

PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN C ORAL TERHADAP

KRISTAL KALSIUM OKSALAT URIN

Studi Eksperimental pada *Cavia Cobaya*

Karya Tulis Ilmiah

untuk memenuhi sebagian persyaratan

mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Rosyida Prohestin Puspandaru

01.206.5279

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2010

PERP.UNISSULA

PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN C ORAL TERHADAP

KRISTAL KALSIMUM OKSALAT URIN

Studi Eksperimental pada *Cavia Cobaya*

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Rosyida Prohestin Puspendaru

01.206.5279

Telah di pertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 12 Februari 2010
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

dr. Erwin Budi Cahyono, Sp.PD

Anggota Tim Penguji

Dra. Edijanti Guwarno, Apt

Pembimbing II

dr. H. Tjatur Sembodo, MS(PH)

dr. Erna Mirani, Msi.Med

Semarang, ..22.. MARET 2010..

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp.And

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobil'alamin. Puja dan puji syukur senantiasa penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul "Pengaruh Pemberian Vitamin C Oral Terhadap Kristal Kalsium Oksalat Urin".

Karya Tulis Ilmiah ini dibuat sebagai upaya untuk memahami sebagian ayat kauniah atau fenomena alam yang merupakan tanda kekuasaan Allah SWT. Selain itu juga untuk memenuhi sebagian persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran di fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tersusunnya karya tulis ilmiah ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. dr.H. Taufiq R. Nasihun, M.kes, Sp. And selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung yang telah mengizinkan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
2. dr. Erwin Budi Cahyono, Sp. PD selaku pembimbing I yang telah membimbing dan mengarahkan, serta kesediaannya menyediakan waktu untuk penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. dr. H. Tjatur Sembodo, MS(PH) selaku pembimbing II yang juga telah membimbing dan mengarahkan, serta kesediannyanya menyediakan waktu untuk penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

4. Dra. Edijanti Guwarno, Apt selaku penguji I yang telah meluangkan waktu sehingga dapat menguji Karya Tulis Ilmiah ini.
5. dr. Erna Mirani, Msi. Med selaku penguji II yang juga telah meluangkan waktu sehingga dapat menguji Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Bapak, Ibu, Dita, Tri, Asri, dan Anik yang telah memberikan dukungan serta doa untuk kelancaran pembuatan KTI ini.
7. Teman-teman angkatan 2006 yang telah membantu dalam kelancaran pembuatan KTI dari awal dan akhir.
8. Mbak Dina dan Mbak Hani yang telah membantu dalam penelitian.
9. Dan seluruh pihak yang telah membantu penulisan KTI ini yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Akhir kata penulis berharap agar karya Tulis Ilmiah ini diridhoi oleh Allah SWT dan dapat bermanfaat bagi pembaca khususnya, dan menambah khasanah keilmuan dunia keilmuan dunia kedokteran pada umumnya, serta amal baik di sisi-Nya.

Semarang, Febuari 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
INTISARI	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Kalsium Oksalat	6
2.1.1. Definisi	6
2.1.2. Struktur Kimia	6
2.1.3. Metabolisme	6
2.1.3.1. Sumber Oksalat dalam Tubuh	6
2.1.3.2. Ekskresi Oksalat dalam Tubuh	7
2.1.3.3. Pembentukan kristal Kalsium Oksalat dalam Tubuh	8

2.1.3.4. Ekskresi Kalsium Oksalat dalam Tubuh.....	9
2.1.4. Harga Normal	13
2.1.5. Cara Penetapan Kristal Kalsium Oksalat	13
2.2. Vitamin C	14
2.2.1. Definisi	14
2.2.2. Struktur Kimia	15
2.2.3. Fungsi	15
2.2.4. Metabolisme	16
2.2.4.1. Absorpsi	16
2.2.4.2. Transportasi	17
2.2.4.3. Penyimpanan	18
2.2.4.4. Ekskresi	20
2.2.5. Angka Kebutuhan Sehari	20
2.2.6. Sumber	21
2.2.7. Efek Samping	21
2.3. Hubungan antara Vitamin C dengan Pembentukan Kalsium Oksalat	21
2.4. Kerangka Teori	23
2.5. Kerangka Konsep	24
2.6. Hipotesis	24
BAB III METODE PENELITIAN	25
3.1. Jenis Penelitian	25

3.2. Variabel dan Definisi Operasional	25
3.2.1. Variabel	25
3.2.2. Definisi Operasional	25
3.3. Populasi dan Sampel	26
3.3.1. Populasi Penelitian	26
3.3.2. Sampel Penelitian	26
3.4. Instrument dan Bahan Penelitian	27
3.4.1. Instrumen Penelitian	27
3.4.2. Bahan Penelitian	27
3.5. Cara Penelitian	29
3.5.1. Persiapan Penelitian	29
3.5.2. Pelaksanaan Penelitian	30
3.5.3. Pengambilan Sampel Urin dan Pemeriksaan Kalsium Oksalat	31
3.6. Tempat dan Waktu	31
3.6.1. Tempat Penelitian	31
3.6.2. Waktu Penelitian	32
3.7. Alur Penelitian	33
3.8. Analisis Hasil	34
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	35
4.1. Hasil Penelitian	35
4.2. Pembahasan	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	42

5.1. Kesimpulan	42
5.2. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	48



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Struktur kimia kalsium oksalat	6
Gambar 2.2. Skema perubahan pada fosfolipid membran sel dan	8
Gambar 2.3. Nukleasi kristal kalsium oksalat	10
Gambar 2.4. Proses pembentukan kristal kalsium oksalat	11
Gambar 2.5. Gambar kristal <i>Calcium Oxalate Monohydrate (COM)</i>	14
Gambar 2.6. Gambar kristal <i>Calcium Oxalate Dihydrate (COD)</i>	14
Gambar 2.7. Struktur kimia vitamin C	15
Gambar 2.8. Oksidasi vitamin C menjadi 2,3 <i>diketogulonic acid</i>	18
Gambar 2.9. Skema metabolisme dan ekskresi vitamin C	19
Gambar 4.1 Mean Jumlah Kristal Kalsium Oksalat Urin Tiap Dosis	35
Gambar 4.2 Mean Jumlah Kristal Kalsium Oksalat Urin Tiap Hari	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Perhitungan Jumlah Kristal Kalsium Oksalat	48
Lampiran 2. Perhitungan Uji Normalitas dan Uji Homogenitas pada Dosis	49
Lampiran 3. Perhitungan Uji Normalitas dan Uji Homogenitas pada Lama	50
Lampiran 4. Hasil Uji Gambaran Pengaruh Perbedaan Dosis Vitamin C Oral terhadap Pembentukan Kristal Kalsium Oksalat Urin	51
Lampiran 5. Hasil Uji Gambaran Pengaruh Lama Vitamin C Oral terhadap Pembentukan Kristal Kalsium Oksalat Urin ...	52
Lampiran 6. Hasil Uji Perbedaan antara Dosis Vitamin C Oral terhadap Pembentukan Kristal Kalsium Oksalat Urin ...	53
Lampiran 7. Hasil Uji Perbedaan antara Lama Pemberian Vitamin C Oral terhadap Pembentukan Kristal Kalsium Oksalat Urin	54
Lampiran 8. Hasil Uji Perbedaan antara Berbagai Dosis dan Lama Pemberian Vitamin C Oral terhadap Pembentukan Kristal Kalsium Oksalat Urin	55
Lampiran 9. Gambar I dan Gambar II	56
Lampiran10. Gambar III	57

INTISARI

Para peneliti mempunyai perbedaan pendapat mengenai ada tidaknya pengaruh penggunaan vitamin C terhadap jumlah kristal kalsium oksalat urin. Adanya kristal kalsium oksalat urin berlebihan akan meningkatkan faktor risiko terjadinya batu ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh berbagai dosis dan lama pemberian vitamin C oral terhadap kristal kalsium oksalat yang terbentuk di urin.

Penelitian ini menggunakan hewan coba marmut (*Cavia Cobaya*) yang terbagi menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok 0 mg (kontrol), kelompok 3,1 mg, kelompok 31 mg, dan kelompok 310 mg. Penampungan urin dilakukan setiap hari dan selanjutnya dilakukan penghitungan kristal kalsium oksalat. Uji analisis menggunakan uji Kruskal-Wallis untuk uji beda dan uji Manova untuk uji interaksi, serta diolah dengan SPSS 15.

Hasil rerata jumlah kristal kalsium oksalat urin pada penambahan dosis vitamin C oral akan menghasilkan gambaran yang bertambah. Hasil rerata jumlah kristal kalsium oksalat urin pada lama waktu penggunaan vitamin C oral akan menghasilkan gambaran yang bertambah. Hasil uji beda berbagai dosis vitamin C oral terhadap jumlah kristal kalsium oksalat urin didapatkan hasil yang bermakna. Hasil uji beda lama penggunaan vitamin C oral didapatkan hasil yang bermakna. Hasil uji interaksi antara berbagai dosis dan lama penggunaan vitamin C oral terhadap jumlah kristal kalsium oksalat urin didapatkan hasil yang bermakna.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa vitamin C memiliki pengaruh terhadap peningkatan jumlah kristal kalsium oksalat.

Kata kunci : vitamin C, kristal kalsium oksalat.

UNISSULA
جامعة سلطان أبوبوع الإسلامية

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Manusia membutuhkan vitamin yang digunakan untuk menunjang metabolisme tubuh. Vitamin sendiri terbagi menjadi dua, yaitu vitamin yang larut lemak dan larut air. Vitamin C merupakan vitamin larut air dan banyak terkandung pada buah-buahan seperti pada jeruk, lemon, anggur, semangka, pepaya, strawberi, mangga, nanas dan ceri. Selain pada buah-buahan, vitamin C juga terkandung dalam sayuran berdaun hijau, tomat, brokoli, dan kubis. Beberapa makhluk hidup dapat mensintesis vitamin C dari karbohidrat, namun untuk manusia, marmut, kelelawar pemakan buah, dan kera tidak dapat mensintesisnya (Naidu, 2003). Kebutuhan vitamin C untuk manusia hanya berkisar dibawah 100 mg/hari (Levine *et al*, 2000). Sedangkan untuk terapi beberapa penyakit membutuhkan dosis yang lebih besar diatas 1.000-10.000 mg/hari (Naidu, 2003). Efek samping penggunaan vitamin C dosis tinggi masih menjadi perdebatan. Beberapa peneliti mengatakan bahwa penggunaan vitamin C dosis tinggi tidak memberikan efek samping berbahaya pada orang sehat. Ada yang berpendapat lain bahwa dosis tinggi penggunaan vitamin C akan meningkatkan risiko penyakit batu ginjal hingga gagal ginjal karena sebagian vitamin C dimetabolisme dan diekskresi sebagai kalsium oksalat (Dewoto dan Wardhini, 2007), sedangkan batu saluran

kemih, termasuk batu ginjal, paling banyak adalah berupa batu kalsium oksalat (Purnomo, 2000).

Pada tahun 1980-an, dr. Constance Tsao mempublikasikan dua hasil kelompok penelitiannya mengenai hubungan vitamin C dengan peningkatan kalsium oksalat. Penelitian pada salah satu kelompok dilakukan dengan penggunaan vitamin C dosis 3.000-10.000 mg/hari pada subjek umur 2-10 tahun dan menunjukkan hasil tidak diketemukan keadaan abnormal oksalat dalam darah. Pada penelitian kelompok lainnya menunjukkan penggunaan vitamin C 10.000 mg/hari terdapat peningkatan kalsium oksalat pada urin (Lawson, 1999). Pada tahun 1996, dr. Mark Levine dan kolega di *The National Institutes of Health* mengemukakan bahwa penggunaan vitamin C dari 200-1.000 mg/hari pada orang sehat menunjukkan peningkatan kalsium oksalat urin sebesar 30%, sehingga dosis aman yang bisa digunakan adalah dibawah 1.000 mg/hari (Lawson, 1999).

Penelitian lain yang dilakukan Baxmann *et al.* (2003) dan Massey *et al.* (2005) menunjukkan hasil yang berlawanan, yaitu terdapatnya peningkatan kalsium oksalat urin yang besar, sehingga meningkatkan risiko penyakit ginjal. Walaupun banyak penelitian yang mendukung atau menyanggah hubungan peningkatan kalsium oksalat dapat meningkatkan risiko penyakit ginjal, namun vitamin C yang tidak di gunakan oleh tubuh akan diekskresi melalui ginjal. Semakin besar jumlah kalsium oksalat yang terbentuk, kemungkinan terbentuknya batu kalsium oksalat juga akan meningkat. Ekskresi melalui urin dalam bentuk utuh dan bentuk garam sulfatnya terjadi

jika kadar dalam darah melewati ambang rangsang ginjal 1,4 mg% (Dewoto dan Wardhini, 2007).

Dari uraian diatas, maka penulis ingin mengetahui pengaruh dosis dan lama pemberian vitamin C oral terhadap pembentukan kalsium oksalat urin. Sehingga dapat diketahui apakah perbedaan dosis dan waktu akan memberikan efek yang besar dalam pembentukan kristal kalsium oksalat. Pengujian akan dilakukan pada hewan marmut (*cavia cobaya*) karena adanya kesamaan dengan manusia, yaitu tidak adanya enzim L-gulonolakton oksidase (Mayes, 2000). Enzim L-gulonolakton oksidase dimiliki oleh sebagian besar mamalia karena enzim tersebut dapat mengubah karbohidrat menjadi vitamin C. Dosis yang dipilih untuk diujikan adalah 100 mg, 1.000 mg, dan 10.000 mg. Pemilihan dosis tersebut didasarkan pada anjuran RDA 100 mg per hari, sedangkan dosis 1.000 mg dipilih karena banyaknya suplemen yang beredar dipasaran mempunyai kandungan vitamin C seberat itu. Pemilihan dosis 10.000 mg karena adanya pendapat dosis besar yang digunakan untuk terapi beberapa penyakit. Lama waktu penelitian adalah empat hari karena dari penelitian yang telah diujikan pada manusia yang hanya 24 jam (Massey *et al*, 2005), sehingga diharapkan dalam waktu 4 hari sudah didapatkan hasil yang menunjukkan adanya pengaruh terhadap jumlah kalsium oksalat terhadap lama pemberian. Pakan yang digunakan adalah wortel karena kandungan vitamin C-nya paling rendah dibandingkan buah atau sayuran yang lainnya (Whitney dan Rolfes, 2008).

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin.

1.3.2. Tujuan Khusus

3.2.1. Untuk mengetahui gambaran pengaruh perbedaan berbagai dosis vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin.

3.2.2. Untuk mengetahui gambaran pengaruh lama pemberian vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin.

3.2.3. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan antara berbagai dosis vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin.

3.2.4. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan antara lama pemberian vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin.

3.2.5. Untuk mengetahui pengaruh interaksi antara berbagai dosis dan lama pemberian vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin.

1.4. Manfaat

- 1.4.1. Bagi masyarakat diharapkan sebagai informasi dan bahan pertimbangan penggunaan vitamin C oral yang digunakan sebagai suplemen.
- 1.4.2. Bagi ilmu pengetahuan diharapkan penelitian ini dapat memberikan bukti ilmiah penggunaan dosis vitamin C oral yang aman, sehingga penggunaan dosis besar dapat dihindari bila penggunaan dosis besar dapat mengakibatkan peningkatan risiko penyakit ginjal.
- 1.4.3. Sebagai sumber acuan dan referensi penelitian sejenis tentang kalsium oksalat selanjutnya.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kalsium Oksalat

2.1.1. Definisi

Kalsium oksalat adalah suatu garam oksalat yang terbentuk dengan konsentrasi tinggi dalam urin, dapat menyebabkan pembentukan batu oksalat (Dorland, 2002).

2.1.2. Struktur Kimia

Nama lain kalsium oksalat adalah kalsium ethanedionat. Untuk rumus kimianya adalah CaC_2O_4 atau $\text{Ca}(\text{COO})_2$.



Gambar 2.1. Struktur kalsium oksalat (Marais, 1999)

2.1.3. Metabolisme

2.1.3.1. Sumber Oksalat dalam Tubuh

Asam oksalat dalam tubuh dapat diperoleh dari dua metabolisme utama, yaitu dari vitamin C (Naidu, 2003) dan asam amino melalui glioksilat (Marks *et al*, 2000). Selain itu, asam oksalat juga bisa dihasilkan melalui oksidasi *ethylene glycol* (Vasada *et al*, 2003)

Asam oksalat yang merupakan metabolisme akhir dari vitamin C. Awalnya vitamin C akan diubah menjadi *L-*

dehydroascordic acid (DHAA), lalu diubah menjadi 2,3 *diketogulonic acid* dan terakhir menjadi asam oksalat dan *threonic acid* (Naidu, 2003; Jacob, 1999; Thurnham *et al*, 2003).

Untuk asam oksalat dari metabolisme asam amino adalah mulai dari glukosa yang diubah menjadi fosfoglisarat, lalu diubah lagi menjadi serin dan terakhir diubah menjadi glisin. Selanjutnya glisin akan diubah menjadi gliksilat oleh D-asam amino oksidase. Setelah menjadi glisin inilah selanjutnya diubah menjadi asam oksalat dan α -hidroksi- β -ketoadipat (Marks *et al*, 2000).

Asam oksalat dari metabolisme *ethylene glycol* melalui proses diubah menjadi glikoaldehid. Selanjutnya glikoaldehid diubah menjadi glikolat, lalu diubah lagi menjadi gliksilat dan terakhir menjadi asam oksalat (Vasada *et al*, 2003).

2.1.3.2. Ekskresi Oksalat dalam Tubuh

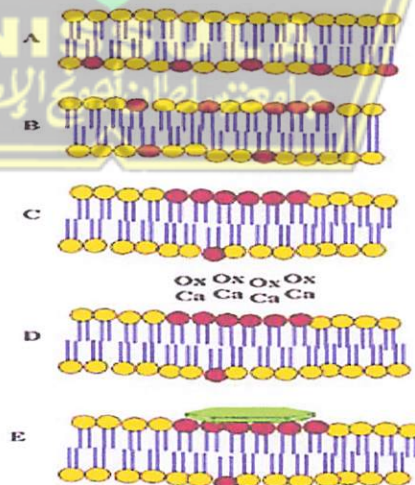
Asam oksalat karena tidak dapat dimetabolisme lagi oleh tubuh sehingga akan diekskresikan baik melalui urin maupun feses (Marengo dan Romani, 2008). Asam oksalat yang beredar dalam darah akan diekskresi di ginjal melalui urin yang akan berikatan dengan kalsium. Sedangkan

ekskresi oksalat melalui feses dibantu oleh *oxalobacter formigenes* (Marais, 1999).

2.1.3.3. Pembentukan Kristal Kalsium Oksalat dalam Tubuh

Pada proses terbentuknya kristal kalsium oksalat terjadi di tubular ginjal bila *pool* vitamin C dalam keadaan tidak defisit. Tempat terbentuknya kristal kalsium oksalat tepatnya terjadi di membran basal (*basement membranes*) lengkung henle ginjal dan tidak ditemukan di dalam atau luar dari medula maupun korteks ginjal (Coe *et al*, 2005).

Menurut De Yoreo *et al* (2006) sebagaimana mengutip Asplin *et al* bahwa proses penting yang terjadi dalam pembentukan kristal kalsium oksalat adalah *supersaturation of the urine* yang berkenaan ion kalsium dan ion oksalat.



Gambar 2.2. Skema Perubahan pada Fosfolipid Membran Sel dan Nukleasi Kristal Kalsium Oksalat (Khan dan Kok, 2004).

Pada membran sel basal, terjadi pergerakan dari *acidic phospholipids* dari dalam membran menuju lapisan luar, seperti yang terlihat pada gambar 2.2. bagian B. Selanjutnya *acidic phospholipids* akan melakukan pergerakan menyamping menjadi satu membentuk tempat spesifik (gambar 2.2. bagian C). Konsentrasi ion kalsium berinteraksi dengan fosfolipid membran pada satu sisi dan ion oksalat pada sisi lain (gambar 2.2. bagian D). Pada gambar 2.2. bagian E merupakan gambar nukleasi kristal kalsium oksalat (Khan dan Kok, 2004).

Adanya interaksi antara ion kalsium dan ion oksalat mempengaruhi solubilitas pada urin, akan menjadi tahap awal sebelum terbentuknya kristal kalsium oksalat. Hal tersebut disebut *supersaturation*, yaitu bertemunya ion kalsium dan ion oksalat seperti yang terlihat pada gambar 2.2. bagian D. Selanjutnya akan berlanjut ketahap nukleasi atau tahap awal pembentukan kristal kalsium oksalat (Khan dan Kok, 2004).

Pada proses nukleasi, permukaan kristal terdiri dari permukaan rata yang disebut *terrace* dan penonjolan lapisan yang disebut *step*. Proses pertumbuhan kristal setelah *supersaturation* ini terjadi karena *flux* yang mengikat molekul pada permukaan kristal melebihi dari

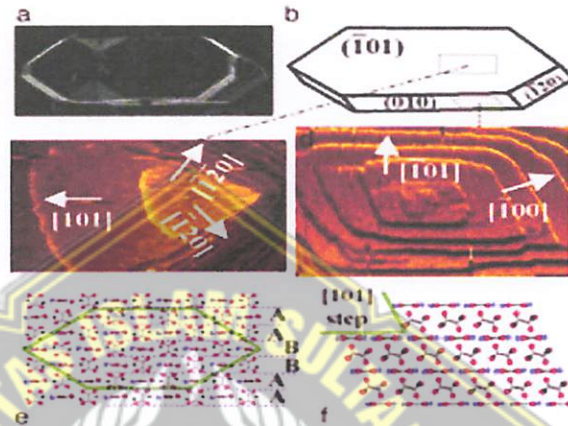
flux yang dilepaskan molekul dari permukaan kristal itu sendiri. Kemungkinan suatu molekul akan dilepaskan dari kristal sepenuhnya dikendalikan oleh kekuatan dari ikatan terhadap sekelilingnya. Karena kekuatan yang mengikat ini adalah merupakan fungsi dari temperatur, bukan terikat dengan konsentrasi. Sebaliknya, *flux* permukaan sebanding dengan konsentrasi. Jadi perubahan yang terjadi pada proses pembentukan kristal merupakan efek dari temperatur. Karena tidak semua *flux* permukaan ikut serta, molekul akan lebih terikat dengan sekelilingnya bila berikatan dengan tepi *step* dibandingkan pada permukaan rata (*terrace*) (De Yoreo *et al*, 2006).



Gambar 2.3. Proses Pembentukan Permukaan Kristal Kalsium Oksalat (De Yoreo *et al*, 2006)

Pertumbuhan kristal berdasarkan gambaran menggunakan alat untuk melihat permukaan pembentukan kristal, yaitu *Atomic Force Microscopy* (AFM) dapat

diketahui ada tiga permukaan, yaitu $\{-101\}$, $\{010\}$, dan $\{120\}$. Pertumbuhan yang paling cepat terjadi pada $\{120\}$, sedangkan pertumbuhan yang paling lambat terjadi pada $\{-101\}$ (Qiu *et al*, 2003).



Gambar 2.4. Skema Hasil Pembentukan Permukaan Kristal Kalsium Oksalat pada Proses Nukleasi (Qiu *et al*, 2003)

2.1.3.4. Ekskresi Kalsium Oksalat dalam Tubuh

Setelah terbentuknya kristal kalsium oksalat, proses ekskresi dapat berupa kristal-kristal ataupun berupa batu. Proses pembentukan batu ini melalui beberapa tahap, yaitu setelah *supersaturation* selanjutnya adalah nukleasi (*nucleation*), pertumbuhan (*growth*) dan agregasi (*agregation*) (Carvalho dan Viera, 2004).

Bentuk kristal kalsium oksalat dapat berupa *Calcium Oxalate Monohydrate* (COM), *Calcium Oxalate Dihydrate* (COD), dan *Calcium Oxalate Trihydrate* (COT) (Tiselius, 2003). Menurut Qui (2003) sebagaimana dikutip dari

Fanceshi bahwa COM paling stabil termodinamiknya dan paling dominan dalam terbentuknya dari tumbuh-tumbuhan. Perbandingan normal pada urin manusia antara kalsium dan oksalat antara 6:1 sampai 10:1. Pada *the non-stone former*, hasil dari *sarturation* ion kalsium dan oksalat akan di ekskresikan. Kira-kira terdapat sekitar 7.200 kristal per mililiter urin pada *the non-stone former*, dimana tiap hari akan diekskresikan sekitar 1×10^7 kristal (Nguyen, 2001).

Ekskresi kalsium oksalat dalam bentuk batu terjadi tidak pada semua orang karena ada beberapa faktor yang mempengaruhi. Faktor-faktor tersebut antara lain *supersaturation*, nukleasi, pertumbuhan, agregasi, dan inhibitor atau promotor proses kristalisasi (Carvalho dan Viera, 2004). Selain itu, faktor di ginjal juga berperan adalah tingkat aliran urin dan ikatan terhadap sel (De Yoreo *et al*, 2006). Beberapa inhibitor yang berperan adalah *Tamm Horsfall glycoprotein* (Mo, 2007), *Urynary Prothrombin Fragment 1* (UPTF1), *the inter- α -trypsin inhibitor molecule*, *calgranulin*, albumin, fragmen RNA dan DNA, *glycosaminoglycans* (Coe *et al*, 2005), *osteopontin* dan sitrat (De Yoreo *et al*, 2006).

2.1.4. Harga Normal

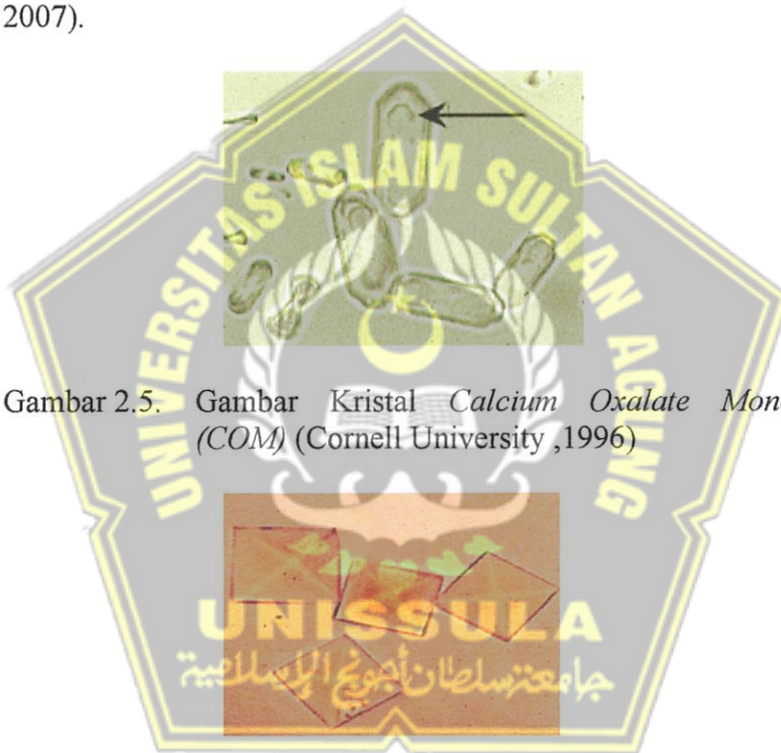
Ekskresi pada urin manusia mempunyai batas atas normal adalah 40 mg (440 μ mol) dalam 24 jam. Laki-laki mempunyai harga normal lebih tinggi dibandingkan wanita, yaitu 43 mg/hari pada laki-laki dan 32 mg/hari pada wanita. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh hormon estrogen yang akan meningkatkan pengeluaran sitrat (Shekarriz, 2008). Sedangkan sitrat sendiri merupakan penghambat terbentuknya kristal kalsium oksalat (De Yoreo *et al*, 2006).

Bila jumlah oksalat yang dikeluarkan melebihi 40 mg per hari, maka sudah dapat dikatakan termasuk hiperoksaluria. Walaupun banyak mekanisme yang menyebabkan terjadinya hiperoksaluria, namun lebih dari 50% penyebab dari hiperoksaluria adalah karena pengaruh dari makanan yang dikonsumsi (Shekarriz, 2008). Padahal keadaan hiperoksaluria memperbesar kemungkinan terjadinya batu saluran kemih, termasuk batu ginjal (Purnomo, 2000).

2.1.5. Cara Menetapkan Kristal Kalsium Oksalat

Pada pemeriksaan sedimen urin, unsur-unsur yang kurang bermakna, seperti sel epitel dan kristal, tidak dilaporkan secara semikualitatif. Pemberitahuannya dengan tanda-tanda atau perkataan, seperti + (ada), ++ (banyak), dan +++ (banyak sekali). Untuk kalsium oksalat masuk dalam kristal, sehingga tidak ada harga pastinya (Gandasoebrata, 2007).

Cara membedakan kristal kalsium oksalat dengan kristal yang lain adalah dengan metode pewarnaan Sternheimer Malbin (Gandasoebrata, 2007). Pada pemeriksaan akan didapatkan ciri-ciri untuk yang kristal COM yaitu oval (heliks) dan bentuk lebih panjang. Sedangkan untuk kristal COD mempunyai ciri-ciri yaitu kecil, terang, oktahedral berbentuk seperti amplop (McPherson *et al*, 2007).



Gambar 2.5. Gambar Kristal *Calcium Oxalate Monohydrate (COM)* (Cornell University, 1996)

Gambar 2.6. Gambar Kristal *Calcium Oxalate Dihydrate (COD)* (Washington State University, 2004)

2.2. Vitamin C

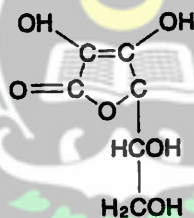
2.2.1. Definisi

Vitamin C atau asam askorbat adalah vitamin larut air yang bekerja sebagai suatu koenzim dan pada keadaan tertentu merupakan reduktor dan antioksidan (Dewoto dan Wardhini, 2007).

2.2.2. Struktur Kimia

Struktur vitamin C atau asam L-gulonolakton atau asam askorbat sangat mirip dengan glukosa. Sebagian besar mamalia dapat mengubah glukosa menjadi asam askorbat. Namun pada manusia, primata, marmut, sebagian kelelawar, burung, ikan, serta invertebrata tidak dapat mensintesis glukosa menjadi asam askorbat karena tidak mempunyai enzim L-gulonolakton oksidase (Mayes, 2000).

Vitamin C mula-mula dikenal sebagai asam heksuronat dengan rumus $C_6H_8O_6$. Karena berkhasiat antiskrotbut, maka dinamakan asam askorbat atau vitamin C (Dewoto dan Wardhini, 2007).



Gambar 2.7. Struktur Kimia Vitamin C (Thurnham *et al*, 2003)

2.2.3. Fungsi

Beberapa fungsi vitamin C adalah sebagai berikut :

2.2.3.1. Pada sintesis kolagen, vitamin C diperlukan bagi hidrosilasi prolin.

2.2.3.2. Pada penguraian tirosin, oksidasi p-hidroksifenilpiruvat menjadi homogentisat, tahap selanjutnya dikatalis oleh homogentisat dioksigenase yang merupakan enzim dengan kandungan besi fero yang juga membutuhkan vitamin C.

2.2.3.3. Pada sintesis epinefrin dari tirosin, asam askorbat dibutuhkan dalam tahap dopamine β -hidroksilase.

2.2.3.4. Pada pembentukan asam empedu, vitamin C dibutuhkan dalam tahap awal reaksi 7 α -hidroksilase.

2.2.3.5. Penyerapan besi meningkat bermakna oleh vitamin C.

2.2.3.6. Vitamin C dapat bertindak sebagai antioksidan umum larut air, misalnya dalam mereduksi tokorefol-teroksidase di dalam membran dan dapat menghambat pembentukan nitrosamin selama berlangsungnya proses pencernaan (Mayes, 2000).

2.2.4. Metabolisme

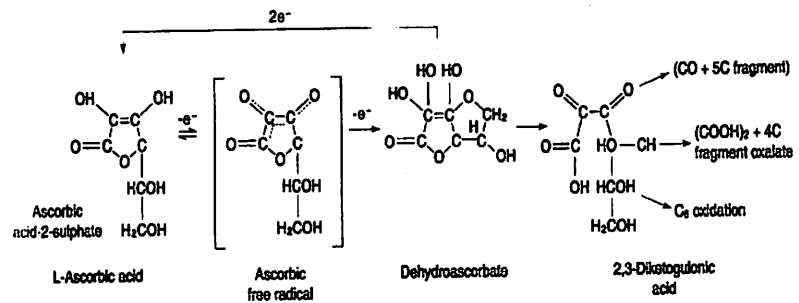
2.2.4.1. Absorpsi

Pada manusia penyerapan vitamin C terjadi pada *buccal mucosa*, lambung, dan usus halus. Penyerapan pada *buccal mucosa* melalui difusi pasif. Sedangkan penyerapan pada lambung tergantung dari sodium dependen aktif dan efesiennya, yaitu energi yang dibutuhkan, dan *carrier-mediated transport mechanism*. Penggunaan vitamin C dengan dosis sampai 180 mg dapat terserap 70%, baik pada perokok maupun tidak. Sedangkan penyerapan akan mengalami penurunan antara 50% hingga sampai tinggal 16% pada penggunaan 1.200-1.500 mg (Thurnham *et al*, 2003). Dan pada penggunaan dibawah 20 mg akan terjadi

penyerapan hampir 98% (Groff *et al*, 1995). Hampir 80-90% total penyerapan vitamin C terjadi di traktus gastrointestinal (Thurnham *et al*, 2003).

2.2.4.2. Transportasi

Dalam tubuh vitamin C didistribusikan melalui transportasi aktif. Pada usus dan sel terjadi perubahan asam askorbat dioksidasi menjadi *L-dehydroascorbate acid* (DHAA) karena lebih mudah diangkut melalui membran sel (gambar 2.8.). Walaupun selanjutnya DHAA diubah kembali menjadi asam askorbat setelah sampai di jaringan atau epitel usus. Difusi sederhana dapat terjadi di mulut (*buccal mucosa*) dan lambung, namun hal tersebut hanya sebagian kecil. Sistem transportasi sodium dependen (*sodium dependent transport system*) memfasilitasi penyerapan vitamin C pada seluruh membran basolateral sel usus. Vitamin C dalam plasma yang telah diserap, baik bentuk asam askorbat atau DHAA, bisa tertransportasi bebas atau terikat dengan albumin. Selanjutnya dapat berpindah ke dalam sel-sel tubuh dan jaringan (Groff *et al*, 1995).



Gambar 2.8. Oksidasi Vitamin C (L-Ascorbic Acid) Menjadi 2,3 diketogulonic acid (Thurnham *et al*, 2003)

2.2.4.3. Penyimpanan

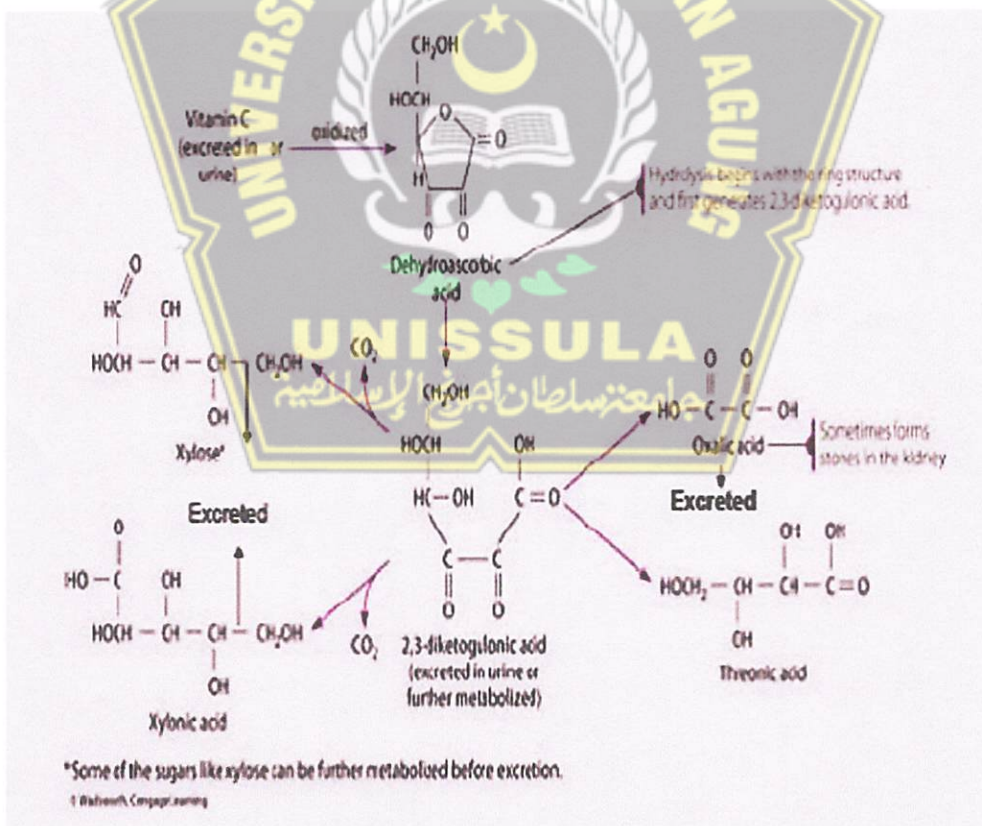
Vitamin C disimpan di sel-sel tubuh dan darah setelah melalui proses penyerapan dan transportasi. Vitamin C akan tersebar di plasma, leukosit, sel darah merah, dan masuk semua ke semua jaringan dengan konsentrasi maksimal di plasma 68-86 μ mol/l dengan pemakaian oral 90-150 mg/hari (Thurnham *et al*, 2003).

Vitamin C mengisi komponen darah, cairan, jaringan dan bervariasi secara luas pada dasar individu. Pada jaringan ditemukan konsentrasi yang lebih dibandingkan pada plasma sekitar 3-10 kali. *Energy-driven transport pumps* yang bertanggung jawab atas perbedaan konsentrasi vitamin C di jaringan dan plasma. Pada jaringan dan plasma tersebut berkorelasi dengan *intake* vitamin C sampai 90 mg/hari (Groff *et al*, 1995).

Kelenjar hipofisis, glandula adrenal, dan lensa mata mengandung vitamin C tertinggi (\pm 140 μ mol/kg BB)

dalam tubuh. Berbanding terbalik dengan air liur dan plasma memiliki kandungan asam askorbat terendah (Jacob, 1999).

Selanjutnya metabolisme yang terjadi pada usus dan sel, vitamin C (asam askorbat) dioksidasi menjadi *L-dehydroascorbic acid* (DHAA). Sebagian DHAA akan dioksidasi lagi menjadi asam askorbat dan sebagian yang lain dioksidasi lagi menjadi *2,3 diketogulonic acid* dan akhirnya menjadi asam oksalat (Naidu, 2003; Jacob, 1999; Thurnham *et al*, 2003).



Gambar 2.9. Skema Metabolisme dan Ekskresi Vitamin C (Jacob, 1999)

2.2.4.4. Ekskresi

Waktu paruh vitamin C hanya sekitar 30 menit dalam plasma darah (Sardi, 2004). Pada Tabel 2.9. dapat dilihat skema metabolisme vitamin C, termasuk DHAA dan asam oksalat, diekskresikan melalui sistem urinaria. Ginjal memainkan peran utama dalam ekskresi dan retensi dari vitamin C. DHAA dan asam askorbat dapat direabsorpsi kembali di tubular ginjal selama *pool* vitamin C dibawah 1.500 mg. Ketika *pool* vitamin C tubuh dibawah 1.500 mg, maka tidak akan ada vitamin C yang diekskresikan melalui urin. Sedangkan bila terjadi kenaikan, maka akan terjadi penurunan reabsorpsi. Dan dalam jaringan *pool* vitamin C berkisar antara 1.500-3.000 mg. Batas ambang ginjal untuk askorbat dalam plasma adalah antara 0,8-1,4 mg/dl. Bila melebihi batas tersebut, maka vitamin C akan dieksresikan oleh ginjal (Jacob, 1999). Pada ginjal, asam oksalat yang ada akan berikatan dengan kalsium sebelum diekskresikan (Marais, 1999).

2.2.5. Angka Kebutuhan Sehari

Berdasarkan *Recommended Dietary Allowance* (RDA) untuk vitamin C dosis pada dewasa laki-laki adalah 90 mg/hari, sedangkan untuk dewasa wanita 75 mg/hari. Dosis lebih tinggi pada perokok, yaitu untuk dewasa laki-laki 125 mg/hari dan dewasa wanita 110

mg/hari. Dosis untuk wanita hamil adalah 80 mg/hari (untuk usia \leq 18 tahun) dan 85 mg/hari (untuk usia \geq 19 tahun). Dosis paling tinggi pada wanita yaitu pada wanita yang menyusui 115 mg/hari (untuk usia \leq 18 tahun) dan 120 mg/hari (untuk usia \geq 19 tahun) (Higdon, 2006).

2.2.6. Sumber

Vitamin C dapat diperoleh dari buah-buah segar dan sayur-sayuran. Pada buah terdapat banyak seperti pada jeruk, lemon, anggur, semangka, pepaya, stawberi, mangga, nanas dan ceri. Sedangkan selain dari buah juga berasal dari sayuran berdaun hijau, tomat, brokoli, dan kubis (Naidu, 2003).

2.2.7. Efek Samping

Beberapa efek samping yang bisa ditimbulkan dari penggunaan vitamin C antara lain : *nausea*, diare, sakit kepala, *fatigue*, insomia, dan gangguan saluran kencing (Whitney dan Rolfes, 2008).

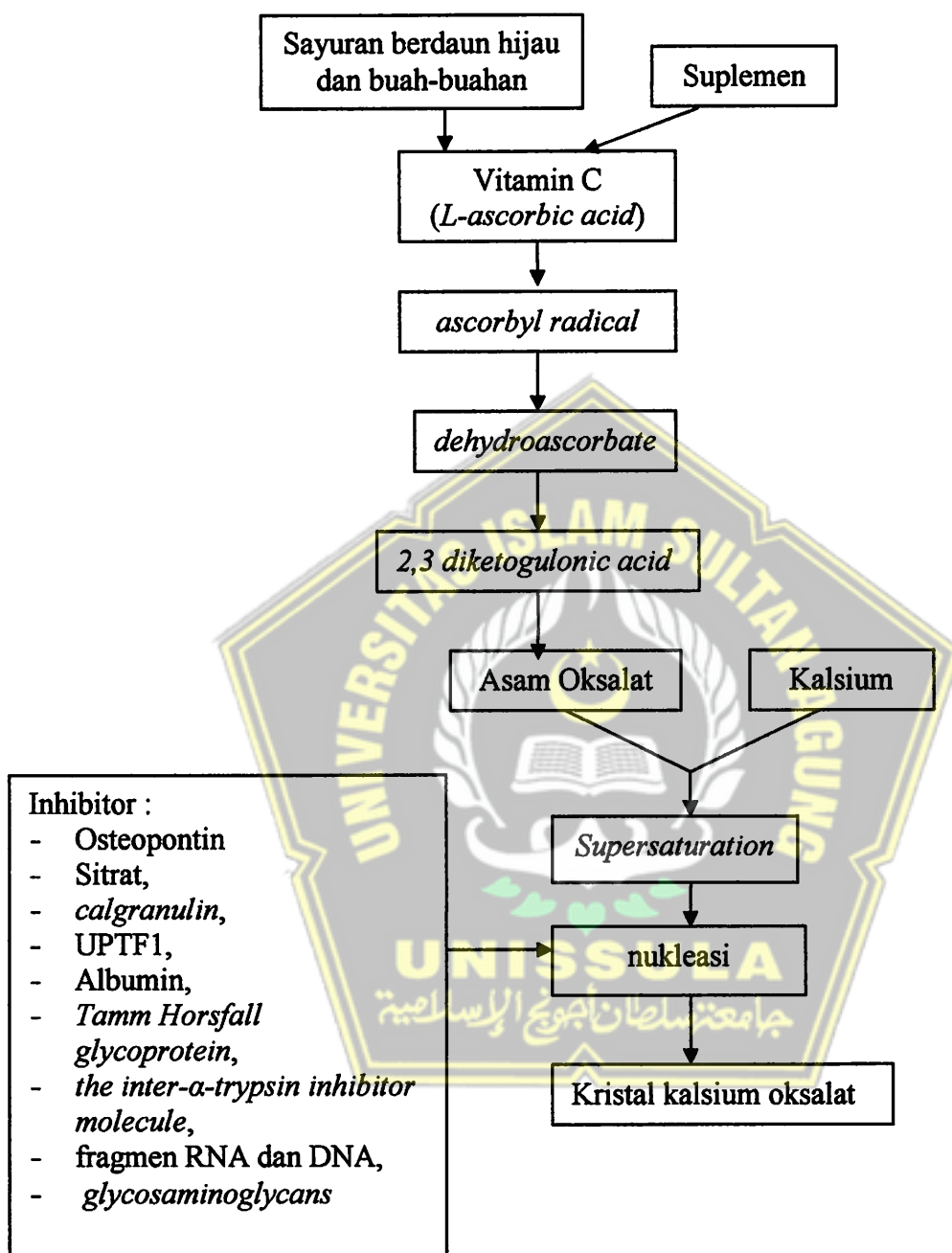
2.3. Hubungan antara Vitamin C dengan Pembentukan Kalsium Oksalat

Vitamin C setelah masuk tubuh, selanjutnya akan diserap baik melalui mulut maupun lambung dan usus (Thurnham *et al*, 2003). Bentuk vitamin C yang diserap adalah dalam bentuk asam askorbat (*ascorbyl radical*) maupun yang telah diubah menjadi *L-dehydroascorbic acid* (DHAA). Vitamin C tersebut akan di transportasikan keseluruh tubuh dan disimpan di jaringan (Groff *et al*, 1995). Hasil akhir dari metabolisme vitamin C adalah asam

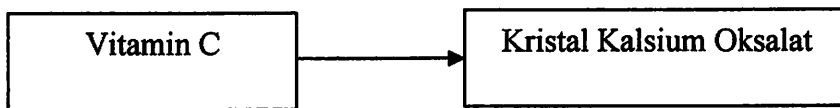
oksalat yang tidak dapat disimpan dalam tubuh (Thurnham *et al*, 2003). Selanjutnya pada proses ekskresi, ginjal sangat berperan dalam proses terjadi absorpsi atau tidak. Hal tersebut disesuaikan dengan *pool* vitamin C dalam tubuh. Jadi ketika jumlah vitamin C di *pool* mengalami kekurangan, maka ginjal akan melakukan reabsorpsi vitamin C dalam bentuk asam askorbat dan DHAA (Jacob, 1999). Sedangkan bentuk oksalat akan diekskresikan karena tidak dapat disimpan dalam tubuh. Oksalat yang diekskresikan akan berikatan dengan kalsium (Marais, 1999).

Di ginjal, tepatnya di lengkung henle pada membran basalis (Coe *et al*, 2005), terjadi *supersaturation* dan berlanjut proses nukleasi (Khan dan Kok, 2004). Pada sejumlah orang tidak terjadi pembentukan batu karena banyak sekali faktor yang mempengaruhi proses tersebut dan sebelum terbentuk menjadi batu sudah diekskresikan. Sehingga bentuk yang keluar melalui urin adalah berupa kristal kalsium oksalat (De Yoreo *et al*, 2006). Semakin banyak konsumsi vitamin C dan tidak adanya defisiensi, akan meningkatkan jumlah kristal kalsium oksalat dalam urin (Whitney dan Rolfes, 2008).

2.4.Kerangka Teori

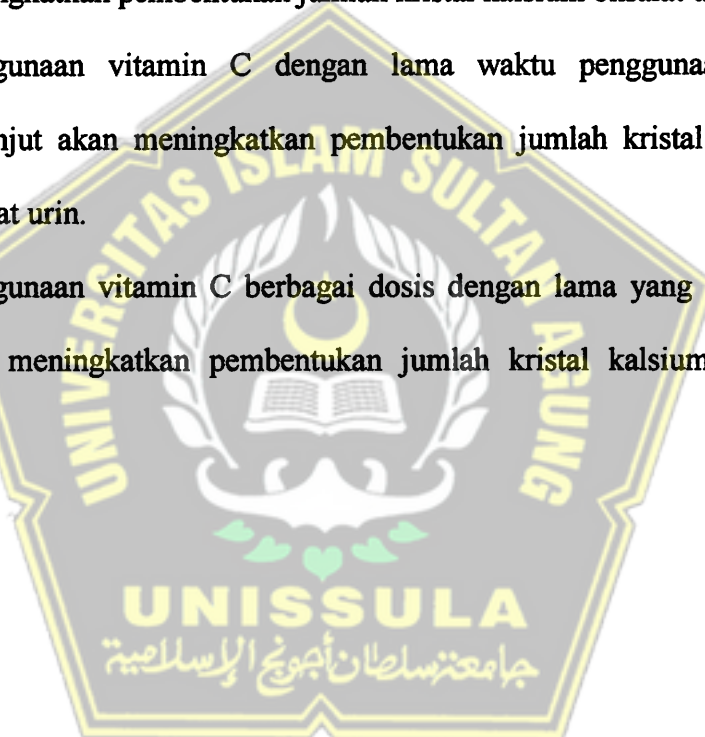


2.5.Kerangka Konsep



2.6.Hipotesis

- 2.6.1. Penggunaan vitamin C dengan dosis yang lebih besar akan meningkatkan pembentukan jumlah kristal kalsium oksalat urin.
- 2.6.2. Penggunaan vitamin C dengan lama waktu penggunaan yang berlanjut akan meningkatkan pembentukan jumlah kristal kalsium oksalat urin.
- 2.6.3. Penggunaan vitamin C berbagai dosis dengan lama yang berlanjut akan meningkatkan pembentukan jumlah kristal kalsium oksalat urin.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan penelitian *post test control group design*.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel Bebas = Vitamin C

3.2.1.2. Variabel Tergantung = Kristal Kalsium Oksalat

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Vitamin C

Vitamin C adalah vitamin C yang berupa suplemen yang diberikan berdasarkan dosis yang berbeda dan lama pemberian yang berlanjut beberapa hari.

Parameter : 1. Dosis (mg) = Skala nominal

2. Lama (hari) = Skala ordinal

3.2.2.2. Kristal Kalsium Oksalat

Kalsium oksalat adalah kristal pada urin dengan pewarnaan Sternheimer Malbin, bisa berbentuk amplop maupun heliks.

Parameter : jumlah kalsium oksalat pada dua puluh
lapang pandang kecil (LPK)

Skala : rasio

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah marmut (*cavia cobaya*) yang diperoleh dari Unit Layanan Penelitian Pra-Klinik dan Pembangunan Hewan Percobaan (LP3HP) Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada.

3.3.2. Sampel Penelitian

Hewan coba yang digunakan adalah marmut (*cavia cobaya*) yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Untuk kriteria inklusi adalah hewan marmut yang digunakan jantan, umur 2-3 bulan, penampilan sehat, tidak cacat, dan berat berkisar 200-400 gram. Sedangkan untuk kriteria eksklusinya adalah mati atau sakit.

Jumlah marmut yang digunakan sebanyak 24 ekor yang dibagi menjadi empat kelompok, dengan setiap kelompok berjumlah enam ekor. Hal ini sesuai dengan rumus Federer, yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$.

Rumus Federer tersebut dapat diuraikan sebagai berikut :

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

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

$$3n-3 \geq 15.$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok uji

n = jumlah sampel tiap kelompok

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen Penelitian

3.4.1.1. Kandang marmut lengkap dengan tempat pakan dan minumnya.

3.4.1.2. Timbangan

3.4.1.3. Sonde oral

3.4.1.4. Tabung reaksi

3.4.1.5. *Centrifuge*

3.4.1.6. Obyek glass

3.4.1.7. Deck glass

3.4.1.8. Mikroskop

3.4.1.9. Pipet

3.4.1.10. Botol tampung urin

3.4.2. Bahan Penelitian

3.4.2.1. Hewan Percobaan = Marmut jantan

Berat Badan = 200-400 gram

Umur = ± 2-3 bulan

Jenis Kelamin = jantan

Kondisi = Sehat

3.4.2.2. Pakan

Pakan yang digunakan adalah wortel sebanyak 20 gram tiap ekor. Pakan dipilih wortel karena jumlah kandungan vitamin C yang relatif paling rendah dibandingkan sayuran dan buah lainnya (Whitney dan Rolfes, 2008).

3.4.2.3. Suplemen Vitamin C

Suplemen yang dipakai adalah yang hanya mempunyai kandungan vitamin C berbentuk serbuk.

Pembuatan dosis suplemen vitamin C pada hewan uji disesuaikan dengan manusia yaitu dengan dosis 100 mg, 1.000 mg, dan 10.000 mg. Vitamin C yang diberikan pada marmut dengan perhitungan sebagai berikut :

Dosis 100 mg \times 0,031 = 3,1 mg \rightarrow kelompok 3,1 mg

Dosis 1.000 mg \times 0,031 = 31 mg \rightarrow kelompok 31 mg

Dosis 10.000 mg \times 0,031 = 310 mg \rightarrow kelompok 310 mg

Pada kelompok kontrol tidak diberikan suplemen vitamin C (kelompok 0 mg). Pemberian vitamin C dilarutkan dalam air dan dilakukan dengan memakai sonde secara oral.

3.4.2.4. Cat Sternheimer Malbin

Cat Sternheimer Malbin yang terdiri dari dua larutan, yaitu larutan A dan larutan B. Untuk larutan A adalah sebagai berikut :

3.4.2.4.1.1. Methyl Rosalinalorida (kristal violet)	3 g
3.4.2.4.1.2. Ethyl alkohol	20 g
3.4.2.4.1.3. Amonium Oksalat	0,8 g
3.4.2.4.1.4. Aquadest ad	100 ml

Sedangkan untuk larutan B adalah sebagai berikut :

3.4.2.4.2.1. Safarin	0,25 g
3.4.2.4.2.2. Ethyl alkohol 95%	10 ml
3.4.2.4.2.3. Aquadest ad	100 ml

Cara pembuatannya adalah dengan mencampur 3 bagian larutan A dengan 97 bagian larutan B dan kemudian disaring.

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Persiapan Penelitian

- 3.5.1.1. Menyiapkan timbangan hewan (timbangan analitik).
- 3.5.1.2. Menyiapkan kandang marmut, tempat pakan dan minumnya.
- 3.5.1.3. Menyiapkan hewan coba berupa marmut jantan 24 ekor.

3.5.1.4. Menyiapkan suplemen vitamin C dan pakan marmut berupa wortel.

3.5.1.5. Menyiapkan alat untuk mengambil sampel urin.

3.5.1.6. Menyiapkan alat untuk menghitung jumlah batu kalsium oksalat.

3.5.2. Pelaksanaan Penelitian

3.5.2.1. Menimbang berat badan marmut dan menandainya.

3.5.2.2. Membagi marmut menjadi empat kelompok, masing-masing terdiri dari enam ekor marmut yang diambil secara acak.

3.5.2.3. Memberikan perlakuan sebagai berikut :

Kelompok 0 mg = hari pertama sampai hari ke-4
diberikan pakan wortel 20 g.

Kelompok 3,1 mg = hari pertama sampai hari ke-4
diberikan pakan wortel 20 g dan
pemberian vitamin C dosis 3,1 mg
hanya sampai hari ke-3.

Kelompok 31 mg = hari pertama sampai hari ke-4
diberikan pakan wortel 20 g dan
pemberian vitamin C dosis 31 mg
hanya sampai hari ke-3.

Kelompok 310 mg = hari pertama sampai hari ke-4
diberikan pakan wortel 20 g dan

pemberian vitamin C dosis 310 mg
hanya sampai hari ke-3.

3.5.3. Pengambilan Sampel Urin dan Pemeriksaan Kalsium Oksalat

Pengambilan urin marmut dilakukan dengan penampungan urin selama 18 jam setelah pemberian vitamin C secara oral. Pemeriksaan dilakukan pada hari ke-2, ke-3 dan ke-4. Sedangkan untuk pemeriksaan kristal kalsium oksalat dilakukan menggunakan pengecatan Sternheimer Malbin.

Cara pemeriksaan adalah sebagai berikut :

- 3.5.3.1. Campurkan semua bahan cat Sternheimer Malbin.
- 3.5.3.2. Urin yang sudah ditampung diambil 10 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian di centrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 1.500 ppm.
- 3.5.3.3. Buang urin dan sisakan peletnya, kemudian berikan dua tetes cat Sternheimer Malbin.
- 3.5.3.4. Teteskan hasil campuran pelet dan cat pada obyek glas sebanyak satu tetes.
- 3.5.3.5. Amati pada mikroskop.

3.6. Tempat dan Waktu

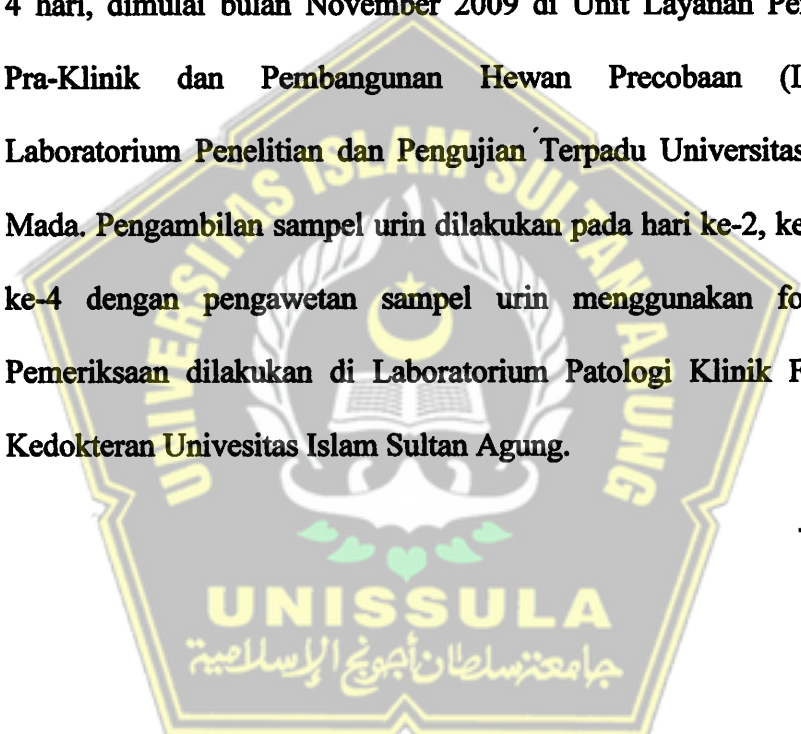
3.6.1. Tempat Penelitian

Pemeliharaan hewan coba dan penelitian dilakukan di Unit Layanan Penelitian Pra-Klinik dan Pembangunan Hewan Percobaan

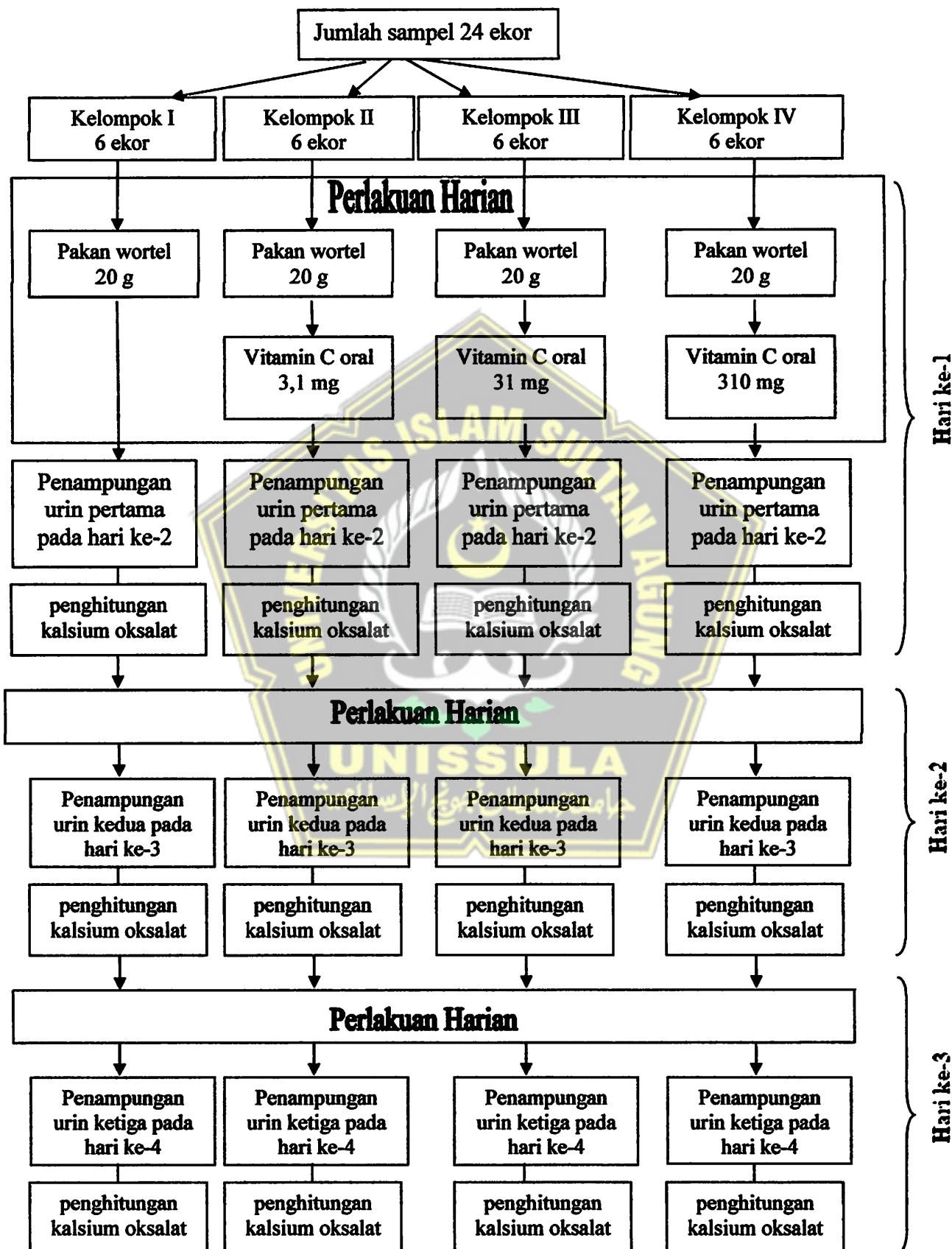
(LP3HP) Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada. Pemeriksaan urin untuk menghitung jumlah kalsium oksalat dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

3.6.2. Waktu Penelitian

Pemeliharaan hewan percobaan dan penelitian dilakukan selama 4 hari, dimulai bulan November 2009 di Unit Layanan Penelitian Pra-Klinik dan Pembangunan Hewan Percobaan (LP3HP) Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada. Pengambilan sampel urin dilakukan pada hari ke-2, ke-3, dan ke-4 dengan pengawetan sampel urin menggunakan formalin. Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.



3.7. Alur Penelitian



3.8. Analisis Hasil

Analisis data dilakukan uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk dan uji homogenitas menggunakan uji varian levene, didapatkan hasil tidak normal dan tidak homogen.

3.8.1. Untuk mengetahui gambaran pengaruh perbedaan dosis vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin dilakukan analisis statistik menggunakan uji analisa deskriptif.

3.8.2. Untuk mengetahui gambaran pengaruh lama pemberian vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin dilakukan analisis statistik menggunakan uji analisa deskriptif.

3.8.3. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan antara dosis vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin digunakan uji Kruskal-Wallis.

3.8.4. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan antara lama pemberian vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin digunakan uji Kruskal-Wallis.

3.8.5. Untuk mengetahui pengaruh interaksi perbedaan berbagai dosis dan lama pemberian vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin digunakan uji Manova.

Intrepetasi hasil pada uji Kurskal-Wallis yaitu apabila $p > 0,05$ berarti H_0 diterima, sedangkan apabila $p < 0,05$ berarti H_0 ditolak (Dahlan, 2006). Pada uji Manova, inteprtasinya yaitu apabila $p > 0,05$ berarti H_0 diterima, sedangkan apabila $p < 0,05$ berarti H_0 ditolak (Santoso, 2002).

BAB IV

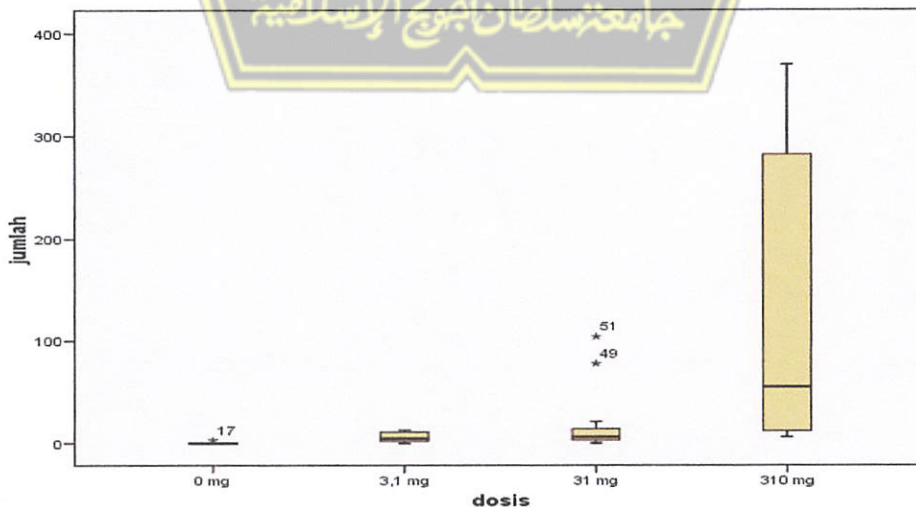
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Sampel penelitian terdiri dari 24 ekor marmut yang dikelompokkan menjadi empat kelompok, yaitu kelompok 0 mg, kelompok 3,1 mg, kelompok 31 mg, dan kelompok 310 mg. Masing-masing kelompok terdiri dari enam ekor. Setelah pemberian vitamin C, dilakukan tampung urin selama 18 jam dan dilanjutkan pemeriksaan kristal kalsium oksalat urin.

Pemeriksaan jumlah kristal kalsium oksalat yang didapat, selanjutnya dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Hasil dari kedua uji tersebut didapatkan $p < 0,05$ yang berarti sebaran data tidak normal dan tidak homogen, maka analisis data menggunakan analisis non-parametrik.

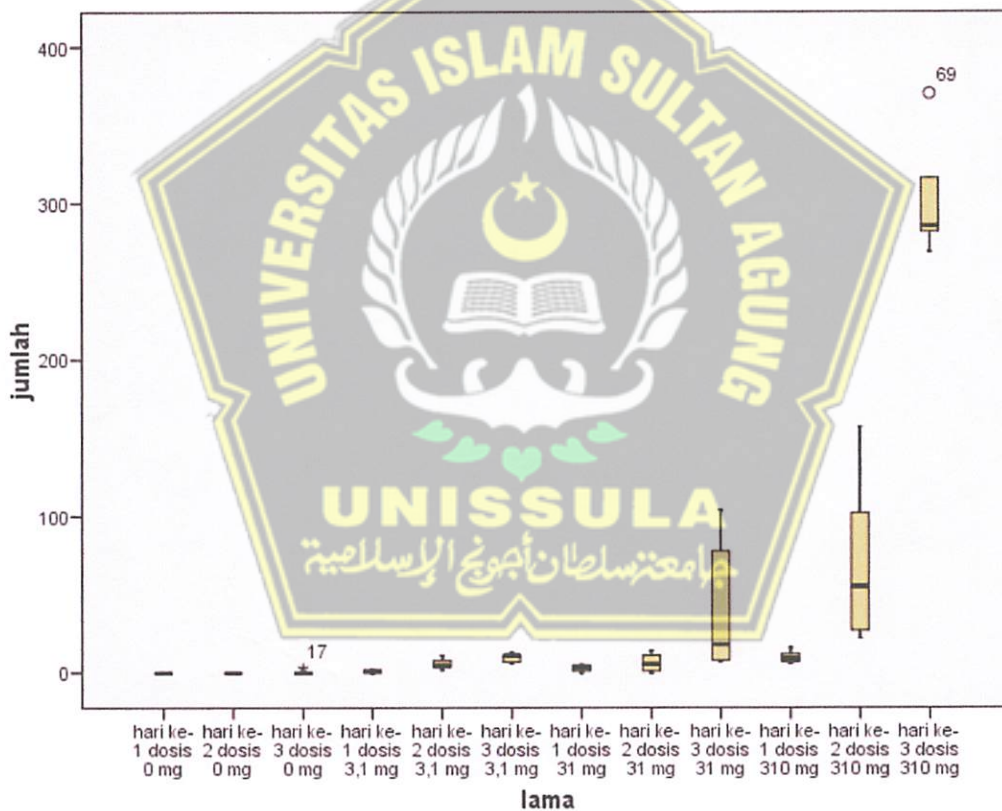
4.1.1. Gambaran Pengaruh Perbedaan Dosis Vitamin C Oral terhadap Pembentukan Kristal Kalsium Oksalat Urin



Gambar 4.1. Mean Jumlah Kristal Kalsium Oksalat Urin Tiap Dosis

Ekskresi kristal kalsium oksalat mengalami peningkatan pada berbagai dosis yang diujikan. Sehingga dapat disimpulkan dengan adanya penambahan dosis vitamin C akan mempengaruhi peningkatan ekskresi jumlah kristal kalsium oksalat urin (Gambar 4.1.).

4.1.2. Gambaran Pengaruh Lama Pemberian Vitamin C Oral terhadap Pembentukan Kristal Kalsium Oksalat Urin



Gambar 4.2. Mean Jumlah Kristal Kalsium Oksalat Urin Tiap Hari

Peningkatan ekskresi kristal kalsium oksalat urin dapat terlihat mulai dari hari ke-1 sampai hari ke-3 untuk tiap dosisnya. Sehingga dapat disimpulkan dengan bertambahnya lama penggunaan vitamin

C akan mempengaruhi peningkatan ekskresi jumlah kristal kalsium oksalat urin (Gambar 4.2.).

4.1.3. Perbedaan Berbagai Dosis Vitamin C Oral terhadap Pembentukan Kristal Kalsium Oksalat Urin

Pengaruh perbedaan berbagai dosis vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin berdasarkan uji Kruskal-Walis didapatkan hasil $p < 0,05$, yaitu hanya sebesar $p = 0,000$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara berbagai dosis vitamin C terhadap jumlah pembentukan kristal kalsium oksalat urin.

4.1.4. Pengaruh Perbedaan Lama Pemberian Vitamin C Oral terhadap Pembentukan Kristal Kalsium Oksalat Urin

Pengaruh perbedaan lama pemberian vitamin C oral terhadap pembentukan kristal kalsium oksalat urin dilihat dengan menggunakan uji Kruskal-Walis menunjukkan hasil $p < 0,05$, yaitu hanya sebesar $p = 0,000$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara lama pemberian vitamin C terhadap jumlah pembentukan kristal kalsium oksalat urin.

4.1.5. Pengaruh Interaksi Berbagai Dosis dan Lama Pemberian Vitamin C Oral terhadap Pembentukan Kristal Kalsium Oksalat Urin

Pengujian untuk mengetahui interaksi perbedaan berbagai dosis dan lama pemberian vitamin C oral menggunakan uji Manova mempunyai angka signifikansi sebesar $0,000$ ($p < 0,05$). Hal ini berarti

terdapat perbedaan yang bermakna antara berbagai dosis dalam penggunaan vitamin C oral terhadap jumlah kristal kalsium oksalat urin.

4.2. Pembahasan

Hasil yang diperoleh dari penelitian pengaruh perbedaan dosis vitamin C oral menunjukkan bahwa terdapat peningkatan ekskresi kristal kalsium oksalat urin sesuai dengan seberapa besar dosis *intake* vitamin C. Kelompok dosis 0 mg mempunyai peningkatannya paling kecil, hanya sebesar 0,17. Hal tersebut dapat terjadi karena terbatasnya *intake* vitamin C, sehingga terjadi reabsorpsi kembali vitamin C di ginjal. Hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan Jacob (1999) bahwa ketika *pool* vitamin C tubuh dibawah 1.500 mg dan tidak adanya penambahan *intake*, maka tidak ada vitamin C yang diekskresikan melalui urin. Sedangkan bila terjadi kenaikan vitamin C dalam tubuh, maka akan terjadi penurunan reabsorpsi. Pada penelitian ini baru diketemukan adanya ekskresi kristal kalsium oksalat setelah hari ketiga pada salah satu probandus (marmut) kelompok 0 mg. Ini membuktikan bahwa dengan adanya intake vitamin C dari makanan walau hanya sedikit, bila *pool* vitamin C dapat tercukupi akan diekskresikan kelebihan vitamin C yang ada ditubuh.

Selain kelompok 0 mg, didapatkan adanya peningkatan ekskresi kalsium oksalat sesuai penambahan dosisnya. Pada dosis yang dianjurkan, yaitu 3,1 mg (100 mg pada manusia), juga didapatkan ekskresi kristal kalsium

oksalat. Jika dibandingkan dengan dosis 31 mg (1.000 mg pada manusia), terdapat peningkatan tiga kali lipat. Berarti penggunaan vitamin C dengan dosis 31 mg (1.000 mg pada manusia) dapat meningkatkan risiko penyakit ginjal maupun saluran kemih. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Baxmann *et al* (2003) dan Massey *et al* (2005). Vitamin C yang berada dalam tubuh terdapat juga mempunyai mekanisme hemostasis. Apabila jumlah berlebihan melebihi *pool*, maka akan langsung diekskresikan. Karena batas ambang ginjal untuk vitamin C dalam plasma hanya berkisar 0,8-1,4 mg/dl.

Dosis besar yang digunakan untuk terapi juga mempunyai risiko besar terhadap ekskresi kristal kalsium oksalat yaitu dengan dosis 310 mg (10.000 pada manusia). Dari penelitian didapatkan peningkatan lebih dari dua puluh kali ekskresi kristal kalsium oksalat. Hal ini menunjukkan hasil yang sama bahwa dosis 10.000 mg meningkatkan kalsium oksalat urin seperti penelitian yang dilakukan oleh dr. Constance Tsao (Lawson, 1999).

Penggunaan yang berlanjut juga memberikan dampak adanya peningkatan ekskresi kristal kalsium oksalat. Setiap kelompok dosis menunjukkan peningkatan rata-rata ekskresi kristal kalsium oksalat. Hal ini terjadi karena jumlah vitamin C yang telah digunakan akan diekskresikan dan ditambah lagi dengan adanya penambahan intake melebihi jumlah kebutuhan tubuh yang juga akan diekskresikan. Sehingga dapat disimpulkan semakin lama penggunaan vitamin C akan meningkatkan jumlah ekskresi kristal kalsium oksalat setiap harinya. Apalagi bila dosis

yang digunakan setiap harinya besar, maka semakin besar pula peningkatan ekskresi kristal kalsium oksalat.

Dari uji perbedaan berbagai dosis vitamin C didapatkan hasil bermakna yang menunjukkan dosis yang berbeda akan mempengaruhi jumlah ekskresi kristal kalsium oksalat urin. Hal ini berarti hipotesis diterima karena H_0 ditolak. Pada penelitian sebelumnya hanya dilakukan pada dosis 1.000 mg saja oleh Massey *et al* (2005) yang juga menunjukkan hasil yang bermakna. Hal ini sesuai dengan teori bahwa ketika ada kelebihan vitamin C dalam tubuh, maka ginjal akan mengekskresikan vitamin C sehingga dengan penambahan dosis melebihi kebutuhan akan meningkatkan ekskresi kristal kalsium oksalat (Jacob, 1999).

Uji lama penggunaan juga menunjukkan hasil yang bermakna bahwa dengan semakin rutin dan dalam jangka waktu yang lama akan meningkatkan ekskresi kristal kalsium oksalat urin. Hal ini dikarenakan jumlah vitamin C yang digunakan melebihi kebutuhan, sehingga akan diekskresikan kelebihannya tersebut berupa kristal kalsium oksalat. Ditambah lagi dengan penggunaan yang rutin dalam jangka panjang juga mempunyai pengaruh pada ekskresi kristal kalsium oksalat.

Interaksi pada penggunaan berbagai dosis vitamin C dengan lama penggunaan mempunyai hasil uji yang bermakna. Hal tersebut semakin memperkuat bahwa penggunaan dosis yang melebihi kebutuhan tubuh akan diekskresikan dan lama penggunaan yang berlanjut akan semakin menambah jumlah ekskresi kristal kalsium oksalat pada urin. Hal tersebut juga sesuai

dengan teori waktu paruh vitamin C yang hanya 30 menit (Sardi, 2004). Jadi ketika ada *intake* vitamin C yang berlebih maka akan langsung diekskresikan ginjal, dan *intake* yang berulang selama *pool* tidak mengalami kekurangan maka akan mengakibatkan ekskresi kristal kalsium oksalat pada urin (Jacob, 1999).

Kendala pada penelitian adalah dengan menggunakan hewan uji marmut lebih sulit menyamakan perlakuan pada pemberian pakan. Tiap marmut tidak sama berapa gram wortel yang dimakan. Hal itu yang menyebabkan standar deviasi yang besar pada hasil pengujian. Pembatasan sumber vitamin C dari makanan menyebabkan tidak diketemukan kristal kalsium oksalat akibat adanya reabsorpsi. Hasil nol tersebut mengakibatkan kendala dalam uji analisis tidak dapatnya menggunakan uji analisis parametrik karena data yang diperoleh tidak normal dan tidak homogen. Nilai nol tidak dapat ditransformasikan, sehingga harus menggunakan uji non parametrik walaupun skala pengukurannya numerik.

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukannya penghitungan kristal kalsium oksalat yang berlanjut pada marmut yang sama. Sehingga penulis hanya memaparkan hasil penghitungan secara kelompok, tanpa dapat diketahui peningkatan hasil ekskresi kristal kalsium oksalat tiap marmutnya. Keterbatasan peneliti juga terjadi dalam penghitungan karena bentuk kristal kalsium oksalat pada marmut kecil tidak sebesar pada manusia sehingga harus dilakukan penghitungan pada dua puluh lapang pandang kecil.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat disimpulkan bahwa :

- 5.1.1. Penambahan dosis vitamin C oral akan menghasilkan gambaran jumlah rata-rata kristal kalsium oksalat yang bertambah banyak.
- 5.1.2. Lama waktu penggunaan vitamin C oral akan menghasilkan gambaran jumlah rata-rata kristal kalsium oksalat urin yang bertambah banyak.
- 5.1.3. Terdapat perbedaan yang bermakna antara berbagai dosis dalam penggunaan vitamin C oral terhadap jumlah kristal kalsium oksalat urin.
- 5.1.4. Terdapat perbedaan yang bermakna antara lama dalam penggunaan vitamin C oral terhadap jumlah kristal kalsium oksalat urin.
- 5.1.5. Terdapat perbedaan yang bermakna antara interaksi berbagai dosis dan lama penggunaan vitamin C oral terhadap jumlah kristal kalsium oksalat urin.

5.2. Saran

- 5.2.1. Penelitian sebaiknya dimulai setelah beberapa hari perlakuan agar dapat menghindari tidak ditemukannya kristal kalsium oksalat pada

hari pertama perlakuan karena asupan vitamin C yang terbatas pada probandus, sehingga mengakibatkan adanya reabsorpsi kembali vitamin C.

- 5.2.2. Penelitian sebaiknya dilakukan pengamatan tiap probandus (marmut) agar dapat diketahui secara pasti seberapa peningkatan ekskresi kristal kalsium oksalat urin, walaupun peneliti telah melakukan hanya secara kelompok.



DAFTAR PUSTAKA

- Baxmann, A., Mendonca, C., Heilberg, I., 2003, *Effect of Vitamin C Supplements on Urinary Oxalate and pH in Calcium Stone-Forming Patients*, available at : <http://www.nature.com/ki/journal/v63/n3/full/4493529a.html>, Download on January 28th 2009
- Carvalho, M., Viera, M.A., 2004, *Changes in Calcium Oxalate Crystal Morphology as a Function of Supersaturation*, available at : http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-55382004000300005, Downloaded on Mey 28th 2009
- Coe, F.L., Evan, A., Worcester, E., 2005, *Kidney Stone Disease, The Journal of Clinical Investigation*, available at : <http://www.jci.org/articles/view/26662/version/1>, Downloaded on June 22 2009
- Cornell University, 1996, *Calcium Oxalate Monohydrate*, available at : <http://diaglab.vet.cornell.edu/clinpath/modules/UA-SED/ox-mono.htm>, Downloaded on July 23rd 2009
- Dahlan, M.S., 2006, *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan : UjinHipotesis dengan Menggunakan SPSS*, PT Arkans, Jakarta.
- De Yoreo, J.J., Qui, S.R., Hoyer, J.R., 2006, *Molecular Modulation of Calcium Oxalate Crystalization*, available at : <http://ajprenal.physiology.org/cgi/content/full/291/6/F1123>, Downloaded on Mey 9th 2009
- Dewoto, H.R., Wardhini, S., 2007, *Farmakologi dan Terapi, edisi 5, Vitamin dan Mineral, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Indonesia*, Gaya Baru, Jakarta, 722-724
- Dorland, 2002, *Kamus Kedokteran Dorland*, EGC, Jakarta
- Gandasoebrata, R., 2007, *Penuntun Laboratorium Klinik*, Cetakan ketigabelas, Dian Rakkyat, Jakarta, 111-115
- Groff, J.L., Gropper, S.S., Hunt, S.M., 1995, *The Water Soluble Vitamins. In: Advanced Nutrition and Human Metabolism*, West Publising Company, Minneapolis, 222-237
- Higdon, J., 2006, *Vitamin C, Linus Pauling Institute Micronutrien Research for Optimum Health*, available at :

<http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins/vitaminC/> Downloaded on June 23rd 2009

- Jacob, R.A., 1999, *Modern Nutrition in Health and Disease, Ninth Edition, Edited by Maurice Shils, James Olson, Moshe Shike, and A. Cathrine Ross, Vitamin C*, Williams & Wilkins, Baltimore, 467-482
- Khan, S.R., Kok, D.J., 2004, *Modulator of Urinary Stone Formation*, available at: <http://www.bioscience.org/2004/v9/af/1347/figures.htm>, Downloaded on June 3rd 2009
- Lawson, S., 1999, *What About vitamin C and Kidney Stones?*, *Linus Pauling Institute*, available at : <http://lpi.oregonstate.edu/f-w99/kidneystones.html>. Downloaded on January 1st 2009
- Marais, J.P., 1999, *Nutritive Value of Kikuyu*, available at : http://www.anaesthesiamcq.com/AcidBaseBook/ab8_6b.php, Downloaded on June 3rd 2009
- Marengo, S.R., Romani, A.M.P., 2008, *Oxalate in Renal Stone Disease: The Terminal Metabolite That Just Won't Go Away*, available at : <http://www.medscape.com/viewarticle/576926>, Downloaded on March 15th 2010.
- Marks, D.B., Marks, A.D., Smith, C.M., 2000, *Pembentukan dan Penguraian Asam Amino, Dalam : Biokimia Kedokteran Dasar Sebuah Pendekatan Klinis*, EGC, Jakarta, 581-597
- Massey, L.K., Liebman, M., Kynast-Gales, S.A., 2005, *Human Nutrition and Metabolism, Ascorbate Increase Human Oxaluria and Kidney Stone Risk*, 1673-1677, available at : <http://jn.nutrition.org/cgi/content/full/135/7/1673>. Downloaded on January 28th 2009
- Mayes, P.A., 2000, *Struktur dan Fungsi Vitamin Larut Air*, Dalam : *Biokimia Harper, edisi 25*, , EGC, Jakarta
- McPherson, R.A., Ben-Ezra, J., Zhao, S., *Basic Examination of Urine in Henry's Clinical diagnosis and Management by Laboratory Methods, Twenty-First Edition*, Philadelphia : Saunders Elsevier, 415-416
- Mo, L., Liaw, L., Evan, A.P., Sommer, A.J., Lieske, J.C., Wu, X., 2007, *Renal Calcinosi and stone Formation in Mice Lacking Osteopontin, Tamm-Horsfall Protein, or Both*, available at : <http://ajprenal.physiology.org/cgi/content/abstract/00383.2007v1>, Downloaded on June 14th 2009

- Naidu, K.A., 2003, *Vitamin C in Human Health and diseases is still a Mystery? An Overview*, *Nutrition Journal*, available at : <http://www.nutritonj.com/content/2/1/7>. Downloaded on Mei 5th 2009
- Nguyen, Q.D.S., 2001, *Calcium Oxalate Crystal Formation in Human Urin and Identification of Mineral-Binding Protein*, Thesis Faculty of Dentistry, McGill University
- Purnomo, B.B., 2000, *Dasar-dasar Urologi, edisi 2, Batu Saluran Kemih*, Cv. Sagung Seto, Jakarta, 57-60.
- Qiu, S.R., et al, 2003, *Molecular Modulation of Calcium Oxalate Crystallization by Osteopontin and Citrate*, available at : <http://www.pnas.org/content/101/7/1811.full>, Downloaded on June 14th 2009
- Santoso, S., 2002, *Buku Latihan SPSS Statistik Multivariat*, PT. Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Sardi, B., 2004, *Linus Pauling Vindicated; Researchers Claim RDA For Vitamin C is Flawed*, available at : <http://www.prnewswire.com/cgi-bin/stories.pl?ACCT=109&STORY=/www/story/07-06-2004/0002204911>, Downloaded on October 11st 2009
- Shekarriz, B., 2008, *Hyperoxaluria*, available at : <http://emedicine.medscape.com/article/444683-overview>, Downloaded on june 30th 2009
- Thurnham, D.I., Bender, D.A., Scott, J., Halsted, C.H., 2003, *Human Nutrition and Dietetics, 10th edition, Water-solube Vitamins*, Elsevier Science Limited, Philadelphia, 249-257
- Tiselius, H., 2003, *Is Precipitation of Calcium Phosphate an Important Factor for The Development of Calcium Oxalate Stones in The Urinary Tract?*, available at : <http://www.bioscience.org/u37153137/gaDTRQo7632rgysaGWQYT64356/2003/v8/s/1053/1053.pdf>, Downloaded on March 16th 2010
- Vasada, N, Williams, C., Hellman, R.N., 2003, *Ethylene Glycol Intoxication: Case Report and Pharmacokinetic Perspectives*, available at : <http://www.medscape.com/viewarticle/465881>, Downloaded on July 8th 2009
- Washington State University, 2004, *Acute Renal Failure*, available at : http://www.vetmed.wsu.edu/boeing/small_animal_medicine/arf.htm, Downloaded on July 23rd 2009

Whitney, E., Rolfes, S., R., 2008, *The Water Soluble Vitamins: B Vitamins and Vitamin C*, In : *Understanding Nutrition, 11st edition*, Thomson Wadsworth, USA, 350-351

