

**PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN C
TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS
DISEKITAR LUKA INSISI PADA TIKUS USIA TUA**

*THE EFFECT OF VITAMIN C SUPPLEMENT
TOWARD THE AMOUNT OF FIBROBLAST
AROUND THE INCISION WOUND OF OLD RAT*



Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat S-2

MAGISTER ILMU BIOMEDIK

ENI KUSYATI

NIM : G4A008030

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG**

2010

**PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN C
TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS
DISEKITAR LUKA INSISI PADA TIKUS USIA TUA**

*THE EFFECT OF VITAMIN C SUPPLEMENT
TOWARD THE AMOUNT OF FIBROBLAST
AROUND THE INCISION WOUND OF OLD RAT*



Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat S-2

MAGISTER ILMU BIOMEDIK

ENI KUSYATI

NIM : G4A008030

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG
2010**



Tesis

**PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN C
TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS
DISEKITAR LUKA INSISI PADA TIKUS USIA TUA**

*THE EFFECT OF VITAMIN C SUPLEMENT
TOWARD THE AMOUNT OF FIBROBLAST
AROUND THE INCISION WOUND OF OLD RAT*

disusun oleh :

Eni Kusyati

NIM : G4A008030

Telah dipertahankan di tim penguji pada tanggal 26 Agustus 2010
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama,

Pembimbing Kedua,

dr. Neni Susilaningsih, M.Si
NIP. 196301281989022001

dr. Udadi Sadhana, M.Kes, Sp.PA
NIP. 196308211991031001

Mengetahui:
Ketua Program Magister Ilmu Biomedik
Program Pascasarjana Universitas Diponegoro

DR. dr. Winarto, Sp.MK, Sp.M (K)
NIP. 194906171978021001



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Agustus 2010

Penulis



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Ns. Eni Kusyati, S.Kep
NIM Magister Biomedik : G4A008030
Tempat / Tanggal Lahir : Semarang, 8 Agustus 1972
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. Lulus SDN VI Banyumanik Semarang Tahun 1986
2. Lulus SMP Negeri 21 Semarang Tahun 1989
3. Lulus SMA Negeri 4 Semarang Tahun 1992
4. Lulus DIII Keperawatan STIKES Karya Husada Semarang 1995
5. Lulus PSIK (Program Studi Ilmu Keperawatan) Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta Tahun 2002
6. Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik UNDIP Semarang

C. Riwayat Pekerjaan

1. Tenaga Perawat di RSUD Margono Soekarjo Purwokerto (2005-2006)
2. Staf pengajar STIKES Karya Husada Semarang (2006 – sekarang)

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua : Ayah: Suratman
Ibu : Siswati
2. Nama Suami : Kustono, S.Pd
3. Nama Anak : 1. Adela Putri Kusuma wardani
2. Bilal Aslam
3. Ilham Ramadhani



KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas anugerah dan kemurahannya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul **“Pengaruh Suplementasi Vitamin C terhadap Jumlah Fibroblas disekitar Luka Insisi pada Tikus Usia Tua”**. Tesis ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Magister di Program Pasca Sarjana Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Proses penyembuhan luka terjadi melalui berbagai mekanisme, *aging proses* yang terjadi pada usia lanjut menyebabkan terjadinya proses penyembuhan luka yang lambat karena proses degenerasi yang akan mempengaruhi mekanisme penyembuhan tersebut. Intervensi dari luar seperti pemberian vitamin C diharapkan dapat meningkatkan proses penyembuhan luka melalui peningkatan jumlah fibroblas yang selanjutnya juga dapat meningkatkan jumlah kolagen. Penelitian tentang manfaat vitamin C telah banyak dilakukan, namun demikian penelitian ini untuk melihat pengaruh vitamin C pada proses penyembuhan luka pada tikus usia tua khususnya terhadap peningkatan jumlah fibroblas dan kolagen. Alasan inilah yang membuat penulis melakukan penelitian ini untuk tesis.

Penulis menyadari tugas ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada dr. Neni Susilaningsih, M.Si selaku pembimbing utama serta dr. Udadi Sadhana, M.Kes, Sp.PA selaku pembimbing kedua atas segala bimbingan, dukungan dan semangatnya yang telah diberikan untuk mengerjakan dan menyelesaikan penelitian ini. Kami menyampaikan rasa terima kasih yang sedalam-dalamnya atas bimbingan sekaligus sebagai guru kami yang dengan sabar dan bijaksana telah meluangkan waktu membantu dan mengarahkan demi terselesainya pendidikan kami. Dalam kesempatan ini penulis juga menghaturkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. dr. Susilo Wibowo, MS.Med, Sp.And, Rektor Universitas Diponegoro Semarang atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan Program Magister Ilmu Biomedik.



2. Prof. drs. Y. Warella, M.PA, PhD, Direktur Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami untuk menempuh Program Magister Ilmu Biomedik UNDIP Semarang
3. Dr. dr. Winarto, Sp.MK, Sp.M (K), Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan Program Magister Ilmu Biomedik UNDIP Semarang.
4. dr. Soejoto, PAK, SpKK (K), Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan Program Magister Ilmu Biomedik UNDIP Semarang.
5. Seluruh tim penguji, Prof. Dr. dr. Tjahjono, SpPA (K) FIAC; Dr. dr. Winarto, Sp.MK, Sp.M (K); Dr. dr. Andrew Johan, M.Si; dr. Neni Susilaningsih, M.Si; dr. H. Udadi sadhana, M.kes, Sp.PA, dr. Bambang Endro Putranto, Sp.PA; dr. Niken Puruhita, M.med.Sc, Sp.GK, yang telah berkenan memberikan masukan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.
6. dr. Bambang Endro Putranto, Sp.PA, Kepala bagian Patologi Anatomi beserta dr. Ika Pawitra Miranti, M.Kes., Sp.PA. dan staf yang telah memberikan ijin, membantu melakukan pembacaan hasil serta meminjamkan fasilitas dalam pembacaan hasil penelitian.
7. Dr. drh, Pudji Astuti, M.P, Kepala Bidang Layanan Penelitian Pra-Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan (LP3HP) UGM Yogyakarta beserta staf yang telah memberikan fasilitas dan pendampingan dalam pemeliharaan dan perlakuan hewan coba dengan baik hingga penelitian selesai.
8. Ibunda dan kedua mertuaku tercinta yang dengan tulus dan tiada henti memanjatkan doa dan restu serta dukungannya untuk keberhasilan kami.
9. Suamiku, dan anak-anakku (Dela, Bilal, Ilham) tercinta atas pengertian dan pengorbanan, dukungan serta doa tulusnya hingga kami mampu bertahan dan menyelesaikan studi ini.
10. Elisa, Amin, Adnan, terimakasih atas motivasi dan dukungan semangatnya.



11. Seluruh staf laboratorium Patologi Anatomi RS Dr. Kariadi yang telah banyak membantu dan bekerja sama selama kami menempuh program pendidikan ini.
12. Semua pihak yang tidak bisa kami sebutkan satu persatu, yang turut membantu dan mendukung pendidikan kami selama ini.

Akhirnya kami menyadari bahwa karya akhir ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu sumbang saran dan kritik dari para guru serta pembaca lainnya akan kami terima dengan senang hati demi perbaikan di masa mendatang. Penulis berharap penelitian ini dapat berguna bagi masyarakat dan memberikan sumbangan bagi perkembangan ilmu. Tak lupa kami memohon maaf yang sebesar-besarnya apabila selama menempuh pendidikan maupun dalam pergaulan sehari-hari ada hal-hal yang kurang berkenan. Semoga Allah SWT melimpahkan berkat dan kemurahanNya kepada kita semua. Amin.

Semarang, Agustus 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan masalah	4
1.3. Tujuan penelitian	4
1.4. Manfaat penelitian	5
1.5. Orisinalitas penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tinjauan Pustaka	8
2.1.1. Vitamin C	8
2.1.1.1. Pengertian vitamin C	8
2.1.1.2. Metabolisme vitamin C	8
2.1.1.3. Fungsi vitamin C	9
2.1.1.4. Biokimia vitamin C	10
	viii

	2.1.1.4. Hidroksilasi	11
	2.1.1.5. Angka Kecakupan gizi	12
2.1.2.	Proses penyembuhan luka	12
2.1.3.	Fase penyembuhan luka	14
	2.1.3.1. Fase inflamasi	15
	2.1.3.2. Fase proliferasi	16
	2.1.3.3. Fase maturasi	18
2.1.4.	Fibroblas	19
	2.1.4.1. Peran fibroblas dalam fase penyembuhan luka	19
2.1.5.	Kolagen	25
	2.1.5.1. Sintesis kolagen	30
	2.1.5.2. Peran kolagen dalam proses penyembuhan luka	31
	2.1.5.3. Skema patofisiologi pembentukan Fibroblas dan Kolagen	35
2.1.6.	Proses penuaan	35
BAB 3	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
3.1.	Kerangka teori	39
3.2.	Kerangka konsep	40
3.3.	Hipotesis	40
BAB 4	METODE PENELITIAN	42
4.1.	Ruang lingkup penelitian	42
4.2.	Tempat dan waktu penelitian	42
4.3.	Jenis rancangan penelitian	42
4.4.	Populasi penelitian	45
4.5.	Sampel	45
	4.5.1. Besar sampel	45
	4.5.2. Cara pengambilan sampel	45
	4.5.3. Proses randomisasi	46
4.6.	Variabel penelitian	
	4.6.1. Variabel bebas	46

4.6.2.	Variabel tergantung	47
4.6.3.	Variabel perancu	47
4.7.	Definisi Operasional	47
4.8.	Alat dan bahan penelitian	49
4.8.1	Alat penelitian	49
4.8.2	Bahan dan reagen penelitian	49
	4.8.2.1. Bahan untuk perlakuan	49
	4.8.2.2. Bahan untuk pemeriksaan	50
4.9.	Alur penelitian	50
4.9.1.	Cara perlakuan	50
4.9.2.	Alur kerja penelitian	54
4.10.	Prosedur pemeriksaan	55
4.10.1.	Prosedur eksisi biopsi	55
4.10.2.	Prosedur pembuatan preparat histopatologi	55
4.11.	Cara pengumpulan data	56
4.11.1.	Analisis data	56
4.12.	Etika penelitian	57
BAB 5	HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS	58
5.1	Gambaran umum	58
5.2	Jumlah fibroblas	59
5.3	Jumlah kolagen padat	61
5.4	Uji hubungan jumlah fibroblas dengan kolagen padat	62
BAB 6	PEMBAHASAN	64
BAB 7	SIMPULAN DAN SARAN	72
7.1	Simpulan	72
7.2	Saran	72
DAFTAR PUSTAKA		74
LAMPIRAN-LAMPIRAN		80

DAFTAR TABEL

	Halaman
TABEL 1. Orisinalitas penelitian	6
TABEL 2. Peranan kolagen dalam proses penyembuhan luka	35
TABEL 3. Nilai rata-rata hasil perhitungan jumlah fibroblas dan kolagen padat perlapangan pandang terpisah oleh masing-masing pembaca.	57
TABEL 4. Nilai rata-rata hasil perhitungan jumlah fibroblas dan kolagen padat perlapangan pandang terpisah oleh 2 pembaca.	
TABEL 5. Nilai rata-rata perhitungan jumlah fibroblas tiap kelompok perlakuan	58
TABEL 6. Hasil uji statistik Mann-Whitney terhadap jumlah fibroblas	60
TABEL 7. Nilai rata-rata perhitungan jumlah kolagen padat tiap kelompok perlakuan	60

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
GAMBAR 1. Struktur kimia vitamin C	11
GAMBAR 2. Proses hidroksilasi prolin dan lysin	12
GAMBAR 3. Tahapan proses penyembuhan luka	14
GAMBAR 4. Struktur kolagen	26
GAMBAR 5. Dermis dengan pewarnaan Van Gieson pembesaran 400 x	26
GAMBAR 6. Fibroblas pada kulit dengan pembesaran 400 x	27
GAMBAR 7. Grafik <i>box plot</i> jumlah fibroblas	59
GAMBAR 8. Grafik <i>box plot</i> hitung kolagen padat	61

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. *Ethical Clearance*
- Lampiran 2. Surat keterangan ijin melakukan penelitian
- Lampiran 3. Surat keterangan selesai melakukan penelitian
- Lampiran 4. SPSS Hasil Penelitian
- Lampiran 5. Foto – foto penelitian
- Lampiran 6. Foto – foto hasil pemeriksaan jumlah fibroblas dan kolagen padat.

DAFTAR SINGKATAN

IL	: Interleukin
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
FGF	: Fibroblast Growth Factor
TGF β	: Transforming Growth Factor Beta
IGF	: InsulinLike Growth Factor
bFGF	: basic Fibroblast Growth Factor
EGF	: Epithelial Growth Factor
VEGF	: Vascular Epithelial Growth Factor
TNF α	: Tumor Necrosis Factor alpha
ECM	: Extra Cellular Matrix
ROS	: Reactive Oxygen Species
ATP	: Adenosin Triphospate
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phospate
P02	: Partial Oxygen Tension
TcPO2	:Transcutaneous Oxygen Tension
MVTR	: Moist Vapour Transmition Rate

ABSTRAK

Latar Belakang : Proses penyembuhan luka pada usia tua akan terjadi perlambatan melalui berbagai mekanisme. Vitamin C berperan membantu penyembuhan luka melalui oksidasi dengan kofaktor Fe^{2+} menyebabkan dikeluarkannya sejumlah anion radikal oksigen superoksida (O_2^-) yang akan meningkatkan sintesis kolagen. Kolagen disintesis oleh fibroblas dari prolin dan lisin kemudian dihidrosilasi dengan bantuan vitamin C.

Tujuan : Membuktikan adanya pengaruh pemberian suplementasi vitamin C terhadap jumlah fibroblas di sekitar luka insisi pada tikus usia tua.

Metoda : Penelitian eksperimental laboratorik menggunakan rancangan *randomized post test-only control group*. Tikus usia 7,5 bulan, jantan, 20 ekor dibagi 4 kelompok yaitu K (dilakukan insisi tanpa diberi vitamin C). P1 (sebelum insisi diberi vitamin C 3 mg/330mg BB/hari peroral selama 7 hari). P2 (setelah insisi diberi vitamin C 3 mg/330mgBB/hari peroral selama 14 hari). P3 (7 hari sebelum insisi dan 14 hari setelah insisi diberi vitamin C 3 mg/330mgBB/hari peroral. Uji hipotesis dengan *Kruskal-Wallis*, dilanjutkan dengan uji beda antar variabel dengan *Mann-Whitney* dan Uji korelasi dengan *Spearman*

Hasil : Hasil perhitungan fibroblas pada tiap kelompok didapatkan K=11,4±1,29, P1=37,4±34,49, P2=88,1±26,93, P3=91,1±11,14. Perhitungan jumlah kolagen padat didapatkan hasil P=11,0±8,03, P1=16,1±9,45, P3=18,5±2,89, P4=17,5±3,24.

Simpulan: Kelompok P2 jumlah fibroblas lebih banyak dibanding P1, P3 dan K, pemberian vitamin C tidak meningkatkan jumlah kolagen padat, serta ada hubungan bermakna jumlah fibroblas dengan kolagen padat.

Kata Kunci : Vitamin C, usia tua, jumlah fibroblas, jumlah kolagen padat.

ABSTRACT

Background: Wound recovery process At The old age would happen deceleration of through many mechanism. Vitamin C had the role to support wound recovery through oxidation with cofactor Fe^{2+} which caused out off the amount of energy in the form of anion radical oxygen superoksida (O_2^-) Which would increase collagen sintesis. Collagen was synthesized by fibroblast from prolin and lizin, then it would be hydrosilazied with the help of vitamin C.

Aims: To prove then there was an effect by giving vitamin C supplementation toward the amount of fibroblast around insition wound of old rat.

Method: Laboratoric experimental research used a method of *randomized post test only control group*. Rat 7,5 months old, 20 male mice were divided into 4 groups namely K (done insition without given vitamin C supplementation), P1 (before done insition , given vitamin C supplementation 3mg/330mgBB/day peroral for 7 days). P2 (after done insition , given vitamin C supplementation 3mg/330mgBB/day peroral for 14 days), P3 (7 days before insition done and 14 days after insition, given vitamin C supplementation 3mg/330mgBB/day peroral). Hypothesis test with *Kruskal wallis*, to be continued by different exsperiment hypothesis test withvariable and *Mann Whitney* and corelatoin test with *Spearman*.

Results : the result of calculate fibroblast in the each group obtained $K=11,4\pm 1,29$, $P1=37,4\pm 34,49$, $P2=88,1\pm 26,93$, $P3=91,1\pm 11,14$. Calculate the number density of collagen obtained results $P=11,0\pm 8,03$, $P1=16,1\pm 9,45$, $P3=18,5\pm 2,89$, $P4=17,5\pm 3,24$.

Conclusion: Group P2 fibroblast amount more than P1, P3 and K, the giving of vitamin C doesn't increase the amount density of collagen . That is Corelation fibroblast amount with density of collagen.

Key words: Vitamin C, wound healing the old age, fibroblast amount, the amount density of collagen .

LAMPIRAN 5

HASIL FOTO PENELITIAN



Proses pemberian suplementasi vitamin C melalui sonde lambung



Luka insisi sampai lapisan subkutis pada daerah punggung



Proses Penyembuhan luka pada hari ke 10



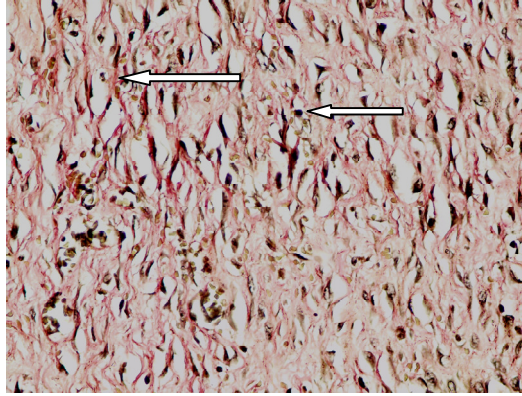
Jaringan hasil proses eksisi biopsi



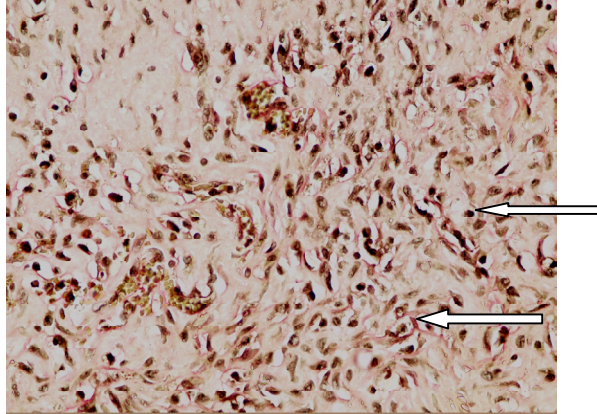
Proses pengecatan khusus dengan Van Gieson

Lampiran 6

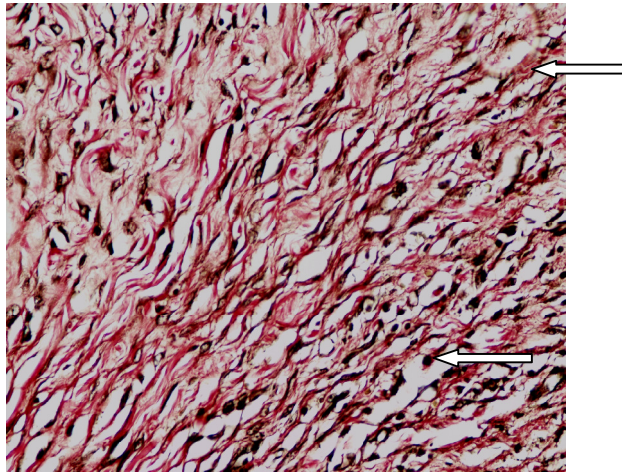
HASIL FOTO PENELITIAN



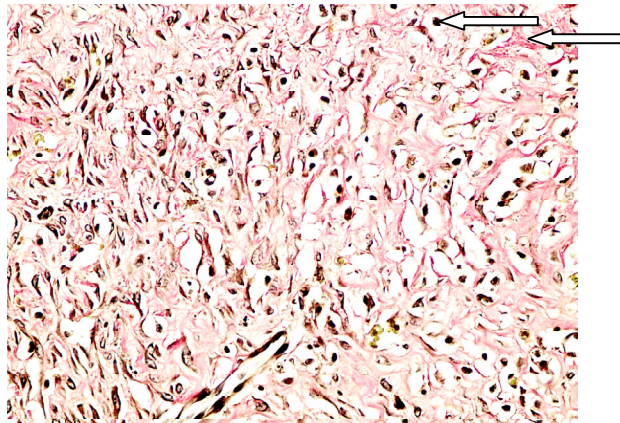
Gambaran jumlah fibroblas dan kepadatan kolagen kelompok kontrol



Gambaran jumlah fibroblas dan kepadatan kolagen kelompok P1



Gambaran jumlah fibroblast dan kepadatan kolagen kelompok P2



Gambaran jumlah fibroblas dan kepadatan kolagen kelompok P3