

**GAMBARAN MIKROSKOPIS KOLAGEN
SETELAH PEMBERIAN VITAMIN C
PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Kedokteran Gigi Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember



Asal :	Hadiah	Klass
Peringkat :	Pemberian	617.6
Oleh :	Pengkatalog :	RAH
		g

Fitri Rahmawati
NIM. 001610101056

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

**GAMBARAN MIKROSKOPIS KOLAGEN
SETELAH PEMBERIAN VITAMIN C
PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA TIKUS PUTIH**
(Rattus norvegicus)

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat guna Menyelesaikan
Pendidikan Program Sarjana Kedokteran Gigi
Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember**

Oleh :

Fitri Rahmawati
NIM. 001610101056

Dosen Pembimbing Utama


drg. Rina Sutjiati, M. Kes
NIP. 132 102 409

Dosen Pembimbing Anggota


drg. Happy Harmono, M. Kes
NIP. 132 162 517

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2005

Diterima Oleh :

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

Sebagai Karya Tulis Ilmiah (Skripsi)

Dipertahankan pada,

Hari : Sabtu
Tanggal : 16 April 2005
Tempat : Ruang Ujian Skripsi

Tim Penguji

Ketua



drg. Rina Sutjiati, M. Kes
NIP. 132 102 409

Sekretaris



drg. Hj. Hernivati, M. Kes
NIP. 131 479 783

Anggota



drg. Happy Harmono, M. Kes
NIP. 132 162 517

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember



drg. Zahreni Hamzah, M.S
NIP.131 558 576

MOTTO

"Dan, barangsiapa bertakwa kepada Allah, niscaya Dia akan mengadakan baginya jalan keluar. Dan memberinya rezki dari arah yang tidak disangka-sangka. Dan barangsiapa bertawakkal kepada Allah niscaya Allah akan mencukupkan (keperluan)nya."

(QS. Ath-Thalaq : 3)

"Ketahuilah bahwa kemenangan akan datang bersama kesabaran, jalan keluar datang bersama kesulitan, dan kemudahan itu ada bersama kesulitan."

(Al Hadist)

"Satu-satunya orang yang tidak membuat kesalahan adalah orang yang tidak berbuat apa-apa. Jangan takut kepada kesalahan!!"

(Roosevelt)

Kadang kita terlalu mudah menangis terhadap apa yang tidak kita punya, bersedih atas yang gagal kita raih, dan kita memelas terhadap semua yang menimpa kita, tetapi kenapa kita tidak pernah mensyukuri atas apa yang masih ada dan yang masih banyak.

(DR. Aidh Al Qarni)

PERSEMBAHAN

Kupersembahkan Karya Tulis Ilmiah ini kepada :

1. Orang tuaku tercinta, Bapak Abdul Muin Manan dan Ibu Siti Roviah
2. Kakakku Ana, Aziz, Rizki, Linda, dan adikku Lina, serta keponakanku Firda
3. Almamater yang kubanggakan

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur bagi Allah Tuhan alam semesta, yang mengijinkan penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (skripsi) yang berjudul **“GAMBARAN MIKROSKOPIS KOLAGEN SETELAH PEMBERIAN VITAMIN C PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA TIKUS PUTIH (*Rattus Norvegicus*).”**

Pembuatan Karya Tulis ilmiah ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu pada kesempatan kali ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. drg. Zahreni Hamzah, M.S, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. drg. Rina Sutjiati, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, dan petunjuk dalam penyelesaian Karya Tulis Ilmiah ini.
3. drg. Happy Harmono, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan pengarahan dan petunjuk serta bimbingan sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat diselesaikan.
4. drg. Hj. Herniyati, M. Kes, selaku sekretaris tim penguji yang telah memberikan kritik dan sarannya.
5. Orang tua atas cinta, kasih sayang, doa, dan semangat yang tidak pernah berhenti.
6. Saudara-saudaraku tercinta mba' Ana, mba' Linda, mas Rizki, mas Aziz, de' Lina, dan keponakanku Firda. Terima kasih atas pengorbanan besar ini.
7. Orang-orang terdekatku, mas Faisol, de' Erma, de' Yuli, untuk perhatian, motivasi, dan dukungan terbaiknya, terima kasih.
8. Sahabat seperjuangan, Tono, Dewo, dan fifin. Kebersamaan ini begitu indah.
9. Teman-temanku, Kak Nci, mba' Kenyo, mba' Lody, Ena, Kuyus, Cymba, Pepenk, Ira, Irma, Tyas, Ida, terima kasih untuk senyuman-senyumannya.
10. Teman-teman kos lama, Atunk, Cemenk, Darpin, dan yang lainnya.
11. Teman-teman tercinta di FKG, terutama angkatan 2000.

12. Pimpinan dan staf FKG, terutama mas Agus, dan mbak Wahyu.
13. Semua pihak yang telah membantu hingga Karya Tulis Ilmiah ini selesai disusun.

Penulis mengharapkan saran dan kritik untuk membantu dalam melengkapi dan menyempurnakan Karya Tulis Ilmiah ini. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan manfaat dalam upaya meningkatkan pengetahuan terutama dalam bidang kesehatan.

Jember, Januari 2005

Penulis

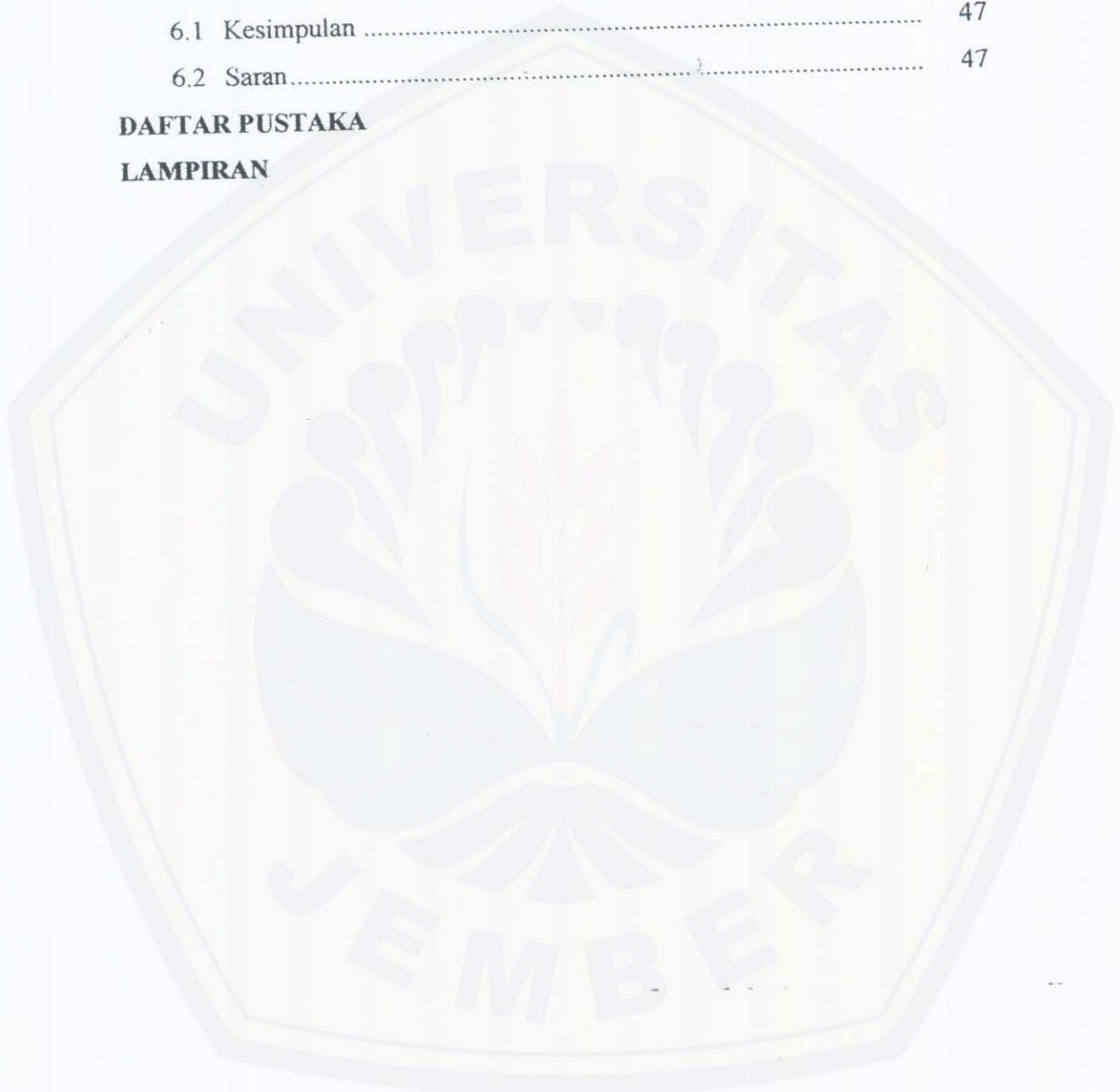
DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGANTAR.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN MOTTO.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
RINGKASAN.....	xv
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Vitamin C.....	5
2.1.1 Sejarah.....	5
2.1.2 Sifat.....	5
2.1.3 Susunan Kimia.....	6
2.1.4 Metabolisme.....	6
2.1.5 Fungsi.....	7
2.1.6 Sumber.....	7
2.1.7 Akibat Kekurangan Dan Kelebihan Vitamin C.....	8
2.2 Kolagen sebagai Salah Satu Jaringan Ikat Gingiva.....	8
2.3 Proses Penyembuhan Luka.....	14



2.4 Hipotesa Penelitian	16
III. METODE PENELITIAN	17
3.1 Jenis Penelitian.....	17
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.3 Rancangan Penelitian	17
3.4 Sampel	18
3.4.1 Populasi Sampel	18
3.4.2 Jumlah Sampel	18
3.4.3 Kriteria Sampel	19
3.5 Variabel penelitian	19
3.5.1 Variabel Bebas	19
3.5.2 Variabel Tergantung	19
3.5.3 Variabel Terkendali	19
3.6 Definisi Operasional	20
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	21
3.6.1 Alat Penelitian	21
3.6.2 Bahan Penelitian	21
3.8 Konversi Dosis Pemberian Vitamin C Dari manusia ke tikus ...	21
3.9 Konversi Dosis Ketalar	22
3.10 Prosedur Penelitian	22
3.10.1 Tahap Persiapan.....	22
3.10.2 Tahap Pengelompokan Subyek.....	23
3.10.3 Tahap Pemberian Vitamin C.....	23
3.10.4 Tahap Perlukaan.....	23
3.10.5 Tahap Preparasi Jaringan.....	23
3.10.6 Tahap Pembuatan Sediaan.....	23
3.10.7 Tahap Pengecatan <i>Hematoxylin-Eosin</i>	24
3.10.8 Tahap Pengamatan pembuatan Kolagen.....	25
3.10 Alur Penelitian	27
3.11 Analisa Data.....	28
IV. HASIL DAN ANALISA DATA	33

4.1 Hasil Penelitian	34
4.2 Analisa Data	35
V. PEMBAHASAN	42
VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
6.1 Kesimpulan	47
6.2 Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil rata-rata pengamatan histologis serabut kolagen.....	34
2. Hasil <i>Kruskal-Wallis test</i>	35
3. Uji Kemaknaan Serabut Kolagen tiap subkelompok	35
4. Hasil Perbandingan Pembentukan Kolagen pada Kelompok Kontrol ..	36
5. Hasil Perbandingan Pembentukan Kolagen pada Kelompok Perlakuan.....	36
6. Hasil Perbandingan Kecepatan Pembentukan Kolagen antar Subkelompok.....	37

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Gambar 1. Struktur Vitamin C.....	6
2. Gambar 2. Susunan Kolagen.....	12
3. Gambar 3. Skematis Peristiwa Molekuler dan Partisipasi Organel yang digunakan dalam sintesa Kolagen	13
4. Gambar 4. Skema Tahap Pembuatan Sediaan Jaringan.....	25
5. Gambar 5. Alur Penelitian.....	28
6. Gambar 6. Foto Alat Penelitian : a. <i>Waterbath</i> ; b. Oven.....	30
7. Gambar 7. Foto Alat Penelitian : a. Mikroskop; b. Mikrotom.....	30
8. Gambar 8. Foto Alat Penelitian : a. Neraca OHAUS b. Timbangan; c. Sonde lambung ; d. <i>Disposable syringe</i> ; e. Skalpel; f. Gunting; g. Pinset; h. Arteri klem; i. Gelas ukur	31
9. Gambar 9. Foto Bahan Penelitian : a. Aquades steril; b. Alkohol 95%; c. formalin 10%; d. <i>Eter chlorid</i> ; e. Vitamin C; f. Cairan anastesi ketalar; g. <i>Aquabidest</i>	32
10. Gambar 10. Pemberian Vitamin C pada Tikus	33
11. Gambar 11. Grafik Rata-Rata Pembentukan Kolagen	34
12. Gambar 12. Foto Mikroskopis Kolagen Kelompok Kontrol Hari Ke-1	38
13. Gambar 13. Foto Mikroskopis Kolagen Kelompok Kontrol Hari Ke-3	38
14. Gambar 14. Foto Mikroskopis Kolagen Kelompok Kontrol Hari Ke-7	39
15. Gambar 15. Foto Mikroskopis Kolagen Kelompok Kontrol Hari Ke-15	39
16. Gambar 16. Foto Mikroskopis Kolagen Kelompok Perlakuan Hari Ke-1	40
17. Gambar 17. Foto Mikroskopis Kolagen Kelompok Perlakuan Hari Ke-3	40
18. Gambar 18. Foto Mikroskopis Kolagen Kelompok Perlakuan Hari Ke-7	41
19. Gambar 19. Foto Mikroskopis Kolagen Kelompok Perlakuan Hari Ke-15	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Tabel Perbandingan Luas Permukaan Hewan percobaan Untuk Konversi Dosis	48
2. Tabel Batas Volume Pemberian Cairan Yang Dapat Diberikan Pada Hewan Percobaan	49
3. Makanan Standart Tikus	50
4. Skor Data Pembentukan Kolagen	51
5. Uji <i>U Mann-Whitney</i>	55
6. Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	63
7. Uji Homogenitas	63
8. Uji <i>One-Sample Kolmogorov-Smirnov</i>	64
9. Uji Normalitas.....	64

RINGKASAN

"Gambaran Mikroskopis Kolagen Setelah Pemberian Vitamin C Pada Proses Penyembuhan Luka Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)," Penelitian eksperimental laboratoris. Oleh Fitri Rahmawati, NIM 001610101056. Pembimbing drg. Rina Sutjiati, M. Kes (DPU) dan drg. Happy Harmono, M. Kes (DPA).

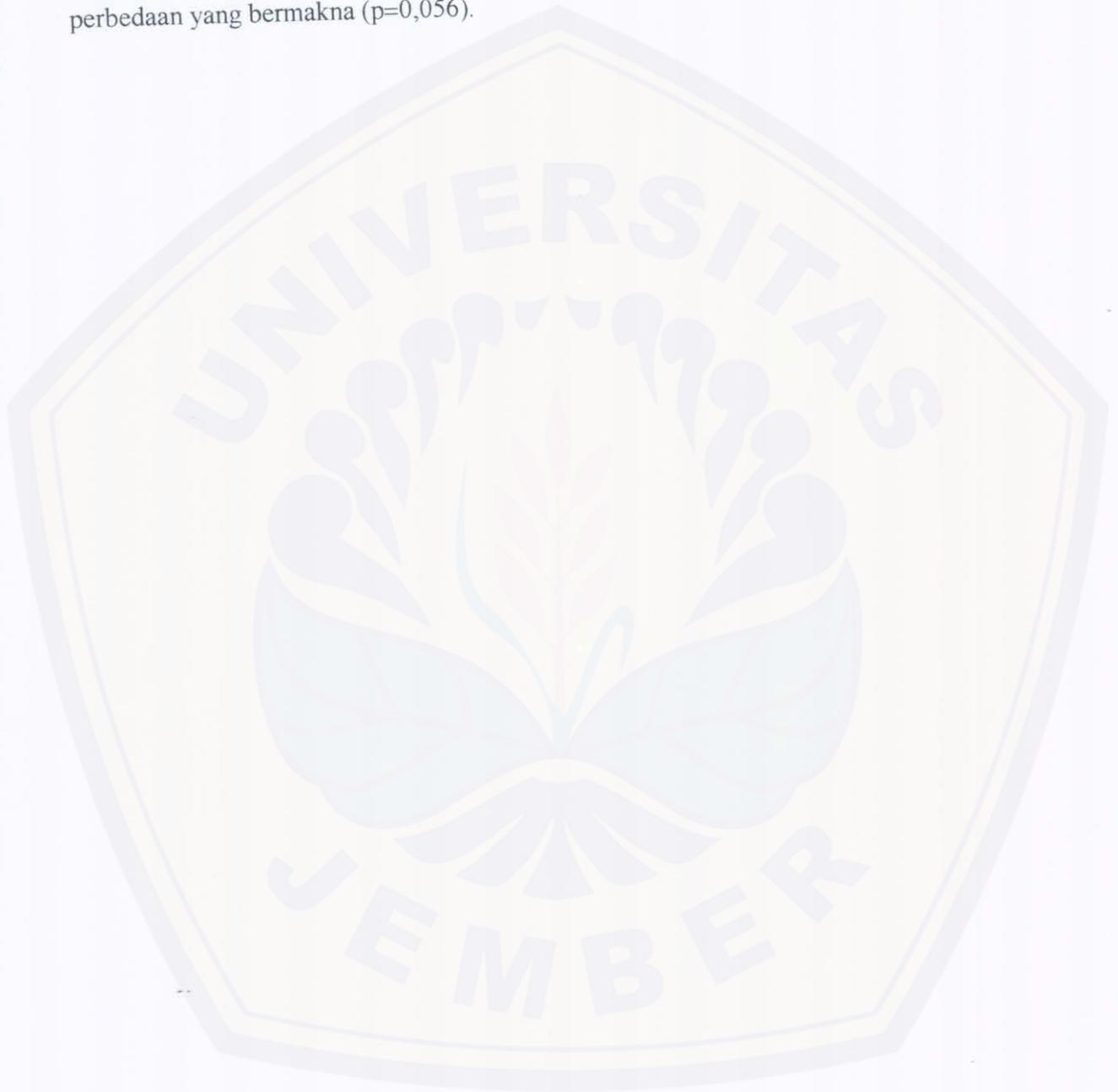
Pertumbuhan dan perbaikan jaringan pada seluruh bagian tubuh membutuhkan beberapa faktor, antara lain : Jaringan yang terlibat, vaskularitas, proteksi, infeksi, gizi, vitamin, umur, endokrin, suhu, dan lain-lain. Vitamin C adalah salah satu vitamin yang mempengaruhi langsung proses tersebut, fungsi utamanya dalam sintesis kolagen, yaitu mempercepat perubahan residu prolin dan lisin pada prokolagen menjadi hidroksiprolin dan hidroksilisin. Berdasarkan hal ini, penulis tertarik untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pembentukan kolagen pada proses penyembuhan luka setelah jangka waktu 1, 3, 7, dan 14 hari. Selain itu untuk membandingkan kecepatan pembentukan serat kolagen antara kelompok perlakuan dan kontrol setelah jangka waktu 1, 3, 7, dan 14 hari.

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa terdapat perbedaan pembentukan kolagen setelah jangka waktu 1, 3, 7, dan 14 hari, selain itu untuk membandingkan kecepatan pembentukan serat kolagen antara kelompok perlakuan dan kontrol setelah jangka waktu 1, 3, 7, dan 14 hari. Dengan penelitian ini diharapkan dapat mengambil manfaat yaitu mengetahui secara mikroskopis pengaruh vitamin C terhadap pembentukan kolagen pada proses penyembuhan luka terutama pasca pencabutan gigi dan memberi informasi bagi masyarakat tentang manfaat vitamin C sebagai terapi pendukung.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Histologi dan Lab. Farmakologi FKG Unej, dan Lab Histologi-Anatomi FK Unair pada bulan Mei-September 2004. Subyek penelitian adalah hewan coba (tikus wistar) sebanyak 32 ekor tikus dengan jenis kelamin jantan, berat ± 200 g, usia ± 2 bulan. Subyek di bagi menjadi dua, yaitu kelompok kontrol (tanpa di beri vitamin C), dan kelompok perlakuan (di beri vitamin C). Vitamin C mulai diberikan pada hari ke-0 sampai hari ke-14 pada tikus kelompok perlakuan. Semua tikus dikorbankan sesuai dengan kelompoknya untuk dijadikan sediaan preparat histologis. Sebelumnya semua hewan coba dilukai dengan melakukan pencabutan pada molar pertama rahang bawah dengan menggunakan sonde bengkok dan arteri klem. Pewarnaan preparat dengan *Hematoxylin-Eosin*. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan *ocular graticule* yang dipasang pada mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan dalam pembentukan kolagen pada masing-masing kelompok kontrol dan kelompok perlakuan setelah jangka waktu 1, 3, 7, 15 hari dengan beda makna 95% ($p=0,000$). Perbedaan bermakna ($p<0,05$) juga dihasilkan pada perbandingan kecepatan pembentukan kolagen pada tiap subkelompok kecuali pada : K3 dan K7, P1 dan P3, P3 dan P7, P3 dan P15, P7 dan P15, K15 dan P15. Vitamin C dengan dosis yang tepat memiliki manfaat besar pada proses penyembuhan luka terutama pasca pencabutan gigi.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat di ambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan pembentukan kolagen antara kelompok kontrol dan perlakuan, dimana pembentukan kolagen pada kelompok perlakuan lebih banyak dari pada kelompok kontrol. Perbedaan kecepatan pembentukan kolagen antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan juga terjadi, kecuali pada hari ke-15 tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,056$).





I. PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Pada manusia, sel-sel yang berdekatan dengan area kerusakan gagal untuk berdiferensiasi lagi dan tidak terbentuk blastema. Hal ini menimbulkan pertanyaan bagaimana penyembuhan luka bisa terjadi. Proses penyembuhan mempunyai dua aspek : (1) Kontraksi, reduksi mekanik pada ukuran kerusakan yang terjadi pada minggu I; (2) Penempatan kembali jaringan yang hilang, memberikan gambaran tentang imigrasi sel-sel yang baik sesuai pembagian sel-sel yang berdekatan dan untuk menyediakan jaringan ekstra untuk mengisi *gap*. Proses ini dapat dipenuhi dengan dua cara : (a) Repair, penempatan kembali jaringan lunak oleh jaringan granulasi yang matur untuk membentuk jaringan parut. Ini tidak dapat dielakkan ketika sel-sel yang mengelilingi daerah luka tidak mempunyai kapasitas untuk membentuk berproliferasi, misalnya sel otot, sel saraf; (b) Regenerasi, penempatan kembali jaringan lunak oleh jaringan yang sama dengan jaringan yang mengalami kerusakan. Disini terdapat proliferasi sel-sel yang tidak rusak yang mengelilinginya. Regenerasi utama terjadi ketika sel-selnya terdiri dari jaringan yang mampu melakukan multiplikasi, proses tersebut terilustrasi baik pada proses penyembuhan pada kerusakan hati (Walter *et al.*, 1981)

Jaringan epitel yang hampir menutupi seluruh organ tubuh, memiliki daya regenerasi yang tinggi. Untuk epitelium kelenjar akan mengalami regenerasi hanya pada keadaan yang baik, misalnya : Hepar, tubulus ginjal, dan tiroid. Integritasnya tergantung pada kemampuannya untuk menggantikan sel-sel yang hilang. Pembentukan jaringan granulasi dan produksi kolagen merupakan suatu proses repair dari tubuh (Walter *et al.*, 1981). Proliferasi fibroblas dan tunas-tunas kapiler dan selanjutnya pembentukan kolagen untuk membentuk jaringan parut adalah akibat yang wajar pada hampir tiap kerusakan jaringan. Parut yang dibentuk oleh jaringan ikat dijumpai di mana-mana dan merupakan cara pemulihan yang efisien, tetap terpaksa akan mengorbankan fungsi parenkim yang khusus (Robbins & Kumar, 1995).



Mekanisme pemulihan tubuh ada dua, yaitu : (1) Penyatuan primer – penyembuhan sebagai tujuan pertama. Keadaan ini terjadi pada tempat dimana hanya terdapat kehilangan jaringan, misalnya insisi bedah (2) Penyatuan sekunder – penyembuhan sekunder atau dengan granulasi. Proses ini sama dengan proses yang terjadi pada penyatuan primer. Walaupun demikian pada tempat dimana terjadi kehilangan jaringan yang sedemikian rupa, sehingga tepi-tepinya dipisahkan oleh suatu cacat, misalnya suatu ulkus atau suatu rongga abses, diperlukan sejumlah besar jaringan perbaikan dan proses memakan waktu lebih lama (Thompson & Cotton, 1997). Penyatuannya selalu membentuk jaringan parut dan hilang fungsi khas yang lebih banyak (Robbins & Kumar, 1995).

Menurut Thompson & Cotton (1997), faktor-faktor yang mempengaruhi proses pemulihan antara lain : Jaringan yang terlibat, vaskularitas, proteksi, infeksi, gizi, vitamin, umur, endokrin, suhu, ukuran, benda asing, sinus dan fistula, iradiasi, dan saraf sensorik.

Salah satu vitamin yang telah lama diketahui selama beberapa tahun, yang mempengaruhi langsung penyembuhan luka yaitu vitamin C, atau *ascorbic acid* (Shafer *et al.*, 1974). Peranan vitamin C disini sebagai perawatan suportif melalui regenerasi jaringan yang ditunjukkan dengan pembentukan kolagen pada jaringan ikat pembuluh darah, pembentukan membran basalis, dan matriks antar sel sehingga mempercepat waktu penyembuhan (Harijanti, 1996).

Vitamin C juga dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perbaikan jaringan di seluruh bagian dari tubuh kita sehingga penting untuk proses penyembuhan luka, perbaikan serta pemeliharaan kartilago, tulang, dan gigi (Guyton *et al.*, 1997).

Tubuh tidak dapat memproduksi vitamin C sendiri. Pemenuhan kebutuhan vitamin C sebagian besar diperoleh dari diet makanan. Setiap proses penyembuhan yang terjadi pada tubuh membutuhkan lebih banyak kebutuhan vitamin C, misalnya pada suatu infeksi, penyakit, dan postoperatif (<http://www.Healthandage.Com>)

Penelitian tentang dampak defisiensi vitamin C yang dilakukan pada *guinea-pigs* menunjukkan bahwa kontraksi luka dan regenerasi epitel pada *guinea-pigs* berjalan normal. Tetapi Jaringan granulasi yang terbentuk tidak normal, fibroblas

tersusun tapi tidak teratur ragamnya, produksi retikulin yang sedikit, serta serabut kolagen normal tidak terbentuk, luka jadi sangat lemah. Pembuluh-pembuluh darah pecah dan terjadi haemoraghi. Pada daerah bergigi karakteristik yang terjadi yaitu bengkaknya gingiva serta perdarahan pada gingiva (Walter *et al.*, 1984).

Diakui bahwa proliferasi fibroblastik luka pada binatang penderita skorbut lebih lama dari pada hewan kontrol. Berarti prosesnya terganggu karena membutuhkan waktu yang lebih lama untuk pembentukan jaringan ikat dan hal ini dibuktikan oleh suatu fakta bahwa binatang yang menderita skorbut memperlihatkan melemahnya proses penyembuhan luka (Shafer *et al.*, 1974).

Proses Penyembuhan luka yang lemah merupakan gejala penyakit skorbut, *scurvy*. Level vitamin C pada plasma berkurang saat terjadi fraktur, luka, luka bakar, dan bedah mayor. Diet vitamin C suplemen dari 100-300 mg sampai 1 g per hari dapat mengembalikan level vitamin C pada plasma menjadi normal pada pasien postoperatif (Mazzotta & Mary, 1994).

Masalah yang timbul di kedokteran gigi paling sering dihadapi adalah tindakan cabut gigi. Pada kasus penyembuhan luka bekas pencabutan gigi, sering tidak pernah diikuti seberapa jauh proses kesembuhannya, dan hanya dengan harapan bahwa kesembuhan luka itu terjadi dengan sendirinya (Hariadi, 1985).

Berdasarkan keterangan di atas penulis tertarik untuk mengadakan penelitian guna mengetahui secara jelas gambaran mikroskopis pengaruh vitamin C terhadap pembentukan kolagen pada proses penyembuhan setelah pencabutan gigi.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimanakah gambaran mikroskopis kolagen setelah pemberian vitamin C pada proses penyembuhan luka tikus putih ?
2. Bagaimanakah gambaran mikroskopis kolagen setelah pemberian vitamin C pada proses penyembuhan luka tikus putih pada jangka waktu 1, 3, 7, dan 15 hari ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui gambaran mikroskopis kolagen setelah pemberian vitamin C pada proses penyembuhan luka tikus putih ?
2. Untuk mengetahui gambaran mikroskopis kolagen setelah pemberian vitamin C pada proses penyembuhan luka tikus putih pada jangka waktu 1, 3, 7, dan 15 hari ?

1.4 Manfaat penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengetahui secara jelas pembentukan kolagen setelah jangka waktu tertentu pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.
2. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan informasi bagi masyarakat tentang manfaat vitamin C sebagai terapi pendukung terutama pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Vitamin C

2.1.1 Sejarah

Penyakit skurvi telah dikenal sejak abad ke-15, yaitu penyakit yang banyak diderita oleh pelaut yang berlayar selama berbulan-bulan serta bertahan dengan makanan yang dikeringkan dan biskuit. Penyakit ini menyebabkan pucat, rasa lelah berkepanjangan diikuti oleh pendarahan gusi, pendarahan di bawah kulit, edema, tukak, dan pada akhirnya kematian (Almatsier, 2003).

Pada tahun 1750, Lind, seorang dokter dari skotlandia menemukan bahwa skurvi dapat dicegah dan diobati dengan memakan jeruk (Almatsier, 2003). Pada akhir tahun 1800, hubungan antara skurvi dan diet makanan ditetapkan. Pengamatan 1907 pada tikus belanda yang rentan terkena skurvi adalah pemecahan penting untuk memahami skurvi. Hal itu juga menjadi awal contoh penggunaan hewan sebagai model studi pada penyakit nutrisi. Pada tahun 1915, Zilba, dan Institut Lister di London telah mengisolasi aktivitas antiskorbutik dari serat kasar buah lemon (*juice*). Dalam penelitiannya menggunakan hewan percobaan bahwa aktivitas skorbut telah dihancurkan oleh oksidasi dan dilindungi oleh agen reduksi. Penting untuk menyusun nomenklatur dari vitamin, disarankan faktor baru antiskorbutik dibentuk "faktor atau vitamin C", sejak "A dan B" telah lama dibentuk sebelumnya sebagai penunjang faktor potensial kesehatan dan pertumbuhan atau vitamin-vitamin (Rucker *et al.*, 2001).

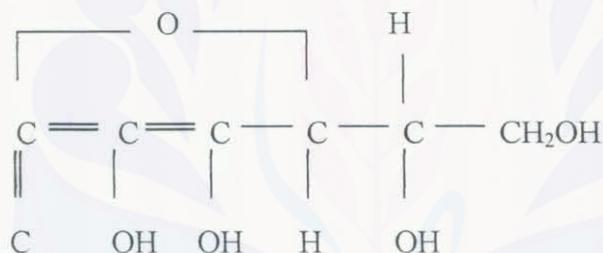
2.1.2 Sifat

Vitamin C adalah kristal penting yang mudah larut dalam air. Dalam keadaan kering vitamin C cukup stabil. Tetapi dalam keadaan larut vitamin C mudah rusak karena bersentuhan dengan udara (oksidasi) terutama bila terkena panas. Oksidasi dipercepat dengan kehadiran tembaga dan besi. Vitamin C tidak stabil dalam larutan alkali, tetapi cukup stabil dalam larutan asam. Vitamin C adalah vitamin yang paling labil.

2.1.3 Susunan Kimia

Asam askorbat (Vitamin C) adalah suatu turunan heksosa dan diklasifikasi sebagai karbohidrat erat berkaitan dengan monosakarida. Vitamin C dapat disintesis dari D-Glukosa dan D-Galakstosa dalam tumbuh-tumbuhan dan sebagian besar hewan. Vitamin C terdapat dalam dua bentuk alam, yaitu L-asam askorbat (bentuk tereduksi) dan L-asam dehidro askorbat (belum tereduksi). Oksidasi bolak-balik L-asam askorbat menjadi L-asam dehidro askorbat terjadi bila bersentuhan dengan tembaga, panas, atau alkali (Almatsier, 2003).

Kedua bentuk vitamin C secara biologik tetapi bentuk tereduksi adalah yang paling aktif. Oksidasi lebih lanjut L-asam dehidroaskorbat menghasilkan asam diketo L-Gulonat dan oksalat yang tidak dapat direduksi kembali (berarti telah kehilangan sifat anti skorbutnya).



Gambar 1. : Struktur vitamin C

Sumber : Murray *et al.*, 1999

2.1.4 Metabolisme

Vitamin C mudah diabsorpsi melalui saluran cerna. Pada keadaan normal tampak kenaikan vitamin C dalam darah setelah diabsorpsi. Kadar dalam leukosit dan trombosit lebih besar dalam plasma dan eritrosit. Distribusinya luas ke seluruh tubuh dengan kadar tertinggi dalam kelenjar dan terendah dalam otot dan jaringan lemak. Ekskresi melalui urin dalam bentuk utuh dan bentuk garam sulfatnya terjadi jika kadar dalam darah melewati ambang rangsang ginjal 1,4 mg% (Ganiswara *et al.*, 1995).

2.1.5 Fungsi

Pada level molekuler askorbat dan dehidroaskorbat mempunyai sifat pereduksi (reducing agents). Seperti halnya vitamin E, dalam keadaan demikian vitamin tersebut mempunyai sifat umum yang penting sebagai antioksidan yang mempengaruhi redoks potensial tubuh (status relatif dalam oksidasi atau reduksi zat-zat yang terlarut dalam air di dalam dan luar sel). Seperti halnya dengan Vitamin E fungsi askorbat sebagai sumber reducing equivalent di seluruh tubuh (Linder *dalam* Harijanti, 1996).

Dengan demikian vitamin C dibutuhkan untuk mempercepat perubahan residu prolin dan lisin pada prokolagen menjadi hidroksi prolin dan hidroksi lisin pada sintesis kolagen. Selain itu juga diperlukan untuk perubahan asam folat menjadi asam folinat, metabolisme obat untuk mikrosom dan hidroksilasi dopamin menjadi norepinefrin. Asam askorbat meningkatkan aktivitas amilase yang berperan dalam pembentukan hormon oksitosin, hormon antidiuretik. Dengan mereduksi ion feri menjadi fero dalam lambung. Vitamin C meningkatkan absorpsi besi selain itu vitamin C juga berperan pada pembentukan steroid adrenal (Ganiswara *et al.*,1995).

Pada jaringan fungsi utama vitamin C adalah dalam sintesis kolagen, proteoglikan, dan zat organik matriks antar sel lain misalnya pada tulang, gigi, endotel kapiler. Dalam sintesis kolagen selain berperan dalam hidroksilasi prolin vitamin C juga nampaknya berperan untuk menstimulasi langsung sintesis peptida kolagen (Ganiswara *et al.*,1995).

Vitamin C meningkatkan daya tahan terhadap infeksi, kemungkinan karena pemeliharaan terhadap membran mukosa atau pengaruh terhadap fungsi kekebalan. Selain itu vitamin C yang dikatakan dapat menyembuhkan kanker, kemungkinan karena vitamin C dapat mencegah pembentukan nitrosamin yang bersifat karsinogenik (Almatsier, 2003).

2.1.6 Sumber

Vitamin C umumnya hanya terdapat di dalam pangan nabati, yaitu sayur dan buah terutama yang asam, seperti jeruk, nenas, rambutan pepaya, gandaria, dan

tomat. Vitamin C juga banyak terdapat didalam sayuran daun-daunan dan jenis kol (Almatsier, 2003).

2.1.7 Akibat Kekurangan Dan Kelebihan Vitamin C

Penyakit skorbut (skurvi) merupakan sidrom klasik defisiensi vitamin C. Penyakit ini berhubungan dengan gangguan sintesis yang diperlihatkan dalam bentuk pendarahan subkutan serta pendarahan lainnya, kelemahan otot, gusi yang bengkak dan menjadi lunak, dan tanggalnya gigi (Murray *et al.*, 1996).

Disamping itu luka sukar sembuh, terjadi anemia, kadang-kadang jumlah sel darah putih menurun, serta depresi dan timbul gangguan saraf (Almatsier, 2003).

Vitamin C dengan dosis lebih dari 1 g/hari dapat menyebabkan diare. Hal ini terjadi karena efek iritasi langsung pada mukosa usus yang mengakibatkan peningkatan peristaltik. Dosis besar tersebut juga meningkatkan bahaya terbentuknya batu ginjal, karena sebagian vitamin C di metabolisme dan di ekskresi sebagai oksalat (Ganiswara, 1995).

2.2 Kolagen Sebagai Salah Satu Jaringan Ikat Gingiva

Gingiva adalah bagian mukosa rongga mulut yang mengelilingi gigi dan menutupi linggir (ridge) alveolar. Merupakan bagian dari aparatus pendukung gigi, periodonsium dan dengan membentuk hubungan dengan gigi, gingiva berfungsi untuk melindungi jaringan dibawah perlekatan gigi terhadap pengaruh lingkungan rongga mulut (Mansen & Eley, 1993).

Tepi gingiva terdiri dari inti jaringan ikat fibrosa yang tertutup epitelium skuamosa stratifikasi seperti epitelium skuamosa lainnya, dapat mengalami pergantian berkesinambungan melalui reproduksi sel yang kontinu pada lapisan terdalam dan lepasnya lapisan superfisial. Kedua aktivitas ini bekerja seimbang sehingga ketebalan epitelium tetap konstan (Mansen & Eley, 1993)

Terdapat tiga tipe jaringan ikat yaitu : kolagen, retikuler, dan elastik. Semuanya berupa protein majemuk yang dibentuk oleh asam amino panjang polipeptida. Hal ini dapat menjelaskan kemampuannya untuk tetap bertahan berwujud dalam lingkungan cairan internal badan (Lesson *et al.*, 1996).

Serabut kolagen segar adalah benang–benang yang tidak berwarna, tetapi bila terdapat dalam jumlah besar, mereka menyebabkan jaringan dimana kolagen berada menjadi berwarna putih–misalnya, di dalam tendon dan aponeurosis. Kolagen sama sekali tidak elastik, dan karena susunan molekul mempunyai daya rentang yang lebih besar dari pada baja sebagai akibatnya, kolagen memberikan suatu kombinasi unik dari kelenturan dan kekuatan kepada jaringan dia berada (Junqueira & Carneiro, 1988).

Serat kolagen bervariasi diameternya dari 1 sampai 12 mikron atau mikrometer (μm). Walaupun beberapa serat dapat bergabung bersama membentuk suatu berkas yang berukuran lebih besar. Didalam berkas serat–serat dipersatukan oleh sedikit substansi semen amorf (mukoprotein). Pada irisan jaringan, serat–serat bersifat eosinofil dan terpulas merah oleh pikrofuksin van gieson, oleh biru anilin dari pewarnaan jaringan ikat mallory terpulas biru ungu dan oleh pewarnaan masson trikrom terpulas hijau (Lesson *et al.*, 1996).

Benang kolagen paling halus yang tampak oleh mikroskop cahaya adalah fibril, setebal kurang lebih 0,3 sampai 0,5 mikrometer (Lesson *et al.*, 1996). Di dalam mikroskop polarisasi, serabut kolagen bersifat bias ganda yang merupakan tanda bahwa mereka mengandung molekul–molekul panjang dan paralel – suatu interpretasi yang telah dipastikan sepenuhnya oleh penyelidik dengan mikroskop elektron dan histalografik sinar-X. Mikroskop elektron juga memperlihatkan bahwa tiap fibril disusun oleh filamen–filamen lebih halus yang tidak dapat dilihat dengan mikroskop cahaya. Tiap fibril memperlihatkan suatu rangkaian pita putih dan hitam (Junqueira & Carneiro, 1988).

Asam amino utama yang menyusun kolagen adalah glisin (33,5 %), prolin (12 %), Hidroksi prolin (10 %). Sisanya terdiri dari asam amino lain, meskipun menarik untuk diketahui bahwa kolagen hanya mengandung sangat sedikit asam amino sulfa dan tirosin. Ia merupakan satu–satunya protein yang mengandung hidroksi prolin. Meskipun dalam jumlah lumayan (Junqueira & Carneiro, 1988). Prolin dan hidroksiprolin memberikan kekakuan (rigiditas) pada molekul kolagen (Murray *et al.*, 1997).

Sub-unit protein berpolimerisasi untuk membentuk fibril kolagen suatu molekul panjang yang disebut tropokolagen, dengan ukuran panjang 280 nm dan lebar 1,5 nm (Junqueira & Carneiro, 1988). Molekul tropokolagen sendiri disusun oleh 3 rantai polipeptida, berpilin satu sama lain membentuk pilinan ke arah kanan (Gambar 2.). Setiap rantai secara tersendiri dibentuk oleh kurang lebih seribu asam amino yang bersambung dan berpilin ke arah kiri. Pada suatu mikrofibril, tropokolagen tersusun dalam rantai atau barisan sejajar dari ujung ke ujung. Semua molekul tropokolagen dalam sebuah rantai tumpang tindih kurang lebih seperempat panjang molekulnya dengan molekul pada rantai sebelahnya (Lesson *et al.*, 1996).

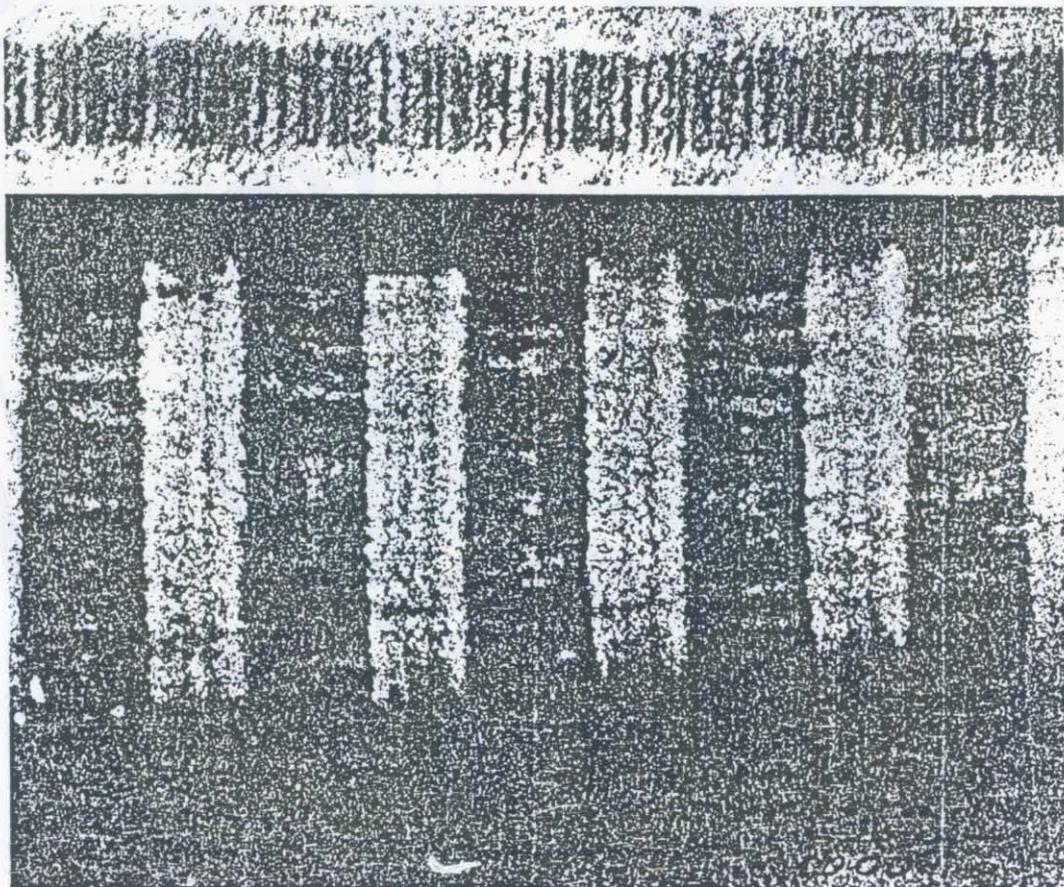
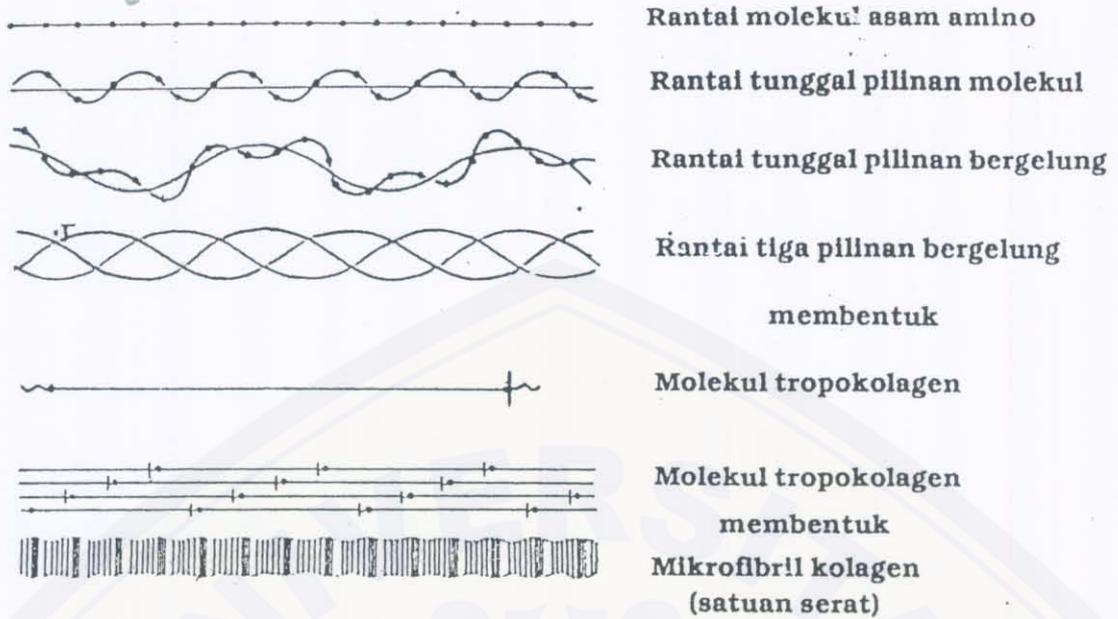
Menurut Lesson *et al.* (1996), Kolagen mempunyai lima tipe dimana semua memiliki susunan pilinan 3, tetapi berbeda satu dengan yang lain pada susunan pertama rantai polipeptidanya. Rantai ini dapat dipisahkan dalam 2 kelas, alfa-1 dan alfa-2, yang berbeda rangkaian asam aminonya, tipe – tipe tersebut yaitu :

1. Tipe I, terdiri dari 2 rantai alfa-1 dan satu rantai alfa-2, terdapat pada dermis kulit, tendon, tulang, gigi, pada hakekatnya pada semua jaringan ikat.
2. Tipe II, terdiri dari 3 rantai alfa-1, merupakan unsur utama matriks tulang rawan.
3. Tipe III, terdiri dari 3 rantai alfa-1, pada keadaan dewasa kolagen ini terdapat jaring-jaring retikuler berhubungan dengan kulit, pembuluh darah, uterus, dan saluran cerna.
4. Tipe IV, terdiri dari 3 rantai alfa-1, terdapat dalam lamina basal dan diperkirakan merupakan hasil sel-sel yang langsung berhubungan dengan lamina tersebut seperti lamina sel epitel dan endotel.
5. Tipe V, susunannya masih menjadi bahan perdebatan, membentuk lamina tipe V yang tidak bergurat dibawah membran fetus.

Fibroblas merupakan sel induk yang berperan membentuk dan meletakkan serat-serat dalam matriks, terutama serat kolagen. Sintesis, sekresi, dan pengolahan prokolagen pada dasarnya serupa dalam fibroblas, osteoblas, dan odontoblas, yang

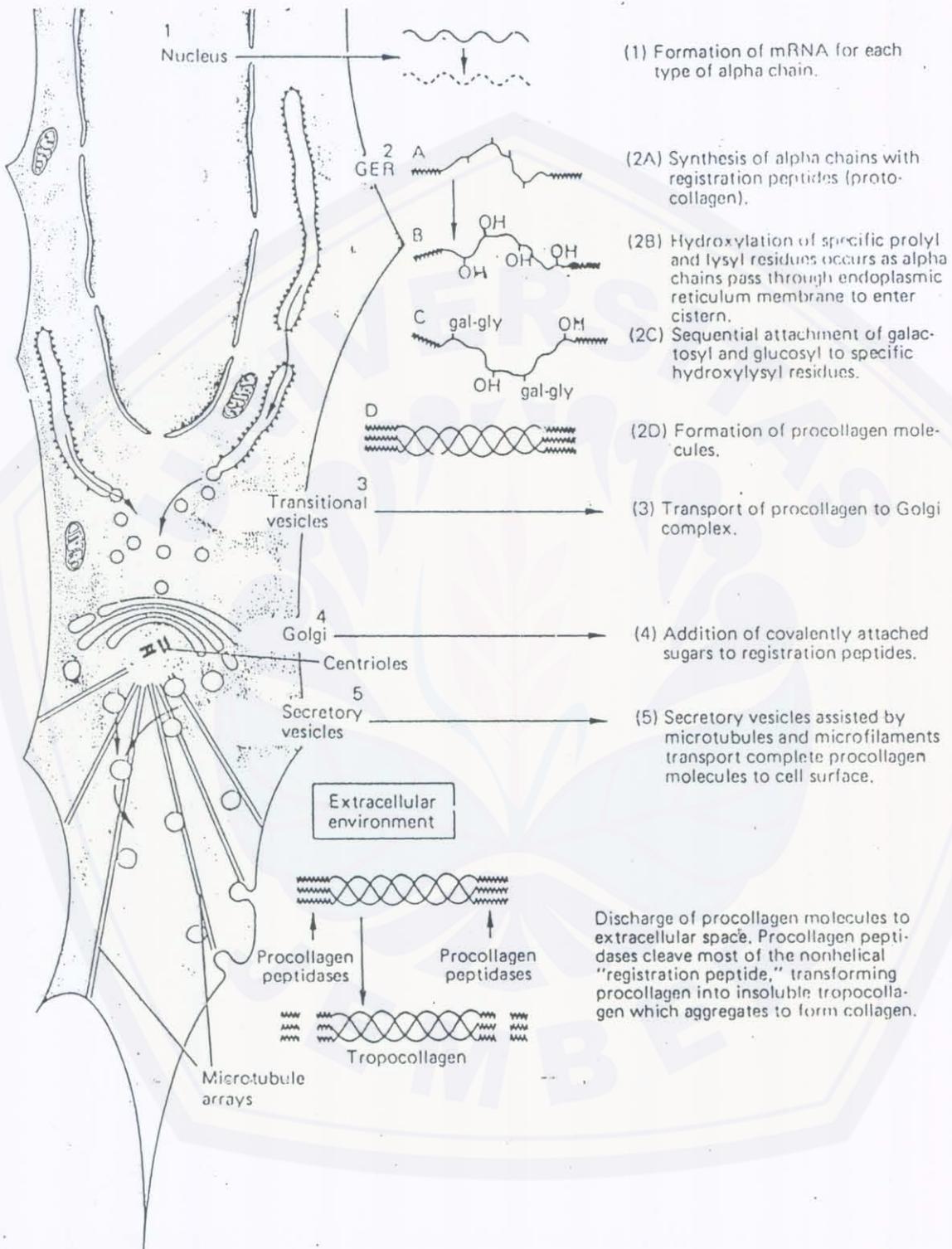
semuanya menghasilkan kolagen. Pembentukan kolagen melalui beberapa tahap (Gambar 3.), antara lain :

1. Rantai alfa polipeptida, protokolagen, di susun pada poliribosom yang berikatan dengan membran retikulum endoplasma dan kemudian dimasukkan ke dalam sisterna tersebut. Rantai polipeptida ini lebih panjang dari pada rantai alfa dari kolagen yang *mature*.
2. Hidroksi prolin dan lisin terjadi setelah terbentuk protokolagen. Hidroksilasi itu mulai setelah rantai polipeptida tersebut, protokolagen, mencapai panjang minimum tertentu dan masih dalam ribosom. Proses ini melibatkan enzim hidroksilase, oksigen, zat besi, dan vitamin C.
3. Glikosilasi hidroksi lisin terjadi setelah hidroksilasinya; berbagai jenis kolagen mempunyai karbohidrat dalam jumlah berbeda-beda dalam bentuk galaktosa atau glikosil galaktosa yang berikatan dengan hidroksilisin.
4. Tiap rantai alfa di sintesa dengan suatu panjang peptida tambahan pada kedua ujung terminal, NH_2 - dan COOH - , yang di sebut *registrastion peptide* yang membantu pendaftaran yang baik dari rantai alfa tersebut. Panjang tambahan peptida pada ujung terminal tersebut memegang peranan khusus yaitu mereka membantu dalam penyusunan atau penjajaran ketiga rantai alfa menjadi spiral tripel dari molekul tropokolagen.
5. Rakitan protokolagen yang mungkin di mulai dalam sisterna dan molekul protokolagen kemudian dipindahkan ke kompleks golgi dan dari situ ke vakuol sekresi. Di luar sel, protokolagen peptidase, memutuskan kelebihan panjang peptida untuk membentuk tropokolagen dari protokolagen.
6. Molekul-molekul tropokolagen kemudian bergabung dengan cara tertentu untuk membentuk satuan serat kolagen (Junqueira & Carneiro, 1988; Lesson *et al.*, 1996; Walter *et al.*, 1984).



Gambar 2. : Susunan kolagen. Diagram (atas) memperlihatkan susunan mikrofibril kolagen. Mikrograf elektron (tengah) satu mikrofibril kolagen terpulaskas positif dengan asetat uranil, 185000X. (Bawah) memperlihatkan satu mikrofibril terpulaskas negatif dengan asam fototungstat, 430000X.

Sumber : Lesson *et al.*, 1996



Gambar 3. : Gambaran skematis peristiwa molekuler dan partisipasi organel yang digunakan dalam sintesa kolagen

Sumber : Junqueira & Carneiro, 1988



2.3 Proses Penyembuhan Luka

Luka adalah hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh. Keadaan ini dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan (Sjamsuhidajat & Jong, 1997).

Menurut Schwartz dkk (1995), jenis-jenis penyembuhan luka ada tiga yaitu :

1. Penutupan luka primer

Jaringan yang terputus dirapatkan dengan bantuan benang, klip, dan perban perekat. Setelah beberapa waktu, maka sintesis, penempatan, dan pengerutan jaringan kolagen akan memberikan kekuatan dan integritas pada jaringan tersebut. Pertumbuhan kolagen tersebut sangat penting pada tipe penyembuhan ini.

2. Penutupan primer tertunda

Perapatan jaringan di tunda beberapa hari setelah luka di buat atau terjadi. Penundaan penutupan luka ini bertujuan mencegah infeksi pada luka-luka yang jelas terkontaminasi oleh bakteri, benda asing, atau mengalami trauma jaringan yang hebat.

3. Penutupan luka sekunder

Batas-batas luka dibiarkan terbuka dan akhirnya akan saling mendekat oleh proses biologis kontraksi luka.

Sedangkan fase-fase penyembuhan luka antara lain :

1. Fase inflamasi

Fase ini terjadi sejak terbentuknya luka sampai kira-kira hari kelima. Terjadinya luka baik yang bersifat traumatik atau yang terbentuk pada pembedahan menyebabkan perdarahan dari pembuluh darah yang rusak. Vasokonstriksi segera terjadi sebagai akibat dilepaskannya katekolamin. Bradikinin, serotinin, dan histamin merupakan senyawa vasoaktif lain yang dilepaskan oleh sel mast ke jaringan sekitar. Senyawa-senyawa ini mengawali peristiwa diapedesis, yaitu keluarnya sel-sel intravaskular ke dalam ruang ekstrasvaskular daerah luka. Suatu bekuan darah yang terbentuk dari trombosit menghasilkan fibrin yang bersifat hemostatik dan membentuk jaringan yang akan menampung migrasi lebih lanjut sel-sel inflamasi dan fibroblas. Pembentukan

kolagen pada fase ini baru sedikit, dan luka hanya dipertautkan oleh fibrin yang amat lemah.

2. Fase proliferasi

Fase proliferasi ini disebut juga fase fibroplasia yang berlangsung dari akhir fase inflamasi sampai kira-kira akhir minggu ketiga. Fibroblas berasal dari sel mesenkim yang belum berdiferensiasi menghasilkan mukopolisakarida, asam aminoglisin, prolin yang merupakan bahan dasar kolagen serat yang akan mempertautkan luka. Pada fase ini luka dipenuhi oleh sel radang, fibroblas, dan kolagen, membentuk jaringan berwarna kemerahan dengan permukaan yang berbenjol yang disebut jaringan granulasi. Fase ini juga ditandai oleh adanya sintesis kolagen yang dimulai dalam 24 jam setelah cedera, namun tidak akan mencapai puncaknya hingga 5 hari kemudian. Setelah 7 hari, sintesis kolagen akan berkurang secara perlahan-lahan. *Remodelling* luka mengacu kepada keseimbangan antara sintesis kolagen dan degradasi kolagen.

3. Fase penyudahan

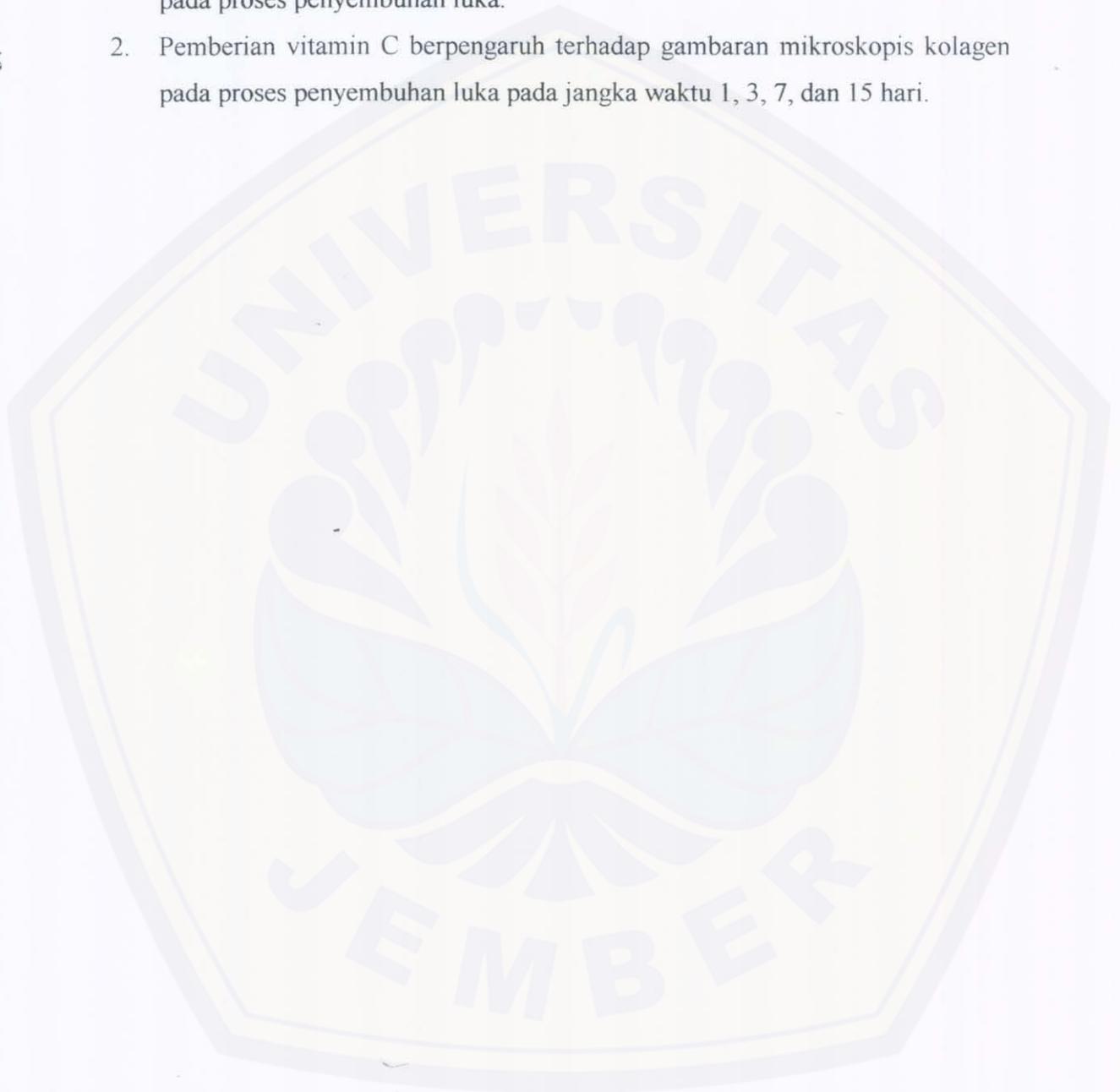
Pada fase ini terjadi proses pematangan yang terdiri dari penyerapan kembali jaringan yang berlebih, pengerutan sesuai gaya gravitasi, dan akhirnya perubahan kembali jaringan yang baru terbentuk. Fase ini dapat berlangsung berbulan-bulan, dan dinyatakan berakhir kalau semua tanda radang telah lenyap (Schwartz *et al.*, 1995; Sjamsuhidajat & Jong, 1997).

Terdapat tiga mekanisme biologis yang terlibat dalam proses penyembuhan luka. *Epitelialisasi* adalah proses dimana keratinosit bermigrasi dan membelah diri untuk melapisi kulit kembali atau mukosa yang kehilangan ketebalan parsial. *Kontraksi* adalah proses dimana terjadi penutupan spontan dari luka kulit dengan ketebalan penuh atau konstiksi dari organ-organ tubular. *Deposisi kolagen* adalah proses dimana fibroblas diambil pada tempat cedera dan menghasilkan matriks jaringan ikat yang baru. Kolagen yang mengkerut dalam jaringan ikat ini memberikan kekuatan dan integritas pada semua luka menyembuh dengan baik (Schwartz *et al.*, 1995).

2.4 Hipotesa Penelitian

Pada penelitian ini diajukan hipotesa bahwa :

1. Pemberian vitamin C berpengaruh terhadap gambaran mikroskopis kolagen pada proses penyembuhan luka.
2. Pemberian vitamin C berpengaruh terhadap gambaran mikroskopis kolagen pada proses penyembuhan luka pada jangka waktu 1, 3, 7, dan 15 hari.



III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

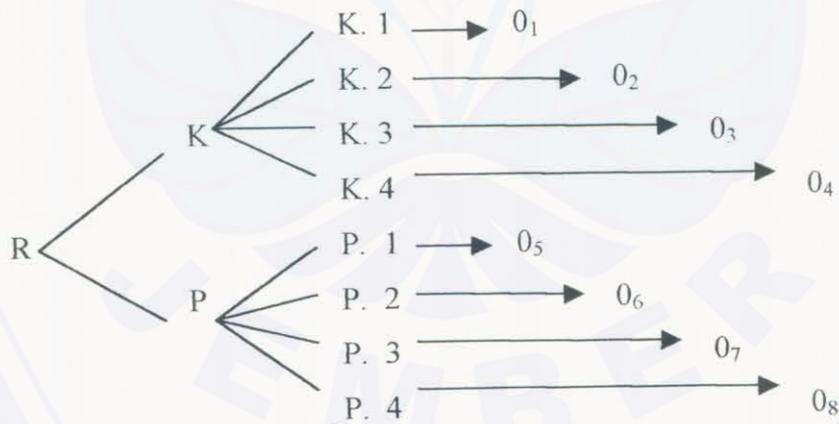
Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-September 2004. Bertempat Di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Histologi-Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Posttest Only Control Group Design*, yaitu rancangan penelitian yang terdiri dari kelompok eksperimen dan kelompok kontrol, kemudian dilakukan perlakuan dan postes tanpa pretes untuk menentukan data awal (Notoatmodjo,2002). Pengelompokan subyek dan cara perlakuannya dapat dilihat pada skema berikut :



Keterangan :

R : Randomisasi

K : Kelompok kontrol

P : Kelompok perlakuan

K.1 : Kontrol tanpa diberi vitamin C dikorbakan pada hari ke-1

- K.2 : Kontrol tanpa diberi vitamin C dikorbankan pada hari ke-3
K.3 : Kontrol tanpa diberi vitamin C dikorbankan pada hari ke-7
K.4 : Kontrol tanpa diberi vitamin C dikorbankan pada hari ke-15
P.1 : Perlakuan diberi vitamin C dikorbankan pada hari ke-1
P.2 : Perlakuan diberi vitamin C dikorbankan pada hari ke-3
P.3 : Perlakuan diberi vitamin C dikorbankan pada hari ke-7
P.4 : Perlakuan diberi vitamin C dikorbankan pada hari ke-15
 $O_1 - O_8$: Data hasil pengamatan

3.4 Sampel

3.4.1 Populasi Sampel

Populasi dan subyek penelitian adalah tikus putih jenis wistar (*Rattus Norvegicus*).

3.4.2 Jumlah Sampel

Jumlah sampel minimal dihitung dengan rumus berikut (Stell & Torie dalam Harmono, 2003) :

$$(t - 1)(n - 1) \geq 20$$

Dengan menentukan jumlah kelompok (t) sebanyak 8 kelompok, maka besar sampel masing-masing kelompok :

$$(8 - 1)(n - 1) \geq 20$$

$$n \geq 3,86 = 4 \text{ ekor}$$

Jadi jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 32 ekor tikus yang dibagi menjadi dua kelompok, kelompok kontrol dan kelompok post-test. Masing-masing kelompok diamati dalam empat waktu yang berbeda. Jadi jumlah sampel tiap – tiap kelompok sebanyak 4 ekor tikus.

Bila ditentukan tingkat kematian 20 %, maka jumlah sampel tiap-tiap kelompok sebanyak 5 ekor tikus.

3.4.3 Kriteria Sampel

Kriteria sampel yang akan digunakan adalah sebagai berikut :

1. Tikus dengan jenis kelamin jantan
2. Tikus dengan berat ± 200 g
3. Usia tikus ± 2 bulan

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah vitamin C. Vitamin C disini adalah vitamin C IPI, dimana tiap tabletnya mengandung 50mg vitamin C.

3.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah :

1. Proses penyembuhan luka pada gingiva tikus tanpa pemberian vitamin C.
2. Pembentukan kolagen pada proses penyembuhan luka pada gingiva tikus dengan pemberian vitamin C.

3.5.2 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dari penelitian ini adalah :

1. Umur dan jenis kelamin hewan coba
Umur hewan coba diusahakan 8 minggu (2 bulan) dengan jenis kelamin jantan.
2. Tempat dan cara pemeliharaannya
Hewan coba ditempatkan dan dipelihara di laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember serta dirawat oleh seorang petugas yang tetap dengan pemberian makanan standar (pokpand) dan diberi minum (air) secara *ad libitum*.
3. Cara kerja
Semua hewan coba dianestesi dengan ketalar kemudian dilukai dengan melakukan pencabutan pada molar 1 rahang bawah kiri menggunakan arteri klem dan sonde bengkok. Tapi sebelumnya pada kelompok perlakuan diberikan vitamin C sesuai dengan dosisnya yaitu 1,08 mg/gBB/hari tiap jam 08.00-10.00 WIB. Pada hari pertama, kelompok satu pada masing-masing

perlakuan dikorbankan, lalu dilakukan pengambilan jaringan yaitu dengan memotong rahang bawahnya. Setelah itu dilakukan tahap pembuatan preparat. Kemudian dilakukan pengamatan perbedaan jumlah kolagen dibawah mikroskop antara perlakuan dengan pemberian vitamin dan kontrol. Kelompok 2, 3, dan 4 juga di beri perlakuan yang sama pada hari ke 3, 7, dan 15.

4. Waktu perlakuan
Perlakuan hewan coba dilaksanakan selama 14 hari.
5. Tehnik pewarnaan menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*
6. Cara pengukuran
Pengamatan sediaan dilakukan dengan menggunakan *ocular graticule* yang di pasang pada mikroskop cahaya (leica), dengan pembesaran 400 – 450 kali.

3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah :

1. Kolagen : adalah salah satu jenis substansi intersel yang berbentuk (fibrosa) yang berfungsi untuk memberi kekuatan dan penyokong bagi jaringan, serta berperan penting dalam perkembangan jaringan.
2. Pembentukan kolagen : jumlah kolagen sebagai parameter dalam proses penyembuhan luka yang dihitung dengan *ocular graticule*, kemudian data diskoring.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- 1 . Kandang plastik
- 2 . *Waterbath* (Memeri)
- 3 . Sarung tangan
- 4 . Masker
- 5 . Sonde lambung
- 6 . Timbangan (OHAUS)

- 7 . Neraca (OHAUS)
- 8 . *Disposable syringe* (Terumo)
- 9 . Arteri klem
- 10 . Sonde bengkok
- 11 . Skalpel
- 12 . Pinset
- 13 . Mikrotom (Leica)
- 14 . Pot untuk tempat fiksasi
- 15 . Kertas saring
- 16 . Kuas
- 17 . *Oven* (Memert)
- 18 . Kaca obyek
- 19 . *Cover glass*
- 20 . Rak kaca obyek
- 21 . Mikroskop cahaya (Leica)
- 22 . Erlenmeyer
- 23 . *Ocular graticule*

3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- 1 . Vitamin C dengan dosis 1,08 mg/200 gBB/hari
- 2 . Akuades
- 3 . *Aquabides*
- 4 . Cairan anastesi ketalar
- 5 . *Eter chloride*
- 6 . Formalin 10%
- 7 . *Xylol*
- 8 . Alkohol absolut
- 9 . Alkohol 95%
- 10 . Parafin
- 11 . *Formaldehide*

12. Cat *Haematoxylin Eosin*

13. Air

3.8 Konversi Dosis Pemberian Vitamin C Dari Manusia Ke Tikus

1. Konversi dosis

Menurut Wattimena dan Widiyanto (1993), konversi dosis manusia (± 70 kg) ke tikus (200 g) = 0,018. Sedangkan dosis vitamin C ke manusia per hari adalah 60 mg/hari (Ganiswarna dkk, 2001). Sehingga dosis vitamin C ke tikus adalah

$$= 0,018 \times 60$$

$$= 1,08 \text{ mg}/200 \text{ gBB}/\text{hari}$$

2. Pembuatan larutan vitamin C

Takaran peroral = 0,02 ml/gBB (Ghosh dan Schild, 1971)

$$200 \text{ gr} \approx 1,08 \text{ mg}$$

$$1 \text{ gr} \approx \frac{1,08 \text{ mg}}{200}$$

$$\frac{1,08 \text{ mg}}{200} \approx 0,02 \text{ ml}$$

$$1 \text{ ml} = \frac{1,08}{4} = 0,27 \text{ mg}$$

dalam 1ml aquadest terdapat 0,27 mg vitamin C

3.9 Konversi Dosis Ketalar

$$\text{Ketalar (X)} = \frac{90}{1000} \times \text{Berat Badan Tikus}$$

$$\text{Aquabides (Y)} = \frac{1}{3} X$$

$$\text{Dosis Anastesi} = (X+Y) \text{ mg/g}$$

(Wang dkk, 1997)

3.10 Prosedur Penelitian

3.10.1 Tahap Persiapan

Tahap persiapan yang dilakukan adalah :

- a. Tikus diadaptasikan dengan lingkungan baru \pm 1 minggu dengan diberi makanan standar (pokpand) dan minum (air) secara *ad libitum*.
- b. Dosis vitamin C

Dosis vitamin C menurut konversi dosis pemberian vitamin C dari manusia ke tikus adalah 1,08 mg/200gBB/hari. Sebelumnya vitamin C ditimbang sebanyak 0,27mg, kemudian dilarutkan dalam akuades 1ml. Untuk vitamin C yang disondekan ke dalam tikus yaitu 4 ml/ 200gBB/hari. Jadi jumlah vitamin C yang disondekan pada masing-masing tikus berbeda tergantung berat badan.

3.10.2 Tahap Pengelompokan Subyek

Jumlah sampel sebanyak 32 ekor tikus Wistar dikelompokkan menjadi dua, yaitu :

1. Kelompok kontrol
terdiri dari 16 ekor tikus yang diberi makanan standar (pokpand) dan minum (air) tanpa diberi vitamin C.
2. Kelompok perlakuan
terdiri dari 16 ekor tikus yang diberi makanan standar (pokpand) dan minum (air), serta diberi vitamin C per oral 1,08 mg/200 gBB/hari selama 14 hari.

3.10.3 Tahap Pemberian Vitamin C

Kelompok 2 diberi vitamin C secara peroral dengan sonde lambung, yaitu :

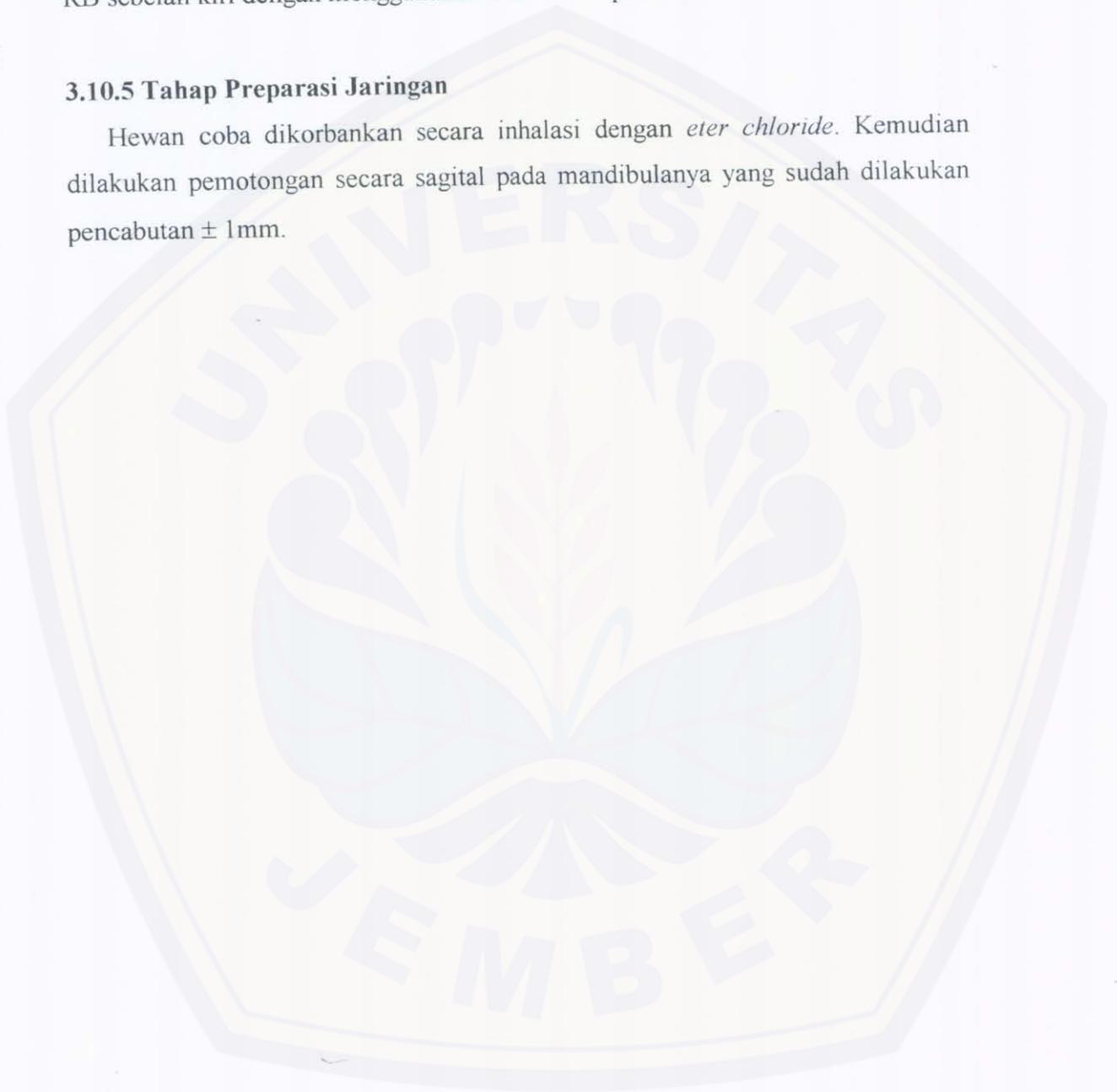
1. 4 tikus kelompok pertama diberi vitamin C pada hari ke-0
2. 4 tikus kelompok kedua diberi vitamin C pada hari ke-0 sampai hari ke-2
3. 4 tikus kelompok ketiga diberi vitamin C pada hari ke-0 sampai hari ke-6
4. 4 tikus kelompok keempat diberi vitamin C pada hari ke-0 sampai hari ke-14
tiap hari dalam waktu yang sama, yaitu antara pukul 08.00-10.00 WIB.

3.10.4 Tahap Perlukaan

Hewan coba dianastesi intramuskular menggunakan ketalar (ketamin) yang dicampur aquabides. Selanjutnya dilakukan pencabutan pada gigi molar pertama RB sebelah kiri dengan menggunakan arteri klem pada hari ke-0.

3.10.5 Tahap Preparasi Jaringan

Hewan coba dikorbankan secara inhalasi dengan *eter chloride*. Kemudian dilakukan pemotongan secara sagital pada mandibulanya yang sudah dilakukan pencabutan ± 1 mm.



3.10.6 Tahap Pembuatan Sediaan

Skema tahap pembuatan sediaan dengan metode parafin dapat dilihat pada halaman berikutnya :

fiksasi dengan *formaldehyde*

↓
pencucian (*washing*)

↓
dekalsifikasi

↓
dehidrasi

↓
penjernihan (*clearing*)

↓
infiltrasi parafin

↓
penanaman (*embedding*)

↓
pemotongan (*section*)

↓
penempelan (*affixing*)

↓
deparafinasi

↓
pewarnaan (*staining*)

↓
penutupan (*mounting*)

↓
labelling

Gambar 4. : Skema tahap pembuatan sediaan jaringan

Sumber : Suntoro, 1983

3.10.7 Tahap Pengecatan *Hematoxylin-Eosin (HE)*

Menurut Ross (1985), tahap pengecatan HE adalah sebagai berikut :

1. Sediaan dimasukkan ke dalam *xylol* selama 2 menit lalu diulangi dengan memasukkannya kembali ke dalam *xylol* dalam wadah yang berbeda selama 2 menit.
2. Fiksasi sediaan dengan larutan alkohol absolut selama 1 menit lalu ulangi dengan memasukkannya kembali ke dalam alkohol dalam wadah yang berbeda selama 1 menit.
3. Lakukan fiksasi kedua dengan memasukkan sediaan ke dalam alkohol 95% selama 1 menit lalu diulangi dengan memasukkannya kembali ke dalam alkohol dalam wadah yang berbeda selama 1 menit.
4. Bilas sediaan dengan air mengalir selama 10-15 menit, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan zat warna.
5. Sediaan digenangi dengan zat warna HE selama 15 menit. Sediaan diwarnai untuk meningkatkan kontras alami dan untuk memperjelas berbagai unsur sel dan jaringan serta bahan ekstrinsik.
6. Bilas kembali dengan air mengalir selama 20 menit.
7. Sediaan digenangi *Eosin* selama 15 detik-2 menit.
8. Menurut Leeson dkk (1996), sediaan dicelupkan ke dalam alkohol dengan konsentrasi yang makin meningkat antara lain alkohol 95% selama 2 menit lalu ulangi hal yang sama dengan wadah yang berbeda. Kemudian sediaan dicelupkan ke dalam alkohol absolut selama 2 menit dan ulangi hal ini sebanyak 2 kali dengan menggunakan wadah yang berbeda.
9. Setelah melalui alkohol absolut sediaan dipindahkan ke dalam *xylol* selama 2 menit lalu ulangi hal ini sebanyak 2 kali dengan menggunakan wadah yang berbeda.
10. Setelah dikeluarkan dari *xylol* dilakukan mounting.
11. Beri setetes medium saji yang mempunyai indeks refraksi hampir sama dengan indeks refraksi kaca, misalnya balsam kanada. Kemudian sediaan itu ditutup dengan kaca penutup dan dibiarkan mengering.

3.10.8 Tahap Pengamatan Pembentukan Kolagen

Sediaan jaringan diamati dengan menggunakan *ocular graticule* yang di pasang pada mikroskop cahaya dengan menggunakan perbesaran 400-450 kali. Pada *ocular graticule* terdapat kamar-kamar yang berukuran 0,12 mikron, kolagen diamati pada setiap kamar tersebut.

Menurut Asmara (1984), hasil pengamatan kolagen pada sediaan histologis dinilai dengan kriteria sebagai berikut :

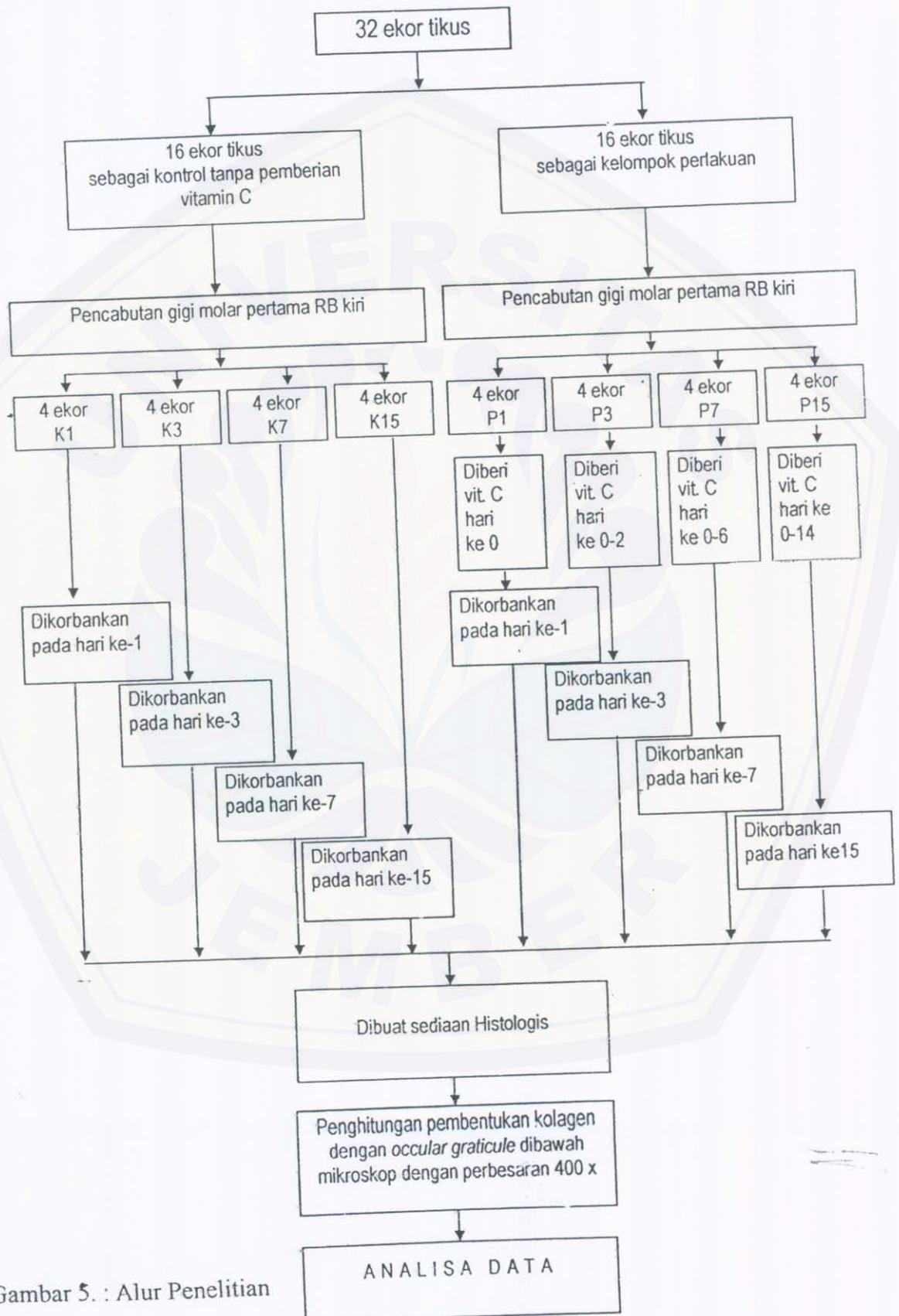
- (-) : Tidak tampak adanya kolagen
- (+) : Tampak adanya kolagen tampak menyebar (tipis)
- (++) : Tampak adanya kolagen tampak mengelompok (tebal)
- (+++)

Dari kriteria penilaian tersebut dilakukan perubahan nilai menjadi bentuk angka atau skoring dengan ketentuan sebagai berikut :

- (-) : 0
- (+) : 1
- (++) : 2
- (+++)

Tiap kamar dalam *oculargraticule* diukur dengan kriteria tersebut, kemudian dilakukan perubahan nilai menjadi bentuk angka (skoring). Hasil skoring pada tiap pengamatan di rata-rata sesuai dengan sub kelompoknya.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 5. : Alur Penelitian

3.11 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode statistik dengan tingkat kemaknaan 95% ($\alpha = 0.05$). Selanjutnya menurut Wijaya (2000), digunakan metode statistik non parametrik *Kruskall-Wallis Test* untuk mengetahui perbedaan pembentukan kolagen secara keseluruhan setelah jangka 1, 3, 7, dan 15 hari pada kedua kelompok.

U-Mann Whitney Test untuk menguji perbedaan pembentukan kolagen pada dua sub kelompok, yaitu :

1. Pada kelompok kontrol

Antara : K1 dengan K3, K1 dengan K7, K1 dengan K15

K3 dengan K7, K3 dengan K15

K7 dengan K15

2. Pada kelompok perlakuan

Antara : P1 dengan P3, P1 dengan P7, p1 dengan P15

P3 dengan P7, P3 dengan P15

P7 dengan P15

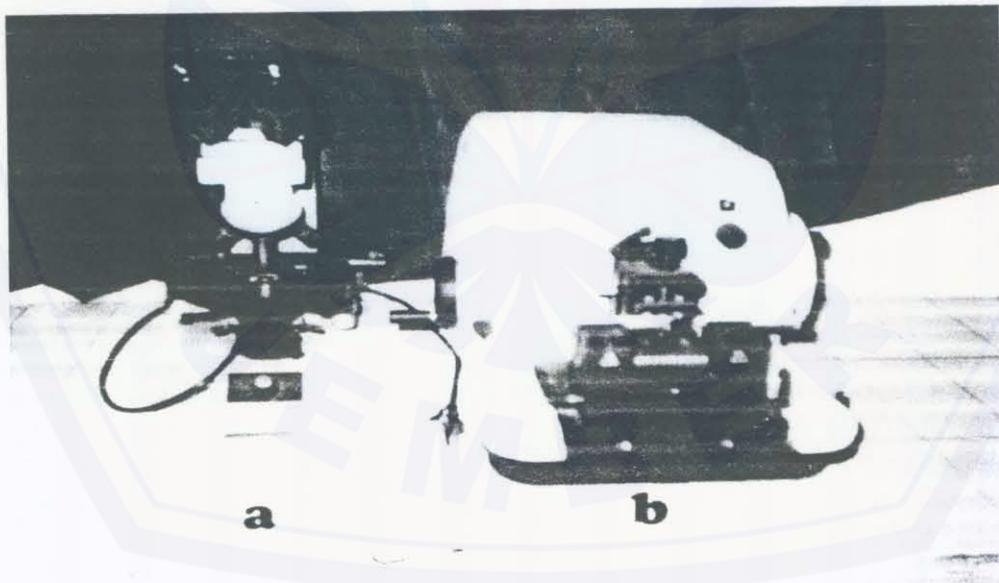
3. Pada kelompok kontrol dan perlakuan

Antara : K1 dengan P1, K3 dengan P3, K7 dengan P7, K15 dengan P15

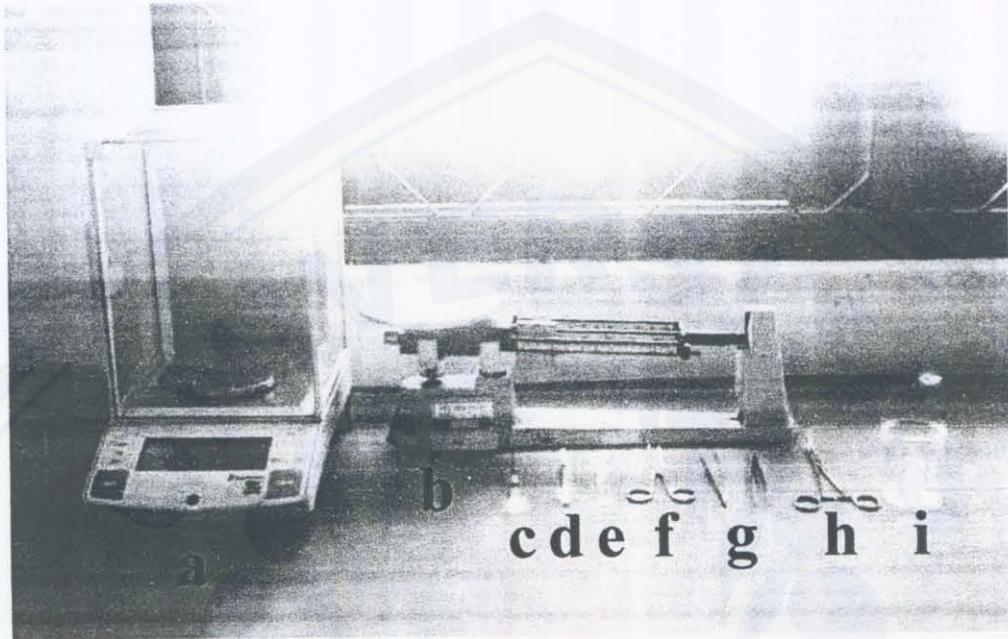
Foto Alat Penelitian



Gambar 6. : Keterangan Foto Alat Penelitian, a. *Waterbath*; b. Oven



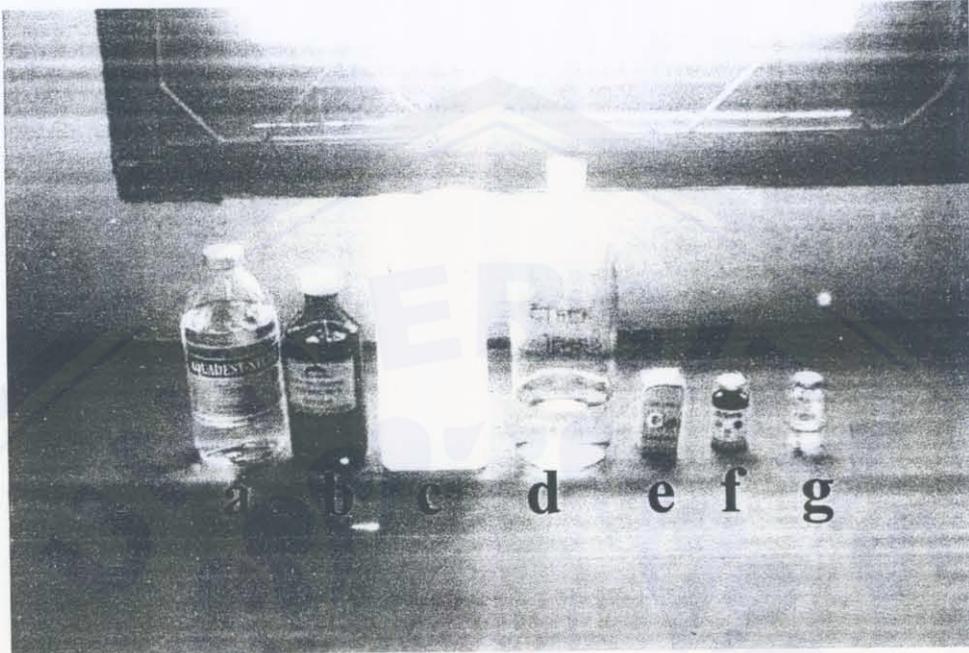
Gambar 7. : Keterangan Foto Alat Penelitian, a. Mikroskop; b. Mikrotom



Gambar 8. : Keterangan Foto Alat Penelitian:

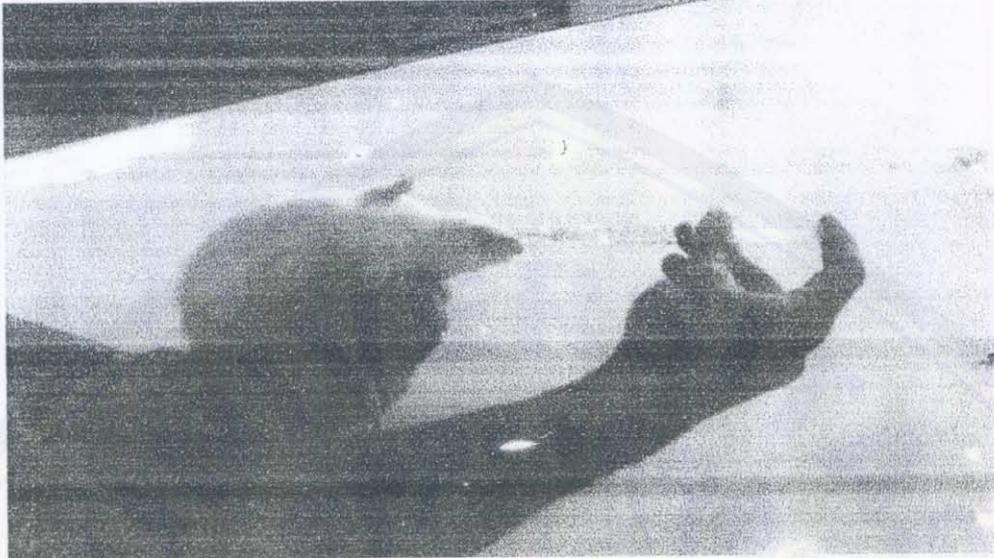
- a. Neraca OHAUS
- b. Timbangan
- c. Sonde lambung
- d. *Disposable syringe*
- e. Skalpel
- f. Gunting
- g. Pinset
- h. Arteri klem
- i. Gelas ukur

Foto Bahan Penelitian



Gambar 9. : Keterangan Bahan Penelitian:

- a. Akuades steril
- b. Alkohol 95%
- c. Formalin 10%
- d. *Eter chloride*
- e. Vitamin C
- f. Cairan anastesi ketalar
- g. *Aquabides*



Gambar 10. : Pemberian Vitamin C pada Tikus dengan Menggunakan Sonde Lambung



Unit UPT Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER

JEMBER

IV. HASIL DAN ANALISA DATA

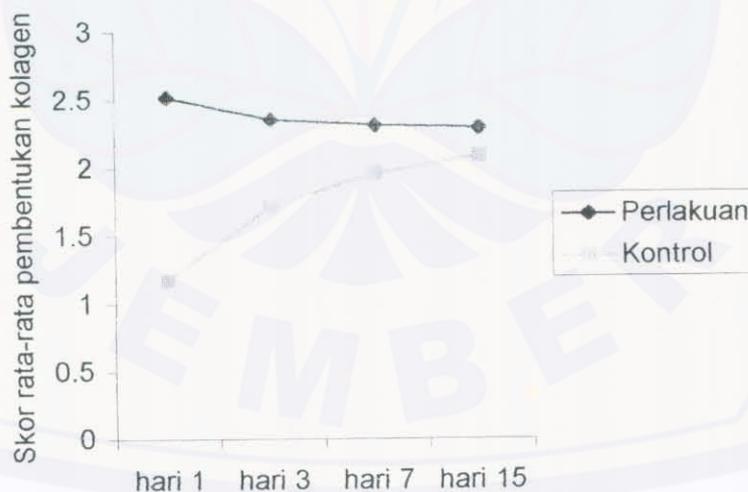
4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan selama 5 bulan antara bulan Mei sampai September. Jumlah binatang percobaan sebanyak 32 ekor tikus jantan dengan berat badan berkisar ± 200 g. Tikus-tikus tersebut di bagi dalam dua kelompok, yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P) yang masing-masing dibagi lagi menjadi 4 subkelompok yaitu P1, P3, P7, P15, K1, K3, K7, dan K15.

Data rata-rata dari hasil pengamatan histologis (lima lapangan pandang) dengan menggunakan *ocular graticule* tampak pada tabel 1.

Tabel 1. : Hasil rata-rata pengamatan histologis sabut kolagen

Hewan	P1	P3	P7	P15	K1	K3	K7	K15
1	2.44	2.40	2.28	2.32	1.04	1.28	1.88	2.28
2	2.64	2.40	2.28	2.24	1.12	1.60	1.96	2.04
3	2.60	2.48	2.32	2.32	1.24	2.00	2.00	2.04
4	2.40	2.12	2.36	2.28	1.28	2.00	2.00	2.00
Rata-rata	2.52	2.35	2.31	2.29	1.17	1.72	1.96	2.09
Simpang baku	0.12	0.16	0.04	0.04	0.11	0.35	0.06	0.13



Gambar 11. : Grafik rata-rata pembentukan kolagen

4.2 Analisa Data

Pada tabel 1. tampak serabut kolagen pada kelompok perlakuan yang diberi vitamin C rata-rata nilainya lebih besar dibandingkan nilai kelompok kontrol. Selanjutnya *Kruskal-Wallis Test* untuk mengetahui perbedaan pembentukan kolagen tiap subkelompok.

Tabel 2. : Hasil *Kruskal-Wallis Test*

kelompok	Jumlah sampel	Kuadrat tengah
K1	4	2.63
K3	4	8.13
K7	4	9.25
K15	4	14.88
P1	4	29.75
P3	4	25.00
P7	4	21.75
P15	4	20.63

Tabel 3. : Uji Kemaknaan serabut kolagen tiap subkelompok

Derajat kebebasan	7
Probabilitas	.000

Data hasil *Kruskal-Wallis Test*

Hipotesis :

Ho : Hasil rata-rata pembentukan kolagen adalah sama

H1 : Hasil rata-rata pembentukan kolagen adalah tidak sama

Pengambilan keputusan

Jika probabilitas $> 0,05$ maka Ho di terima

Jika probabilitas $< 0,05$ maka Ho di tolak

Terlihat perbedaan signifikan yaitu 0,000 ($p < 0,05$) tiap subkelompok yang berarti Ho di tolak, atau terdapat perbedaan pembentukan kolagen antara kelompok tanpa pemberian vitamin C (kelompok kontrol) dan kelompok dengan pemberian vitamin C (kelompok perlakuan).

Mann Whitney Test digunakan untuk mengetahui perbandingan pembentukan serat kolagen masing-masing pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada jangka waktu 1, 3, 7, dan 15 hari.

Tabel 4. : Hasil perbandingan pembentukan kolagen pada kelompok kontrol

Perlakuan	N	Kuadrat Tengah	Jumlah kuadrat	P
K1	4	2.63	10.50	0.028
K3	4	6.38	25.50	
K1	4	2.50	10.00	0.020
K7	4	6.50	26.00	
K1	4	2.50	10.00	0.020
K15	4	6.50	26.00	
K3	4	4.00	16.00	0.538
K7	4	5.00	20.00	
K3	4	2.75	11.00	0.037
K15	4	6.25	25.00	
K7	4	2.75	11.00	0.037
K15	4	6.25	25.00	

Tabel 5. : Hasil perbandingan pembentukan kolagen pada kelompok perlakuan

Perlakuan	N	Kuadrat Tengah	Jumlah Kuadrat	P
P1	4	5.75	23.00	0.139
P3	4	3.25	13.00	
P1	4	6.50	26.00	0.020
P7	4	2.50	10.00	
P1	4	6.50	26.00	0.020
P15	4	2.50	10.00	
P3	4	5.50	22.00	0.243
P7	4	3.50	14.00	
P3	4	5.50	22.00	0.243
P15	4	3.50	14.00	
P7	4	5.00	20.00	0.544
P15	4	4.00	16.00	

Mann Whitney Test juga digunakan untuk membandingkan kecepatan pembentukan kolagen antar sub kelompok, yaitu antara K1 dan P1, K3 dan P3, K7 dan P7, K15 dan P15.

Tabel 6. : Membandingkan kecepatan pembentukan kolagen antar subkelompok

Perlakuan	N	Kuadrat Tengah	Jumlah Kuadrat	p
K1	4	2.50	10.00	0.021
P1	4	6.50	26.00	
K3	4	2.50	10.00	0.019
P3	4	6.50	26.00	
K7	4	2.50	10.00	0.019
P7	4	6.50	26.00	
K15	4	2.88	11.50	0.056
P15	4	6.13	24.50	

Data Hasil *Mann Whitney Test*

Hipotesis :

Ho : Hasil rata-rata perbandingan pembentukan kolagen adalah sama

H1 : Hasil rata-rata perbandingan pembentukan kolagen adalah tidak sama

Pengambilan keputusan

Jika probabilitas $> 0,05$ maka Ho di terima

Jika probabilitas $< 0,05$ maka Ho di tolak

Hasil perbandingan pembentukan kolagen menggunakan *Mann Whitney Test* menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) yang berarti Ho di tolak masing- masing pada :

- Perbandingan pembentukan kolagen pada kelompok kontrol (tabel 4.) adalah : K1 dengan K3, K1 dengan K7, K1 dengan K15, K3 dengan K15, K7 dengan K15.
- Perbandingan pembentukan kolagen pada kelompok perlakuan (tabel 5.) adalah : P1 dengan P7, P1 dengan P15.
- Perbandingan pembentukan kolagen antar subkelompok adalah : K1 dengan P1, K3 dengan P3, K7 dengan P7.

V. PEMBAHASAN

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 32 ekor tikus yang dibagi menjadi dua kelompok, kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol adalah kelompok tanpa pemberian vitamin C, sedangkan kelompok perlakuan adalah kelompok dengan pemberian vitamin C. Masing-masing kelompok diamati dalam empat waktu yang berbeda. Data yang di dapat seperti terpar pada tabel 1 menunjukkan data berskala ordinal.

Dalam rongga mulut kesembuhan jaringan dapat dipengaruhi beberapa faktor, antara lain : lokasi, fisik, sirkulasi darah, nutrisi umur, infeksi, hormonal, dan faktor-faktor lain yang tidak jelas. Suatu kesembuhan luka dalam rongga mulut dapat dipengaruhi oleh faktor lokal dan sistemik (Shafer *et al.*, 1977; Pories *et al.*, dalam Hariadi, 1985).

Proses penyembuhan dari luka hasil pencabutan gigi tidak berbeda dengan proses penyembuhan dari berbagai bentuk luka di bagian lain dari tubuh. Perbedaannya hanya pada bentukan anatomi luka, yaitu terdapatnya soket setelah pencabutan gigi dilakukan (Shafer *et al.*, 1974).

Proses penyembuhan berhubungan dengan fungsi fibroblas membentuk dan mengabsorpsi kolagen pada bagian tepi luka yang terbuka yang mengakibatkan terjadinya kontraksi dengan reaksi berupa terjadinya differensiasi kolagen menjadi kolagen matang yang akan mengakibatkan tertutupnya luka oleh serat kolagen yang matang tersebut (Walter & Hamilton dalam Trenggono, 1996). Oleh karena itu, dalam mengamati proses penyembuhan luka, pembentukan kolagen selalu dijadikan parameter (Nurrohman *et al.*, 2002).

Tindakan pengambilan/pencabutan gigi memicu kejadian-kejadian yaitu peradangan, epitelisasi, fibroplasia dan remodeling seperti yang terjadi pada kulit atau luka pada mukosa. Reaksi lokal pertama setelah dilakukan ekstraksi gigi adalah terjadinya perdarahan pada soket akibat terputusnya pembuluh darah pasca pencabutan. Tubuh akan berusaha menghentikannya dengan vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh darah dan hemostatis. Hemostatis terjadi karena trombosit yang keluar dari pembuluh darah saling melengket, dan bersama dengan

jala fibrin yang terbentuk membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah (Sjamsuhidajat & Jong, 1997; Yuwono *et al.*, 2001).

Hasil skoring pembentukan kolagen pada K1 dan K3 menunjukkan rata-rata yang relatif rendah dibandingkan hasil skoring pada kelompok kontrol yang lain. Pada luka setelah pencabutan gigi, terjadi proliferasi fibroblas dari jaringan ikat bekas ligamen periodontal kelihatan nyata, dan fibroblas-fibroblas itu mulai berkembang di sekitar bekuan darah tempat terbentuknya luka, tetapi pembentukan kolagen baru sedikit dan luka hanya dipertautkan oleh fibrin yang amat lemah. Hal ini terjadi karena kandungan hidroksiprolin di daerah luka masih sangat sedikit pada sekitar tiga hari pertama setelah perlukaan. Namun dengan terjadinya proliferasi fibroblas pada hakekatnya merupakan manifestasi awal dari proses kesembuhan, karena sintesis fibroblas yang akan menghasilkan serabut kolagen berlangsung dalam kecepatan yang tetap, dalam tempo yang relatif singkat (Sjamsuhidajat & Jong, 1997; Shafer *et al.*, 1974; Subiyantoro, 2003; Walter *et al.*, 1984).

Pada tabel 4. juga disebutkan bahwa nilai probabilitas antar subkelompok pada kelompok kontrol mempunyai harga yang bermakna ($p < 0,05$), kecuali pada K3 dan K7. Hal ini kemungkinan terjadi karena pembentukan kolagen pada hari ketujuh mulai mengalami penurunan. Menurut Sjamsuhidajat & Jong, (1997), sintesis kolagen dimulai dalam 24 jam setelah cedera, namun tidak akan mencapai puncaknya hingga lima hari kemudian. Setelah tujuh hari, sintesis kolagen akan berkurang secara perlahan-lahan. Serat kolagen dibentuk dan dihancurkan kembali untuk penyesuaian diri dengan tegangan luka yang cenderung mengerut (Schwartz *et al.*, 1995).

Pembentukan kolagen pada hari ke-14 pada kelompok kontrol menunjukkan nilai yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Hupp & Cotran *dalam* Nurrohman dkk (2002), bahwa pada minggu kedua jumlah jaringan granulasi, kolagen, dan fibroblas akan mencapai jumlah yang besar.

Kolagen merupakan protein serat yang khas yang paling banyak didapatkan pada jaringan mamalia. Asam amino utama yang menyusun kolagen adalah glisin (33,5 %), prolin (12 %), hidroksiprolin (10 %), dan sisanya terdiri

Foto Hasil Penelitian



Gambar 12. : Foto mikroskopik kolagen kelompok kontrol hari ke-1 dengan perbesaran 400X dan pengecatan HE



Gambar 13. : Foto mikroskopik kolagen kelompok kontrol hari ke-3 dengan perbesaran 400X dan pengecatan HE



Gambar 14. : Foto mikroskopik kolagen kelompok kontrol hari ke-7 dengan perbesaran 400X dan pengecatan HE



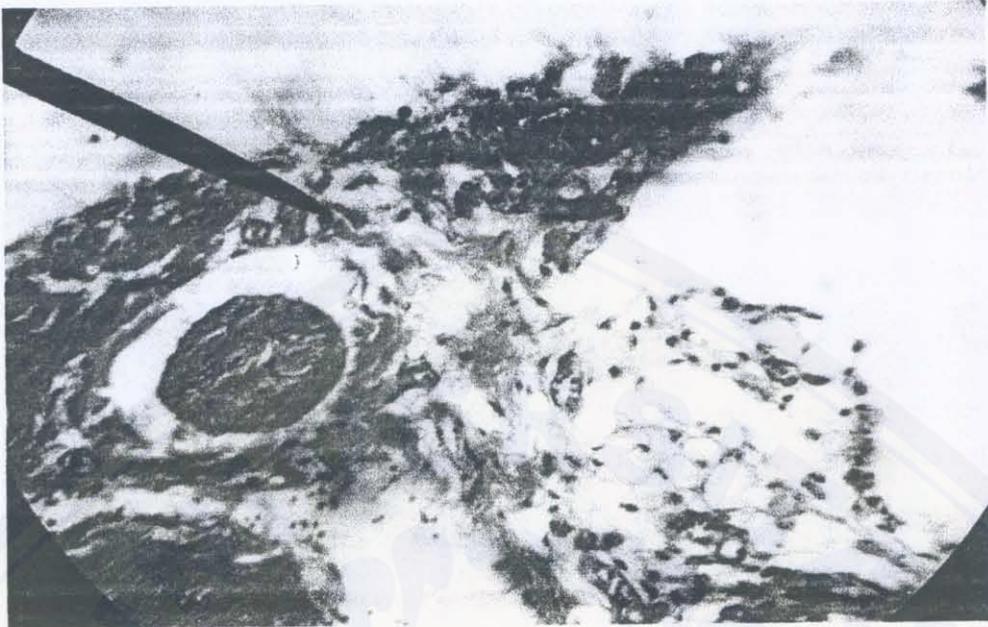
Gambar 15. : Foto mikroskopik kolagen kelompok kontrol hari ke-15 dengan perbesaran 400X dan pengecatan HE



Gambar 14. : Foto mikroskopik kolagen kelompok perlakuan hari ke-1 dengan perbesaran 400X dan pengecatan HE



Gambar 14. : Foto mikroskopik kolagen kelompok perlakuan hari ke-3 dengan perbesaran 400X dan pengecatan HE



Gambar 14. : Foto mikroskopik kolagen kelompok perlakuan hari ke-7 dengan perbesaran 400X dan pengecatan HE



Gambar 14. : Foto mikroskopik kolagen kelompok perlakuan hari ke-15 dengan perbesaran 400X dan pengecatan HE

dari asam amino lain. Biosintesis kolagen dimulai dengan pembentukan protokolagen yang terdiri rantai alfa polipeptida. Hidroksi prolin dan lisin terjadi setelah terbentuk protokolagen. Proses hidroksi ini melibatkan enzim hidroksilase, oksigen, zat besi, dan vitamin C. Tanpa proses hidroksilasi, prokolagen tidak mampu membentuk kolagen fibril yang normal (Murray *et al.*, 1997; Junqueira & Carneiro, 1988).

Hasil penelitian didapatkan bahwa pembentukan kolagen pada luka setelah pencabutan gigi dengan pemberian vitamin C secara peroral lebih banyak dari pada tanpa pemberian vitamin C. Hasil skoring menunjukkan bahwa rata-rata kelompok perlakuan pembentukan kolagennya lebih tinggi dari pada kelompok kontrol. Pengamatan yang dilakukan pada hari ke-1, ke-3, ke-7, dan ke-15 antara kelompok kontrol dan perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Hal ini dibuktikan setelah dilakukan *Kruskal-Wallis Test* dengan hasil probabilitas yaitu $p = 0,000$.

Tindakan bedah pada rongga mulut dapat mengakibatkan turunnya persediaan vitamin C dan vitamin B complex dalam tubuh. Proses pemulihan postoperatif yang mengakibatkan menurunnya kandungan vitamin C dan vitamin B dalam tubuh adalah timbul dari efek merugikan dari demam, meningkatnya metabolisme, serta meningkatnya diuresis. Obat-obatan, terutama yang mengandung salisilat, yang digunakan sebagai analgesik dan hipereksia, meningkatkan ekskresi vitamin C. Oleh karena itu, perlu adanya peningkatan konsumsi vitamin C suplemen untuk mencegah gangguan mekanisme vital biologis atau gangguan fungsi metabolisme tubuh (Archer, 1966).

Hasil penelitian yang ditunjukkan pada tabel 6 terlihat bahwa pembentukan kolagen pada kelompok perlakuan mempunyai nilai yang lebih tinggi dibanding dengan kelompok kontrol. Menurut Sabiston (1992), hidroksiprolin akan bernilai tinggi pada hari ke-4 sampai hari ke-12 dan akan mulai berkurang dengan cepat setelah hari ke-12. Hal itu berlaku untuk kelompok kontrol, tanpa pemberian vitamin C. Sedangkan pada kelompok perlakuan, dengan pemberian vitamin C, kandungan hidroksiprolinnya diperkirakan lebih cepat terdapat pada daerah luka sehingga kelompok ini lebih dulu mengalami maturasi. Oleh karena itu, dapat

disimpulkan bahwa selama kelompok kontrol membentuk kolagen, kelompok perlakuan telah lebih dulu mengalami *remodelling*. Hal ini yang mengakibatkan pembentukan kolagen pada hari ke-15 antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan tidak ada perbedaan yang bermakna.

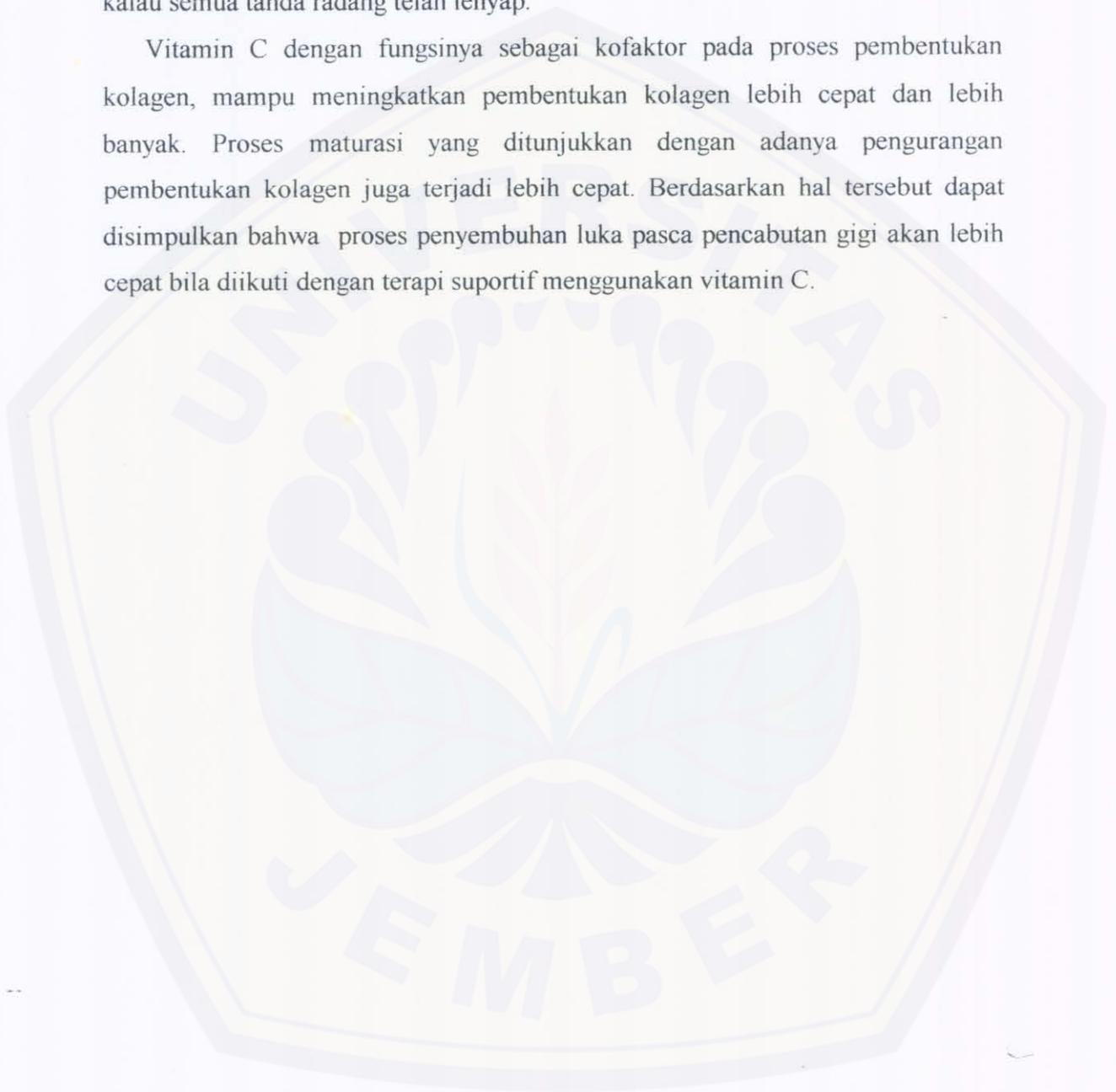
Dua proses utama yang bekerja selama maturasi ini : (1) ikatan dalam molekul-molekul kolagen serta; (2) *remodeling* arah berkas kolagen. Untuk melakukan *remodeling*, berkas kolagen yang sudah ada akan dilarutkan oleh kolagenase jaringan; berkas baru terbentuk dan tersusun untuk menahan garis tegangan melewati luka. Anyaman dan ikatan antar berkas dan dengan tepi-tepi luka menimbulkan penyembuhan yang baik (Sabiston, 1992).

Pembentukan kolagen kelompok kontrol semakin bertambah, sedangkan kelompok perlakuan, dengan pemberian vitamin C, serabut-serabut kolagennya diuraikan oleh kolagenase jaringan. Sel kolagenase dihasilkan oleh berbagai sel, termasuk sel radang, fibroblas, dan sel epitel (Schwartz *et al.*, 1995)

Vitamin C adalah salah satu kofaktor penting untuk hidroksilasi prolin pada proses sintesa kolagen. Kegagalan hidroksilasi prolin menghasilkan kolagen yang tidak stabil serta luka yang kurang kuat. Prolin dan hidroksiprolin memberikan kekakuan (*rigiditas*) pada molekul kolagen (Murray *et al.*, 1997; Schwartz *et al.*, 1995). Pembentukan kolagen pada kelompok perlakuan lebih banyak dan lebih cepat, hal ini sesuai dengan pernyataan Sabiston (1992) bahwa pengukuran hidroksiprolin merupakan indeks pembentukan kolagen. Proses maturasi juga diperkirakan lebih cepat, karena terlihat adanya proses penyerapan kembali jaringan kolagen yang berlebih. Hal ini ditunjukkan pada tabel 5, adanya penurunan jumlah kolagen secara perlahan pada kelompok perlakuan. Oleh karena itu, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara sub kelompok, kecuali antara P1 dan P7, P1 dan P15. Probabilitas yang bermakna ini diperkirakan karena P1 dengan proses pembentukan kolagen yang lebih cepat kemudian mengalami penurunan jumlah kolagen secara perlahan, sehingga baru terlihat perbedaan pembentukannya dalam jangka waktu yang lebih lama, yaitu pengamatan antara hari ke-1 dan hari ke-7, serta hari ke-1 dan hari ke-15.

Pada proses maturasi terjadi penyerapan kembali jaringan yang berlebih, pengerutan sesuai gaya gravitasi, dan akhirnya perupaan kembali jaringan yang baru terbentuk. Proses ini berlangsung berbulan-bulan dan dinyatakan berakhir kalau semua tanda radang telah lenyap.

Vitamin C dengan fungsinya sebagai kofaktor pada proses pembentukan kolagen, mampu meningkatkan pembentukan kolagen lebih cepat dan lebih banyak. Proses maturasi yang ditunjukkan dengan adanya pengurangan pembentukan kolagen juga terjadi lebih cepat. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi akan lebih cepat bila diikuti dengan terapi suportif menggunakan vitamin C.



VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa vitamin C dapat meningkatkan pembentukan kolagen pada proses penyembuhan luka.
2. Vitamin C dapat meningkatkan pembentukan kolagen pada proses penyembuhan luka setelah jangka waktu 1, 3, dan 7 hari, kecuali pada hari ke-15.

6.2 Saran

1. Dengan diketahui manfaat dari vitamin C pada proses penyembuhan luka, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan vitamin C dengan dosis yang lebih tinggi.
2. Perlu adanya promosi penggunaan vitamin C sebagai terapi suportif pada penyembuhan luka terutama setelah dilakukan pancabutan gigi.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, Sunita. 2003. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Archer, Harry W. B. S. M. A. D. D. S. 1966. *Oral Surgery*. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Asmara, D., 1984. *Serabut Kolagen Pada Penyembuhan Luka Cabut Gigi Pada Cavia Cobaya Setelah Perlakuan dengan Vitamin C Dosis Berlebih*. Yogyakarta: FKG UGM.
- Ganiswarna, S. G., Rianto, S., Frans, D. S. Purwastyastuti, Nafrialdi. 2001. *Farmakologi dan Terapi* Ed. 4. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Ghosh, M. N. dan Schild. 1971. *Fundamental of Experimental Pharmacology*. Calcutta: Scientific Book Agency.
- Guyton, C. Arthur. 1996. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 7 Bagian I. Terjemahan : dr. Ken Ariata Tengadi dkk dari *Textbook of Medical Physiology* (1986). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hariadi, A. 1985. "Pengaruh Zinc Sulfat Terhadap Pembentukan Fibroblas Pada Proses Penyembuhan Luka Cabut Gigi Binatang Marmut." Dalam *Maj.Ked.Gigi Surabaya*, Vol.18 April-Juni. Hal 44-49.
- Harijanti, Kus. 1996. "Peranan Vitamin C dalam Kesehatan Jaringan Lunak Rongga Mulut". Dalam *MIKG FKG Universitas Airlangga*, Vol.29. No.3. Hal 59-62.
- Harmono, Happy. 2003. *Pengaruh Pemberian Kontrasepsi Oral Kombinasi (Ethinilestradiol-levonorgestrel) Terhadap Gamb. Mikroskopis Gingiva Tikus Betina Jenis Wistar (Rattus norvegicus)*. Tesis (Belum Diterbitkan).
- Hart, A. J. Gary K. Steven O. Margie U. 2002. *Vitamin C/Ascorbic Acid*, (Online), ([http://www. Healthandage. Com](http://www.Healthandage.Com), diakses 10 Agustus 2002).
- Junqueira, L. C., Carneiro, Jose. 1988. *Histologi Dasar*, Edisi 3. Terjemahan dr Adji Dharma dari *Basic Histology* (1982). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Leeson. Leeson. Paparo. 1996. *Buku Ajar Histologi*, Edisi V. Terjemahan Staf Ahli Histologi FKUI dari *Textbook of Histology* (1985). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Manson, J. D dan B. M. Eley. 1993. *Buku Ajar Periodonti*, Edisi 2. Terjemahan drg. Anastasia S dari *Outline of Periodontics* (1989). Jakarta: Hipokrates
- Mazzotta, Mary Y., Ph.D. 1994. "Nutrition and Wound Healing". Dalam *Journal of the American Pediatric Med. Assoc.* Vol 84. No. 9. Hal 456-462.
- Robert. K et al. 1999. *Biokimia Harper*, Edisi 24. Terjemahan dr. Andry Hartono, D. A. N dari *Harper's Biochemistry* (1989). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Notoatmodjo, Soekidjo. Dr. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*, Edisi Revisi. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Nurrohman, H., Reshma D., Luki A., Susanto, Janti S., Boedi R. 2002. "Efek Aplikasi Ekstrak Jaringan *Achatina fulica* ke dalam Soket Bekas Pencabutan Gigi terhadap Pembentukan Kolagen." Dalam *M.I Ked. Gigi* Edisi FORIL. Hal 98-102.
- Rucker, R. B., Suttie, J. B., McCormick, D. B., Machlin, L. J. 2001. *Handbook of Vitamin*, Ed. 3. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Robbins L. Stanley dan Viray Kumar. 1995. *Buku Ajar Patologi I*, Edisi 4. Terjemahan Staf Pengajar Lab. Patologi anatomi FK Unair dari *Basic Patology Part I* (1987). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Ross, M. H dan J. R. Edward. 1985. *Histology : A Text and Atlas*. New York: J. B. Lippincott Company.
- Sabiston, D.C. 1992. *Buku Ajar Bedah Bagian I*. Terjemahan dr Petrus Andrianto dan dr Timan I.S. dari *Essential of Surgery* (1987). Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Sjamsuhidajat, R dan Jong de Wim. 1997. *Buku Ajar Ilmu Bedah*, Edisi Revisi. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Schwartz, S.I., G. Tom Shires S., Frank C.S., 1995, *Intisari Prinsip-Prinsip Ilmu Bedah*, Terjemahan : dr Laniyati, dr Agnes K., dr Caroline W., dr Sugiaro K., dr Devi H dari *Principles of Surgery* (1994). Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Shafer, W. G., Hine, M.K., Levy, B.M. 1974. *A Textbook Of Oral Pathology* Third Edition. London: W.B Saunders Company.
- Subiyantoro, S. 2003. "Gangguan Pembentukan Serabut Kolagen pada Mukosa Pasca Insisi oleh Asap Rokok Kretek." Dalam *M.I Ked.Gigi* Edisi Temu Ilmiah Nasional III. Vol. 36. No. 3. Hal 222-224.

- Suntoro, S. H. 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi & Histokimia)*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara.
- Thompson, A. D., Cotton, R. E. 1997. *Catatan Kuliah Patologi*, Edisi 3. Terjemahan dr R. F. Maulany dari *Lecture Notes on Pathology* (1994). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Trenggono, B.S. 1996. "Zat Kolagen Murni Secara Topikal Terhadap Proses Penyembuhan Luka Jaringan Periodontal." Dalam *M.I Kedokteran Gigi Edisi Khusus FORIL V*. Vol 2. Hal 388-393.
- Wang C. Y, Tanii I. N dan Stashenko P. 1997. "Bone Resorptive Cytokine Gene Expression in Periapical Lesions". Dalam *Majalah Kedokteran Gigi Oral Microbial Immunology*. . Jakarta: FKG USAKTI. Vol. 12. No. 3. Hal 65-72.
- Walter, J. B., Hamilton, M. C., Israel, M. S. 1984. *Principles of Patology for Dental Students*; fourth edition. New York: Churchill Livingstone.
- Wijaya, Ir. 2000. *Statistik Non Parametrik (Aplikasi program SPSS)*. Alfabeta: Bandung
- Wattimena, J.R. dan M.B. Widiyanto. 1993. *Petunjuk Praktikum Laboratorium Farmakologi*. Bandung: Jurusan Farmasi Fakultas MIPA ITB.
- Yuwono, B. M. Syafriadi dan Purwanto. 2001. *Buku Ajar Bedah Mulut II*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Lampiran 1

Di cari / Diketahui	20 g Mencit	200 g Tikus	400 g Marmu t	1,5 kg Kelinci	2,0 kg Kucing	4,0 kg Kera	12,0 kg Anjing	70,0 kg Manusia
20g Mencit	1,0	7,0	12,29	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
200g Tikus	0,14	1,0	1,74	3,3	4,2	9,2	17,8	56,0
400g Marmut	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
1,5kg Kelinci	0,04	0,25	0,44	1,0	1,06	2,4	4,5	14,2
2,0kg kucing	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
4,0kg kera	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
12,0kg anjing	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
70,0kg Manusia	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,013	0,16	0,32	1,0

Tabel 7. Tabel Perbandingan luas permukaan hewan percobaan untuk konversi dosis

Sumber : Wattimena dan Widiyanto, 1993

Lampiran 2

Hewan Percobaan	Batas volume maksimal (ml) per ekor untuk cara pemberian				
	i.v	i.m	i.p	s.k	p.o
Mencit	0,5	0,05	1	0,5	1
Tikus	1	0,1	3	2	5
Kelinci	3-10	0,5	10	3	20
Marmut	2	0,2	3	3	10

Tabel 8. Tabel batas volume pemberian cairan yang dapat diberikan pada hewan percobaan

Sumber: Wattimena dan Widiyanto, 1993

Lampiran 3

Makanan Standar Tikus

Makanan standar untuk tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis konsentrat yang memiliki komposisi sebagai berikut :

Protein	21%
Serat	4%
Lemak	4%
Air	14%
Abu	6,5%
Kalsium	0,9-1,1%
Phospor	0,7-0,9%

Sumber : Feedmill Malindo, Gresik

Lampiran 4

DATA SKOR PEMBENTUKAN KOLAGEN

	Lap pandang	1	2	3	4	5	Rata 2	
	Irisan							
K1a	1	1	1	1	1	1	1	1,04
	2	1	1	1	1	1	1	
	3	2	1	1	1	1	1,2	
	4	1	1	1	1	1	1	
	5	1	1	1	1	1	1	
K1b	1	2	1	1	1	1	1,2	1,12
	2	1	1	2	1	1	1,2	
	3	1	2	1	1	1	1,2	
	4	1	1	1	1	1	1	
	5	1	1	1	1	1	1	
K1c	1	2	1	1	1	1	1,2	1,24
	2	1	1	2	1	1	1,2	
	3	1	2	1	1	1	1,2	
	4	1	1	2	2	2	1,6	
	5	1	1	1	1	1	1	
K1d	1	1	1	2	2	2	1,6	1,28
	2	1	1	1	2	2	1,4	
	3	1	1	1	1	1	1	
	4	1	1	1	2	1	1,2	
	5	1	1	1	1	2	1,2	
K3a	1	1	2	2	1	1	1,4	1,28
	2	1	1	2	1	1	1,2	
	3	1	2	1	1	1	1,2	
	4	1	1	1	1	2	1,2	
	5	1	1	1	2	2	1,4	
K3b	1	2	1	1	1	2	1,4	1,6
	2	2	2	2	2	2	2	
	3	2	2	2	2	2	2	
	4	2	2	2	1	1	1,6	
	5	1	1	1	1	2	1	
K3c	1	2	2	2	2	2	2	2
	2	2	2	2	2	2	2	
	3	2	2	2	2	2	2	
	4	2	2	2	2	2	2	
	5	2	2	2	2	2	2	
K3d	1	2	2	2	2	2	2	2
	2	2	2	2	2	2	2	
	3	2	2	2	2	2	2	
	4	2	2	2	2	2	2	

	5	2	2	2	2	2	2	
K7a	1	2	2	1	2	2	1,8	1,88
	2	2	1	2	2	2	1,8	
	3	2	2	2	2	2	2	
	4	2	2	2	2	1	1,8	
	5	2	2	2	2	2	2	
K7b	1	2	2	2	2	2	2	1,96
	2	2	2	2	2	2	2	
	3	2	2	2	2	2	2	
	4	2	1	2	2	2	1,8	
	5	2	2	2	2	2	2	
K7c	1	2	2	2	2	2	2	2
	2	2	2	2	2	2	2	
	3	2	2	2	2	2	2	
	4	2	2	2	2	2	2	
	5	2	2	2	2	2	2	
K7d	1	2	2	2	2	2	2	2
	2	2	2	2	2	2	2	
	3	2	2	2	2	2	2	
	4	2	2	2	2	2	2	
	5	2	2	2	2	2	2	
K15a	1	2	2	2	3	3	2,4	2,28
	2	2	3	2	3	3	2,6	
	3	2	2	2	2	2	2	
	4	2	2	2	2	3	2,2	
	5	2	2	2	2	3	2,2	
K15 b	1	2	2	2	2	2	2	2,04
	2	2	2	2	2	2	2	
	3	2	2	2	2	2	2	
	4	2	2	2	2	2	2	
	5	2	3	2	2	2	2,2	
K15c	1	2	2	2	2	2	2	2,04
	2	2	2	2	2	2	2	
	3	2	2	2	2	2	2	
	4	2	2	2	3	2	2,2	
	5	2	2	2	2	2	2	
K15 d	1	2	2	2	2	2	2	2
	2	2	2	2	2	2	2	
	3	2	2	2	2	2	2	
	4	2	2	2	2	2	2	
	5	2	2	2	2	2	2	
Pla	1	3	3	2	2	3	2,6	2,44
	2	3	2	3	2	2	2,4	
	3	2	3	2	2	2	2,2	

P1b	4	2	2	3	3	2	2,4	2,64
	5	3	3	2	2	3	2,6	
	1	3	3	3	3	2	2,8	
	2	2	3	3	3	3	2,8	
	3	3	2	3	2	2	2,4	
P1c	4	3	3	3	2	3	2,8	2,6
	5	3	3	2	2	2	2,4	
	1	3	2	3	3	2	2,6	
	2	3	3	3	3	3	3	
	3	2	3	2	3	2	2,4	
P1d	4	3	2	2	3	3	2,6	2,4
	5	2	2	2	3	3	2,4	
	1	3	2	3	3	2	2,6	
	2	2	2	3	3	3	2,6	
	3	2	2	2	2	2	2	
P3a	4	2	3	2	2	3	2,4	2,4
	5	2	3	2	3	2	2,4	
	1	3	3	2	2	2	2,4	
	2	2	3	3	2	3	2,6	
	3	2	2	3	3	2	2,4	
P3b	4	3	2	3	2	2	2,4	2,4
	5	2	2	2	3	2	2,2	
	1	3	2	2	2	2	2,2	
	2	3	3	2	2	2	2,4	
	3	2	3	2	2	2	2,2	
P3c	4	2	2	3	2	3	2,4	2,48
	5	3	2	3	3	2	2,6	
	1	2	2	2	3	2	2,2	
	2	3	3	3	2	2	2,6	
	3	2	2	3	3	2	2,4	
P3d	4	3	2	2	3	3	2,6	2,12
	5	3	3	2	3	2	2,6	
	1	2	2	2	3	2	2,2	
	2	2	2	2	2	2	2	
	3	2	3	2	2	2	2,2	
P7a	4	3	2	2	3	2	2,4	2,28
	5	2	2	2	3	2	2,2	
	1	2	2	2	2	2	2	
	2	2	3	2	2	2	2,2	
	3	3	2	2	2	2	2,2	
P7b	4	2	2	2	3	3	2,4	2,28
	5	2	3	3	2	3	2,6	
	1	2	2	2	2	3	2,2	
	2	3	2	2	2	2	2,2	
	3	3	3	2	2	2	2,4	
	4	2	2	3	2	2	2,2	

P7c	5	2	2	2	3	2	2,2	2,32
	1	2	2	2	3	2	2,2	
	2	3	2	3	2	3	2,6	
	3	3	2	2	2	2	2,2	
	4	2	2	2	3	3	2,4	
P7d	5	2	3	2	2	2	2,2	2,36
	1	2	3	2	3	2	2,4	
	2	2	2	2	2	2	2	
	3	3	2	2	2	2	2,2	
	4	2	3	3	3	3	2,8	
5	3	2	2	2	3	2,4		
P15a	1	3	2	2	3	2	2,4	2,32
	2	2	2	3	2	3	2,4	
	3	2	2	2	2	2	2	
	4	2	3	2	2	2	2,2	
	5	2	3	3	2	3	2,6	
P15b	1	2	3	2	2	2	2,2	2,24
	2	2	2	3	2	3	2,4	
	3	2	2	3	3	2	2,4	
	4	2	2	2	2	2	2	
	5	3	2	2	2	2	2,2	
P15c	1	3	3	2	2	3	2,6	2,32
	2	2	2	2	2	3	2,2	
	3	2	3	2	2	3	2,4	
	4	2	2	3	2	2	2,2	
	5	2	2	3	2	2	2,2	
P15d	1	3	2	2	2	2	2,2	2,28
	2	2	2	3	3	2	2,4	
	3	2	3	2	2	3	2,4	
	4	2	2	2	3	2	2,2	
	5	2	3	2	2	2	2,2	

Lampiran 5
NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	k1	4	2.63	10.50
	k3	4	6.38	25.50
	Total	8		

NPar Tests

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	10.500
Z	-2.191
Asymp. Sig. (2-tailed)	.028
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	k1	4	2.50	10.00
	k7	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	--2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	k1	4	2.50	10.00
	k15	4	6.50	26.00
Total		8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	k3	4	4.00	16.00
	k7	4	5.00	20.00
Total		8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.615
Asymp. Sig. (2-tailed)	.538
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	k3	4	2.75	11.00
	k15	4	6.25	25.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	11.000
Z	-2.084
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	k7	4	2.75	11.00
	k15	4	6.25	25.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	11.000
Z	-2.084
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	p1	4	5.75	23.00
	p3	4	3.25	13.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.479
Asymp. Sig. (2-tailed)	.139
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	p1	4	6.50	26.00
	p7	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	p1	4	6.50	26.00
	p15	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	p3	4	5.50	22.00
	p7	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.169
Asymp. Sig. (2-tailed)	.243
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	p3	4	5.50	22.00
	p15	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.169
Asymp. Sig. (2-tailed)	.243
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	p7	4	5.00	20.00
	p15	4	4.00	16.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.607
Asymp. Sig. (2-tailed)	.544
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	k1	4	2.50	10.00
	p1	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	k3	4	2.50	10.00
	p3	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	k7	4	2.50	10.00
	p7	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor kolagen	k15	4	2.88	11.50
	p15	4	6.13	24.50
	Total	8		

Test Statistics^b

	skor kolagen
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	11.500
Z	-1.911
Asymp. Sig. (2-tailed)	.056
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan



Unit UPT Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER

NPar Tests
Kruskal-Wallis Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank
skor kolagen	k1	4	2.63
	k3	4	8.13
	k7	4	9.25
	k15	4	14.88
	p1	4	29.75
	p3	4	25.00
	p7	4	21.75
	p15	4	20.63
	Total	32	

Test Statistics^{a,b}

	skor kolagen
Chi-Square	27.944
df	7
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

Hewan	P1	P3	P7	P15	K1	K3	K7	K15
1	2.44	2.4	2.28	2.32	1.04	1.28	1.88	2.28
2	2.64	2.4	2.28	2.24	1.12	1.6	1.96	2.04
3	2.6	2.48	2.32	2.32	1.24	2	2	2.04
4	2.4	2.12	2.36	2.28	1.28	2	2	2
Rata-rata	2.52	2.35	2.31	2.29	1.17	1.72	1.96	2.09
sd	0.12	0.16	0.04	0.04	0.11	0.35	0.06	0.13

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
skor kolagen	Based on Mean	6.545	7	24	.000
	Based on Median	3.488	7	24	.010
	Based on Median and with adjusted df	3.488	7	9.685	.038
	Based on trimmed mean	6.201	7	24	.000

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	k1	k3	k7	k15	p1	p3	p7	p15
N	4	4	4	4	4	4	4	4
Normal Parameters								
Mean	1.1700	1.7200	1.9600	2.0900	2.5200	2.3500	2.3100	2.2900
Std. Deviation	.1102	.3487	57E-02	.1281	.1178	.1579	30E-02	30E-02
Most Extreme Differences								
Absolute	.237	.289	.260	.402	.252	.374	.283	.283
Positive	.175	.211	.240	.402	.252	.205	.283	.217
Negative	-.237	-.289	-.260	-.241	-.252	-.374	-.217	-.283
Kolmogorov-Smirnov Z	.475	.578	.520	.804	.503	.748	.567	.567
Asymp. Sig. (2-tailed)	.978	.892	.949	.538	.962	.630	.905	.905

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Tests of Normality

perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a		
	Statistic	df	Sig.
skor kolagen			
k1	.237	4	.
k3	.289	4	.
k7	.260	4	.
k15	.402	4	.
p1	.252	4	.
p3	.374	4	.
p7	.283	4	.
p15	.283	4	.

a. Lilliefors Significance Correction