar bilirubin</u>		p
	Meningkat (≥ 5 mg/dl)	Tidak Meningkat (< 5 mg/dl)	
Rerata lama partus	4,7±3,9	6,5±12,9	0,86€
Cara partus			0,282¥
Spontan	6(15%)	8(20%)	
SC	7(17,5%)	10(25%)	
Vakum	6(15%)	2(5%)	
Ekstraksi	1(2,5%)	0(0%)	
Penyakit kehamilan			0,112¥
Tidak ada	17(42,5%)	17(42,5%)	
Hipertensi	3 (7,5%)	0(0%)	
Preklamsia	0 (0%)	2(5%)	

¥: Uji chi-square

€ Uji Mann-whitney

§: Independent t-test

Tabel 1 menunjukkan, bayi dengan jenis kelamin laki-laki pada kelompok bilirubin meningkat (30%) lebih besar dibanding kelompok bilirubin tidak meningkat (20%), sedangkan bayi perempuan pada kelompok bilirubin tidak meningkat (30%) lebih besar dibanding kelompok bilirubin meningkat (20%), akan tetapi secara statistik perbedaan antara bayi perempuan dan laki-laki pada kedua kelompok tersebut tidak bermakna ( $p = 0,34$ ). Rerata berat lahir bayi kelompok bilirubin tidak meningkat (2910 gr) lebih besar dibanding kelompok bilirubin meningkat (2880 gr) namun perbedaan tersebut secara statistik pada

kedua kelompok tidak bermakna ( $p=0,39$ ). Rerata panjang badan lahir bayi kelompok bilirubin meningkat (48,5 cm) lebih besar dibanding kelompok bilirubin tidak meningkat (48,3 cm), namun perbedaan tersebut secara statistik pada kedua kelompok tidak bermakna ( $p=0,75$ ). Rerata lingkaran kepala bayi kelompok bilirubin meningkat (33,8 cm) lebih besar dibanding kelompok bilirubin tidak meningkat (33 cm), akan tetapi perbedaan tersebut secara statistik pada kedua kelompok tidak bermakna ( $p=0,21$ ). Usia kehamilan kelompok kadar bilirubin meningkat (39,5 minggu) lebih tua dibandingkan kelompok bilirubin tidak meningkat (38,5 minggu), namun perbedaan tersebut secara statistik pada kedua kelompok tidak bermakna ( $p=0,23$ ). Rerata lama partus kelompok bilirubin tidak meningkat (6,5 jam) lebih lama dibanding kelompok bilirubin meningkat (4,7 jam) akan tetapi perbedaan tersebut secara statistik pada kedua kelompok tidak bermakna ( $p=0,86$ ). Cara persalinan tindakan lebih banyak pada kelompok bilirubin meningkat : SC (17,5%), vakum (15%), ekstraksi (2,5%) dibanding kelompok bilirubin tidak meningkat : SC (25%), vakum (5%), ekstraksi (0%) akan tetapi perbedaan tersebut secara statistik pada kedua kelompok tidak bermakna ( $p=0,282$ ). Pada riwayat penyakit kehamilan pada kelompok bilirubin meningkat : hipertensi (7,5%), preklamsia (0%) lebih banyak dibanding kelompok bilirubin tidak meningkat : hipertensi (0%), preklamsia (5%), akan tetapi perbedaan ini secara statistik pada kedua kelompok tidak bermakna ( $p=0,112$ ).

Berdasarkan hasil analisis bivariat data pada tabel 1 diketahui karakteristik ibu dan bayi baru lahir pada kelompok bilirubin meningkat tidak berbeda

bermakna dengan kelompok bilirubin tidak meningkat, sehingga variabel-variabel tersebut diatas tidak perlu dianalisis lebih lanjut.

## 5.2 Rerata kadar bilirubin

Kadar bilirubin neonatus sehat ditampilkan pada tabel 2

**Tabel 2. Kadar bilirubin berdasarkan katagori kadar bilirubin meningkat dan tidak meningkat**

Kelompok Kadar Bilirubin	Rerata	Minimal	Maksimal	Simpang Baku
Meningkat ( $\geq 5$ mg/dl)	9,63	5,86	15,47	2,39
Tidak meningkat ( $< 5$ mg/dl)	2,34	2,47	4,44	1,02

Tabel diatas menunjukkan bahwa rerata kadar bilirubin pada kelompok kadar bilirubin meningkat 9,63 ( $\pm 2,39$ ) mg/dl dengan kadar terendah 5,86 mg/dl dan tertinggi 15,47 mg/dl, sedangkan rerata pada kelompok bilirubin tidak meningkat 2,34 ( $\pm 1,02$ ) mg/dl dengan kadar terendah 2,47 mg/dl dan tertinggi 4,44 mg/dl.

## 5.3 Perbedaan rerata kadar vitamin C berdasarkan kategori kadar bilirubin meningkat dan tidak meningkat

Kadar vitamin C serum bayi baru lahir sehat pada hari ke-3 pasca lahir ditampilkan pada tabel 6.

**Tabel 3. Kadar vitamin C berdasarkan kategori kadar bilirubin meningkat dan tidak meningkat**

<b>Kelompok Kadar Bilirubin</b>	<b>Rerata</b>	<b>Minimal</b>	<b>Maksimal</b>	<b>p</b>
	<b>Vitamin C</b>			
<b>Meningkat (<math>\geq 5</math> mg/dl)</b>	<b>6,89<math>\pm</math>0,09</b>	<b>6,75</b>	<b>7,14</b>	<b>0,001<math>\epsilon</math></b>
<b>Tidak Meningkat (&lt; 5 mg/dl)</b>	<b>7,18<math>\pm</math>0,28</b>	<b>6,80</b>	<b>7,45</b>	<b>0,001<math>\epsilon</math></b>

$\epsilon$  uji Mann-whitney

Tabel diatas menunjukkan bahwa rerata kadar vitamin C pada kelompok bilirubin meningkat 6,89 $\pm$ 0,09 ug/ml dengan kadar terendah 6,75 ug/ml dan tertinggi 7,14 ug/ml sedangkan rerata pada kelompok bilirubin tidak meningkat 7,18 $\pm$ 0,28 ug/ml dengan kadar terendah 6,8 ug/ml dan tertinggi 7,45 ug/ml. Tabel diatas juga menunjukkan bahwa kadar vitamin C pada kelompok kadar bilirubin tidak meningkat lebih tinggi dibanding kelompok kadar bilirubin meningkat, dari hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kadar vitamin C pada kedua kelompok kadar bilirubin (p=0,001).

#### **5.4. Perbedaan rerata kadar vitamin E berdasar katagori peningkatan kadar bilirubin**

Kadar vitamin E bayi baru lahir sehat pada hari ke-3 pasca lahir ditampilkan pada tabel 7.

**Tabel 4. Kadar vitamin E berdasar katagori peningkatan kadar bilirubin**

Kelompok Kadar Bilirubin	Vitamin C			p
	Rerata	Minimal	Maksimal	
Meningkat ( $\geq 5$ mg/dl)	0,19±0,03	0,16	0,25	0,001€
Tidak Meningkat ( $< 5$ mg/dl)	0,23±0,01	0,19	0,25	0,001€

€ uji Mann-whitney

Data pada tabel diatas menunjukkan rerata kadar vitamin E pada kelompok bilirubin meningkat 0,19±0,03 mg/dl dengan kadar terendah 0,16 mg/dl dan tertinggi 0,25 mg/dl, sedangkan rerata pada kelompok bilirubin tidak meningkat 0,23±0,01 mg/dl dengan kadar terendah 0,19 mg/dl dan tertinggi 0,25 mg/dl . Tabel di atas juga menunjukkan bahwa kadar vitamin E pada kelompok bilirubin tidak meningkat lebih tinggi dibanding kelompok bilirubin meningkat, dari hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kadar vitamin E pada kedua kelompok kadar bilirubin ( $p=0,001$ ).

#### **5.6. Analisis bivariat regresi logistik kadar vitamin C terhadap peningkatan kadar bilirubin.**

Untuk mengetahui pengaruh vitamin C terhadap peningkatan kadar bilirubin dilakukan uji regresi logistik. Vitamin C dikelompokkan menjadi normal ( $>7\mu\text{g/ml}$ ) dan bawah normal ( $< 7\mu\text{g/ml}$ ) dengan hasil ditampilkan dalam tabel sebagai berikut :

**Tabel 5. Pengaruh kadar vitamin C terhadap peningkatan kadar bilirubin**

	B	OR	95.0% C.I.		P
			Lower	Upper	
Vit_C_Grup < 7µg/ml	2.816	16.714	2.976	93.885	0.011£
≥ 7µg/ml					
Constant	-3.761	.023			0.002£

£: uji variat regresi logistik

Hasil analisis bivariat regresi logistik yang dilakukan menunjukkan bahwa vitamin C dengan nilai  $p < 0,05$ , berpengaruh terhadap peningkatan kadar bilirubin. Hasil analisis vitamin C dengan  $p=0,011$  ( $p<0,05$ ) dan OR sebesar 16,714 menunjukkan bahwa kadar vitamin C dibawah normal ( $< 7\mu\text{g/ml}$ ) mempunyai pengaruh terhadap peningkatan kadar bilirubin sebesar 16,714 kali lebih besar dibanding kadar vitamin C normal ( $\geq 7 \mu\text{g/ml}$ ).

### **5.7. Analisis multivariat kadar vitamin C dan vitamin E terhadap peningkatan kadar bilirubin**

Pengaruh vitamin C dan vitamin E terhadap peningkatan kadar bilirubin dianalisis dengan regresi logistik. Analisis multivariat regresi logistik dilakukan mengingat distribusi data yang tidak normal dan tidak homogen baik pada sebaran data vitamin C maupun vitamin E, sehingga tidak dapat dilakukan analisis diskriminan. Vitamin C dikelompokkan menjadi normal ( $>7\mu\text{g/ml}$ ) dan bawah normal ( $< 7\mu\text{g/ml}$ ), vitamin E dikelompokkan menjadi normal ( $>0,22$

mg/dl) dan bawah normal (<0,22 mg/dl) dengan hasil ditampilkan dalam tabel sebagai berikut :

**Tabel 6. Pengaruh kadar vitamin C dan vitamin E terhadap peningkatan kadar bilirubin**

	B	OR	95.0% C.I.		p
			Lower	Upper	
Vit_C_Grup < 7µg/ml	3.076	21.674	2.048	229.324	0.011δ
≥ 7µg/ml					
Vit_E_Grup < 0,22 mg/dl	3.286	26.734	2.654	269.260	0.005δ
≥ 0,22 mg/dl					
Constant	-9.495	.000			0.002δ

δ : uji multivariat regresi logistik

Hasil analisis multivariat regresi logistik yang dilakukan menunjukkan bahwa vitamin C dan vitamin E memiliki nilai  $p < 0,05$  sehingga variabel vitamin C dan vitamin E tersebut berpengaruh terhadap peningkatan kadar bilirubin. Dari hasil analisis diperoleh model regresi untuk vitamin C dengan  $p=0,011$  ( $p<0,05$ ) dan OR 21,674 menunjukkan bahwa kadar vitamin C dibawah normal ( $< 7\mu\text{g/ml}$ ) mempunyai pengaruh terhadap peningkatan kadar bilirubin sebesar 21,674 kali lebih besar dibanding kadar vitamin C normal ( $\geq 7 \mu\text{g/ml}$ ). Hasil analisis diperoleh model regresi untuk vitamin E dengan  $p=0,005$  ( $p<0,05$ ) dan OR 26,734 menunjukkan bahwa kadar vitamin E dibawah normal ( $< 0,22 \mu\text{g/ml}$ ) mempunyai pengaruh terhadap peningkatan kadar bilirubin sebesar 26,734 kali lebih besar daripada kadar vitamin E yang normal ( $\geq 0,22 \mu\text{g/ml}$ ).

Dengan demikian vitamin C dan vitamin E dibawah normal memiliki pengaruh terhadap peningkatan kadar bilirubin setelah dikontrol vitamin E dimana kadar vitamin E dibawah normal mempunyai pengaruh yang lebih tinggi dari kadar vitamin C dibawah normal.

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

Subjek berasal dari neonatus sehat yang dirawat di ruang Rawat Gabung (R.10) RSUP Dr. Kariadi Semarang. Setelah memenuhi kriteria inklusi maka dilakukan pengambilan sampel darah pada hari ke-3 setelah lahir untuk pemeriksaan laboratorium : bilirubin total (indirek), enzim G6PD, dan tes Coomb, morfologi eritrosit, serta pemeriksaan kadar vitamin C dan vitamin E. Neonatus dengan kelainan struktur eritrosit, defisiensi enzim G6PD, atau tes Coombs (+) diekskusi. Sampel dikelompokkan berdasar kadar bilirubin, yaitu kelompok bilirubin meningkat bila kadar bilirubin  $\geq 5$  mg/dl, sedangkan jika kadar bilirubin  $< 5$  mg/dl masuk dalam kelompok bilirubin tidak meningkat.

Pada penelitian ini ditemukan bahwa rerata kadar vitamin C pada kelompok bilirubin meningkat ( $\geq 5$  mg/dl) adalah  $6,89 \pm 0,09$   $\mu\text{g/ml}$ , sedangkan pada kelompok bilirubin tidak meningkat ( $< 5$  mg/dl) adalah  $7,18 \pm 0,28$   $\mu\text{g/ml}$ . Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Surapapeni KM<sup>38</sup> pada 96 neonatus tentang status peroksidasi lipid, glutation, vitamin C, vitamin E dan hormon antioksidan pada neonatus ikterik, kadar vitaimn C pada neonatus ikterik sebesar  $1,54 \pm 0,22$  mg/dl lebih rendah dibanding dengan kadar vitamin C pada neonatus kontrol sebesar  $1,59 \pm 0,33$  mg/dl.

Penelitian lain dilakukan Abdul Razaak dkk<sup>10</sup> dalam penelitiannya tentang hubungan antara kadar vitamin C dan vitamin E plasma terhadap tingkat keparahan hiperbilirubinemia pada 130 neonatus sehat dari ibu sehat menemukan bahwa neonatus dengan kadar bilirubin tinggi memiliki kadar vitamin C

dan kadar vitamin E rendah (kadar vitamin C pada kelompok hiperbilirubinemia sebesar  $87 \pm 22 \mu\text{mol/L}$  ( $15,32 \pm 3,87 \mu\text{g/ml}$ ), sedangkan pada kelompok kadar bilirubin normal sebesar  $132 \pm 36 \mu\text{mol/L}$  ( $23,25 \pm 6,34 \mu\text{g/ml}$ )).

Eritrosit bayi baru lahir relatif sensitif terhadap oksidan dibandingkan eritrosit anak, hal ini karena berkurangnya kemampuan kapasitas eritrosit neonatus terhadap stres oksidatif sebagai akibat penurunan sistem pertahanan antioksidan terutama pada bayi kurang bulan (BKB).<sup>2</sup> Hal ini menyebabkan terjadinya hemolisis. Oksidan kuat dapat mengganggu integritas sel, khususnya yang mengandung asam lemak tak jenuh dimana merupakan komponen fosfolipid penyusun membran sel, DNA dan protein sel. Pembentukan radikal bebas yang melebihi *antioxidant defense capacity* menyebabkan stres oksidatif atau peningkatan produksi Spesies Oksigen Reaktif (SOR) yang berdampak kerusakan organ yang rentan seperti lipid membran sel, asam amino penyusun protein enzim, dan DNA.<sup>1</sup>

Hiperbilirubinemia adalah peningkatan kadar bilirubin yang dapat terjadi pada 25%-50% neonatus.<sup>3</sup> Tingginya kadar bilirubin pada neonatus disebabkan karena lisis eritrosit akibat tingginya siklus pergantian eritrosit dan pemendekan waktu hidup eritrosit yakni 80 hari dibanding pada usia dewasa 120 hari.<sup>2,3,4</sup> Kadar bilirubin indirek sampai 10 mg/dl merupakan suatu masalah pada neonatus, dicurigai suatu kondisi patologis. Alpay dkk<sup>3,4</sup> menggunakan kadar bilirubin serum  $120 \mu\text{mol/L}$  (7,06 mg/dl) dalam memprediksi terjadinya hiperbilirubinemia cenderung patologis pada neonatus sehat cukup bulan. Hampir semua neonatus sehat cukup bulan dengan tingkat bilirubin serum  $<120 \mu\text{mol/L}$  di hari pertama tidak terjadi hiperbilirubinemia

cenderung patologis.<sup>34</sup> Observasi serupa juga didukung oleh studi kohort prospektif yang dilakukan Stevenson dkk.<sup>35</sup>

Dani C dkk<sup>36</sup> mengemukakan bahwa penurunan kadar bilirubin plasma sesuai dengan peningkatan kapasitas antioksidan dan penurunan stress oksidatif pada neonatus prematur. Vitamin C dan vitamin E adalah antioksidan kuat pada tingkat seluler memainkan peranan penting dalam perlindungan sel terhadap kerusakan oksidatif dan hemolisis, oleh karena itu kadar vitamin C dan vitamin E berkaitan dengan hiperbilirubinemia pada neonatus yang cenderung patologis.<sup>36</sup> Vitamin C sangat penting pada banyak fungsi fisiologis, beberapa fungsi diantaranya termasuk fungsi redoks yang memainkan peran sangat penting pada *α-tocopherol*, *reduced glutathione*, dan faktor lain sebagai antioksidan yang memproteksi sel. Vitamin C mewakili sebagian besar *water-soluble antioxidant* (hidrofilik) pada plasma, menunjang redoks *α-tokopherol recycling*.<sup>20</sup>

Vitamin C mempunyai kemampuan antioksidan karena mampu bereaksi dengan radikal bebas dengan cara melepas elektronnya. Vitamin C melepas elektron menjadi radikal askorbil, bereaksi dengan SOR terutama dengan radikal hidroksil (OH<sup>-</sup>) dan anion superoksida (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), serta meregenerasi vitamin E menjadi bentuk aktif sehingga berperan menjadi antioksidan, hal ini menunjukkan hubungan sinergistik antara vitamin C dan vitamin E. Penelitian ini dilakukan uji analisis Mann-whitney untuk mengetahui adanya perbedaan kadar vitamin C dan vitamin E antara kelompok bilirubin meningkat ( $\geq 5$  mg/dl) dan kelompok bilirubin tidak meningkat ( $< 5$  mg/dl) dimana didapatkan hasil perbedaan yang bermakna pada kedua kelompok, serta

dilakukan analisis bivariat regresi logistik untuk mengetahui pengaruh vitamin C terhadap peningkatan kadar bilirubin. Hasil analisis bivariat regresi logistik yang dilakukan menunjukkan bahwa kadar vitamin C dibawah normal ( $< 7 \mu\text{g/ml}$ ) mempunyai pengaruh terhadap peningkatan kadar bilirubin lebih besar daripada kadar vitamin C yang normal ( $\geq 7 \mu\text{g/ml}$ ). Penelitian ini dilakukan analisis multivariate untuk mengetahui keterlibatan vitamin E dan vitamin C dalam peningkatan kadar bilirubin. Hasil uji multivariat regresi logistik menunjukkan bahwa vitamin C dan vitamin E memiliki pengaruh secara bersama-sama terhadap peningkatan kadar bilirubin, dimana kadar vitamin C dibawah normal ( $< 7 \mu\text{g/ml}$ ) mempunyai pengaruh yang lebih rendah daripada vitamin E dibawah normal ( $< 0,22 \text{ mg/dl}$ ) untuk terjadinya peningkatan kadar bilirubin.

### **Keterbatasan penelitian**

1. Penelitian ini tidak menyertakan variabel antioksidan dan oksidan/radikal bebas lain yang dapat mempengaruhi kejadian hemolisis atau peningkatan kadar bilirubin pada neonatus, misalnya superoksid dismutase, katalase, glutathion peroksidase dan glutathion reduktase.
2. Penelitian ini tidak memperhatikan variabel lain yang dapat mempengaruhi peningkatan kadar bilirubin serum, misalnya adanya kelainan transportasi bilirubin (hipoalbumin), gangguan *uptake* hati (def. protein ligandin), gangguan konjugasi (def. enzim glukoronil transfease) dan defek biokimia (def. G6PD, def. *pyruvat kinase*).

3. Penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan kadar vitamin C dan vitamin E pada ibu.

## **BAB 7**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **7.1. Simpulan**

Simpulan yang bisa didapat pada penelitian ini:

1. Kadar vitamin C pada kelompok bilirubin meningkat ( $\geq 5$  mg/dl) sebesar  $6,89 \pm 0,09$  mg/dl. dan bilirubin tidak meningkat.
2. Kadar vitamin C pada kelompok bilirubin tidak meningkat ( $< 5$  mg/dl) sebesar  $7,18 \pm 0,28$  mg/dl.
3. Kadar vitamin C pada kelompok bilirubin tidak meningkat lebih tinggi dibanding kelompok bilirubin meningkat.
4. Kadar vitamin C dan vitamin E berpengaruh terhadap peningkatan kadar bilirubin.

#### **7.2. Saran**

Perlu dilakukan penelitian lanjut :

1. Perlakuan pemberian suplemen vitamin C dan vitamin E terhadap kejadian peningkatan kadar bilirubin pada neonatus.

2. Keterlibatan variabel antioksidan dan oksidan/radial bebas lain yang mempengaruhi kejadian hemolisis dan variabel yang mempengaruhi peningkatan kadar bilirubin pada neonatus.
3. Pemeriksaan kadar vitamin C dan vitamin E pada ibu.
4. Penelitian lebih lanjut multisenter untuk lebih meyakinkan pemberian terapi antioksidan, khususnya vitamin C dan vitamin E.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan & Kesejahteraan RI. Sensus Kesehatan Rumah Tangga (SKRT). 2004
2. Blackburn ST. Bilirubin metabolism. In: Blackburn ST. Maternal, fetal & neonatal physiology, a clinical perspective. Edisi ke-3. Saunders. Missouri; 2007;p.230-237
3. Bhutani VK, Johnson LH. Jaundice technologies : prediction of hyperbilirubinemia in term and near term newborn. *J Perinatol*. 2001; 21:576
4. Hansen TWR. Jaundice, neonatal. *Emedicine*, 2006, June. Diunduh dari : URL: [www.emedicine.com/ped/topic 106.htm](http://www.emedicine.com/ped/topic 106.htm).
5. Dennery PA, Seidman DS, Stevenson DK. Neonatal hyperbilirubinemia. *N England J Med*. 2001;344(8):581-90.
6. Martin CR, Cloherty JP. Neonatal hiperbilirubinemia. In: Cloherty JP, Eichenwald EC, Stark AR, editors. *Manual of Neonatal Care* 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 185-221
7. Halamek LP, Stevenson DK. Neonatal jaundice and liver disease. In: Fannarof AA, Martin RJ, eds. *Neonatal-Perinatal Medicine; Diseases of the Fetus and Infant*, 6th Ed. New York: Mosby-Year Book Inc; 2002; p. 1309-50.
8. Suryohudoyo P. Oksidan, antioksidan dan radikal bebas. Dalam: Suryohudoyo P. *Kapita Selektta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Jakarta: CV Sagung Seto; 2000:31-47.
9. Wen Y, Cooke T, Feely J. The effect of pharmacological supplementation with vitamin C on low-density lipoprotein oxidation. *Br J Clin Pharmacol* 1997;44:94-97.
10. Abdul-Razzak KK, Nusier MK, Obediat AD, Salim AM. Antioxidant vitamins and hyperbilirubinemia in neonates. *GMS Ger Med Sci* 2007; 5: 03
11. Mohan SK, Priya V. Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant enzymes in neonatal jaundice patients. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2008;(3)827-32.
12. MacMahon JR, Stevensson DK, Oski FA. Bilirubin Metabolism. In: Taeusch HW, Balard RA, editors. *Avery's Diseases of the Newborn* 7th edition. Philadelphia, WB Saunders, 1998: 995-1002
13. Maisels MJ. Jaundice. In: Avery GB, Fletcher MA, Mac Donald MG, editors. *Neonatology, Pathophysiology & Management of the Newborn*. 5th ed. Baltimore: Lippincot Williams & Wilkins; 1999. p. 765-819
14. Uy CC. Hyperbilirubinemia. In: Gomella TL, Cunningham MD, Eyal FG, Zenk KE. *Neonatology: Management, procedures, on-call problems*,

- diseases, and drugs. New York: Lange Medical Book/McGraw-Hill; 2009. p. 382-95.
15. Meissels MJ, Bhutani VK, Bogen D, Newman TB, Stark AR, Watchko JF. Hyperbilirubinemi in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. An update with clarifications. *Pediatrics* 2009; 124: 1193-98
  16. Smith AR, Visioli F, Hagen TM. Vitamin C matters: increased oxidative stress in cultured human aortic endothelial cells without supplemental ascorbic acid. *The FASEB Journal* 2002 May 8; 10(1096)
  17. Daud D. Peranan enzim glukosa 6 fosfat dehidrogenase pada sel darah merah. Dalam: Simposium Nasional Nefrologi Anak IX dan Hematologi-Onkologi Anak ; Tatalaksana Mutakhir Penyakit Ginjal dan Hematologi-Onkologi Anak. IDAI. Surabaya: Surabaya Intellectual Club; 2003:82-88.
  18. Sack GH. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *Medical Genetics*. New York USA: McGraw-Hill; 1999. p. 153-54.
  19. Murray RK. *Harper's Biochemistry*. 22<sup>nd</sup> ed. London, UK: Prentice-Hall Int'l Inc; 1990. p.142-3.
  20. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, editors. *Biokomia Harper Edisi 25*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2000. p. 609-620.
  21. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, et all. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition* 2003;22(1):18–35.
  22. Combs GF. Vitamin E. In: Combs GF. *The vitamins, fundamental aspects in nutrition and health* 2nd ed. California: Academic Press; 1998. p. 245-74.
  23. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a prooxidant under physiological conditions? *Faseb J* 1999; 13: 1007-1024.
  24. Combs GF. Vitamin E. In: Combs GF. *The vitamins, fundamental aspects in nutrition and health* 2nd ed. California: Academic Press; 1998. p. 189-223.
  25. Hodges RE. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin C in humans. *Am J Clin Nutr* 2001; 45:693-703.
  26. Thompson MS. Vitamin C status of an outpatient population. *Journal of the American College of Nutrition* 2002; 17: 366–370.
  27. Gallagher ML. Vitamins. In: Mahan LK, Escott-Stump S. *Krause's food, nutrition, & diet therapy*. Pennsylvania: Saunders; 2004. p. 75-119.
  28. Packer L. *The antioxidant network*. Cyberpac, Inc. 1999
  29. Johnston CS, Meyer CG, Srilakshmi JC. Vitamin C elevates red cell glutathione in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 2000; 58: 103-105.
  30. Akerboom TPM, Sies H,. Assay of glutathione, glutathion disulfide, and glutathione mixed disulfide in biological samples. In: W Jaakoby, editor. *Detoxication and drug metabolism: cojugation and related system*. *Methods in enzymology* 1999;1977.373-382
  31. Heinomen K, Mononen I, Mononen T, Parviainem M, Penttila I, Launiala K. Plasma vitamin C levels are low in premature infants fed human milk. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1986 June; 43:923-924

32. Third National Health and Nutritional Examination Survey (NHAENS III), 1988-94. CDC laboratory procedures used for NHANES III. National Center for Health Statistics 1999;3A(11):1-50.
33. Dade Behring Inc. Dimension®clinical chemistry system, flex® reagent cartridge. Newark: Dade Behring Inc; 2005. P.1-2.
34. Alpay F, Sarici SU, Tosuncuk HD, Serdar MA, Inanc N, Gokcay E. The value of first-day bilirubin measurement in predicting the development of significant hyperperbilirubinemia in healthy term newborns. *Pediatrics* 2000;106(2):E16.
35. Stevenson DK, Fanarof AA, Maisels MJ, Young BW, Wong RJ, Vreman HJ, et al. Prediction of hyperbilirubinemia in near-term and term infants. *Pediatrics* 2001;108(1):31-9.
36. Dani C, Martelli E, Bertini G, Pezzati M, Fillipi L, Rosseti M, et al. Plasma bilirubin level and oxidative stress in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003;88(2):F119-23.
37. Meister A. Gluthation-ascorbic acid antioxidant system in animal. *J Bio Chem* 1994;269:9397-400.
38. Surapapeni KM, Priya VV. Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E, and antioxidant enzymes in neonatal jaundice patients. *Journal of clinical and diagnostic research*. 2008;3:827-32.