

**PENGARUH VITAMIN C TERHADAP JUMLAH OSTEOLAS
SELAMA PROSES PENYEMBUHAN LUKA PADA
TIKUS WISTAR (*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
Perim. gi :	Pembeitan	617.605 9
No. induk :		Ayu
Oleh :	Pengkatalog :	P

Oleh : **FIFIN AYUDYA P.**
NIM. 001610101070

Dosen Pembimbing :
drg. Hj. Herniyati, M. Kes (DPU)
drg. Happy Harmono, M. Kes (DPA)

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

**PENGARUH VITAMIN C TERHADAP JUMLAH OSTEOLAS
SELAMA PROSES PENYEMBUHAN LUKA
PADA TIKUS W1STAR
(*Rattus norvegicus*)**

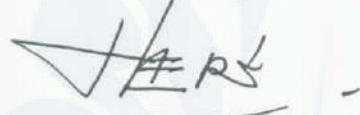
**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**

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

Oleh :

**FIFIN AYUDYA P
NIM. 001610101070**

Dosen Pembimbing Utama



**drg. Hj. Herniyati, M. Kes
NIP. 131 479 783**

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,

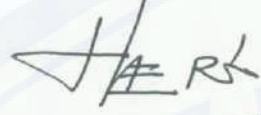
Hari : Rabu

Tanggal : 23 Februari 2005

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

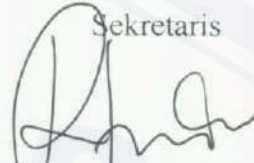
Tim Penguji

Ketua



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

Sekretaris



drg. I.D.A Ratna Dewanti, M. Si
NIP. 132 162 516

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

*“Ilmu adalah cahaya, dan cahaya Allah tidak akan diberikan pada orang yang berbuat maksiat”
(hamba Allah)*

*“Orang yang paling pedih siksaanya kelak di hari kiamat ialah orang yang berilmu namun tidak mengamalkan ilmunya”
(H.r. Thabrani dan Baihaqi)*

*“Dan ingatlah kamu kepada-Ku maka niscaya Aku ingat (pula) kepadamu. Dan bersyukurlah kepada-Ku dan janganlah ingkar kepada nikmatKu”
(Q.S. Al Baqarah:152)*

Alhamdulillah telah kurampungkan karya tulis ilmiah ini dan kupersembahkan untuk :

- *Orangtuaku tercinta, bapak Abdul Salam, Spd. Dan ibuku Mamik Puji Astuti, terimakasih atas pengorbanan, kesabaran, pengertian, kasih sayang dan doanya selama ini*
- *Adikku tersayang, "Qurotul 'Aini, terimakasih atas detik" yang menyenangkan*
- *Keluargaku, terimakasih untuk selalu mendukungku, terutama keluarga Tuhfah Rosyid dan keluarga H. Abu Siri*
- *Guruku, terimakasih untuk cahaya ilmu yang selalu ada*
- *Teman seperjuanganku, Fitri, Tina, Dewi, terimakasih untuk selalu bersamaku*
- *Almamater yang selalu kubanggakan*
- *Semua yang selalu mendukungku dan mereka yang selalu bilang "kamu bisa.....!" (makasih)*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT, atas berkah hidayah dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (Skripsi) ini yang berjudul “Pengaruh Vitamin C Terhadap Jumlah Osteoblas Pada Proses Penyembuhan Luka Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)”. Salam serta shalawat juga kami haturkan kepada manusia teladan “Rosul Muhammad SAW”, keluarga, sahabat, dan para pengikutnya yang berjuang untuk terus istiqomah di jalan-Nya.

Pada kesempatan kali ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini, antara lain kepada :

1. drg. Zahreni Hamzah, M.S, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. drg. Hj. Herniyati, M. Kes, selaku dosen pembimbing utama dan drg. Happy Harmono, M. Kes, selaku dosen pembimbing anggota yang telah memberikan bimbingan dan petunjuk mulai dari awal penyusunan sampai terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
3. drg. I. D. A. Ratna Dewanti, M.Si, selaku sekretaris yang telah memberikan kritik dan saran untuk kesempurnaan karya tulis ilmiah ini.
4. drg. Ari Tri Wanodyo, selaku dosen wali yang telah memberikan nasihat dan motivasi.
5. Kepala Laboratorium Histologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
6. Tim Laboratorium Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
7. Mas Agus dan Mbak Wahyu yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.
8. Bapak dan Ibuku tercinta yang telah memberikan curahan kasih sayang, bimbingan, semangat dan doa untuk masa depanku.

9. Mbak-mbakku, Mbak Wulan, Mbak Rosi, Mbak Nona, teman-temanku C'mba, 'Ena, Pepeng, Kuyus, Ida, Irma, Ira, Tyas, Dini, Mastrip '51 friends. Terima kasih atas canda tawa serta kebersamaan yang telah kalian berikan.
10. Semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis berharap Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat dalam bidang kesehatan. Saran dan kritik dari semua dapat membantu melengkapi dan menyempurnakan Karya Tulis Ilmiah ini.

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.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
RINGKASAN.....	xiv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Vitamin C.....	3
2.1.1 Sifat dan Definisi.....	3
2.1.2 Fungsi.....	3
2.1.3 Metabolisme.....	5
2.1.4 Sumber.....	5
2.1.5 Defisiensi vitamin C.....	5
2.1.6 Hipervitaminosis vitamin C.....	6
2.1.7 Pengaruh vitamin C terhadap osteoblas.....	6
2.2 Tulang.....	6
2.2.1 Sel Osteoprogenitor.....	7
2.2.2 Osteoblas.....	7
2.2.3 Osteosit.....	8

2.2.4 Osteoklas	8
2.3 Pemulihan tulang	8
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian	12
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	12
3.3 Rancangan Penelitian	12
3.4 Sampel Penelitian	13
3.4.1 Populasi Sampel	13
3.4.2 Jumlah Sampel	13
3.4.3 Kriteria Sampel	14
3.5 Variabel Penelitian	14
3.5.1 Variabel Bebas	14
3.5.2 Variabel Tergantung	14
3.5.3 Variabel Terkendali	14
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	15
3.6.1 Alat Penelitian	15
3.6.2 Bahan Penelitian	16
3.7 Konversi Dosis Pemberian Vitamin C Dari Manusia ke Tikus	16
3.8 Konversi Dosis Ketalar	17
3.9 Cara Kerja Penelitian	17
3.9.1 Tahap Persiapan	17
3.9.2 Tahap Pengelompokan subyek	17
3.9.3 Tahap Pemberian Vitamin C	18
3.9.4 Tahap Perlukaan Hewan Coba	18
3.9.5 Tahap Preparasi Jaringan	18
3.9.6 Tahap Pembuatan Sediaan	19
3.9.7 Tahap Pengecatan <i>Haematoxylin Eosin (HE)</i>	20
3.9.8 Tahap Penghitungan Jumlah Osteoblas	21
3.10 Alur Penelitian	22
3.11 Analisa Data	23

IV. HASIL DAN ANALISA DATA	
4.1 Hasil Penelitian	24
4.2 Analisa data	25
V. PEMBAHASAN	29
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	34
6.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

	hal
1. Tabel rata-rata jumlah osteoblas pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.....	24
2. Tabel hasil uji homogenitas data.....	25
3. Tabel hasil uji ANOVA satu arah.....	26
4. Tabel hasil uji Tukey-HSD.....	26



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Gambar 1. Osteoblas	11
2. Gambar 2. Skema Pengelompokan Subyek Penelitian.....	12
3. Gambar 3. Skema Tahap Pembuatan Sediaan Jaringan	19
4. Gambar 4. Alur Penelitian	22
5. Gambar 5. Grafik Perbandingan Jumlah Osteoblas.....	25



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Tabel Perbandingan Luas Permukaan Hewan Percobaan Untuk Konversi Dosis.....	35
2. Tabel Batas Volume Pemberian Cairan Yang Dapat Diberikan Pada Hewan Percobaan.....	36
3. Data Jumlah Osteoblas Kelompok perlakuan.....	37
4. Data Jumlah Osteoblas Kelompok Kontrol.....	39
5. Foto Hasil Penelitian.....	41
6. Foto Alat Penelitian.....	46
7. Foto Bahan Penelitian.....	48
8. Foto Pemberian Vitamin C.....	49
9. Uji Normalitas Dan Homogenitas.....	50
10. Uji ANOVA Satu Arah.....	51
11. Uji Tukey-HSD.....	52
12. Grafik Rata-rata Jumlah osteoblas.....	53

RINGKASAN

“Pengaruh vitamin C terhadap jumlah osteoblas selama proses penyembuhan luka pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*). Penelitian eksperimental laboratoris oleh Fifi Ayudya P, NIM 001619101970. Pembimbing drg. Hj. Herniyati M.Kes (DPU) dan drg. Happy Harmono M.Kes (DPA)”.

Dalam kehidupan masyarakat saat ini mengkonsumsi vitamin C sudah menjadi suatu kebiasaan. Namun peranan vitamin C pada proses penyembuhan luka pada tulang kurang dipahami dengan benar oleh masyarakat. Vitamin C penting untuk penyembuhan tulang karena differensiasi kondrosit dan osteoblas dari *stem cell precursor* membutuhkan vitamin C. Berdasarkan hal ini, penulis tertarik untuk mengetahui apakah vitamin C berpengaruh terhadap jumlah osteoblas selama proses penyembuhan luka, serta apakah ada perbedaan efek vitamin C terhadap jumlah osteoblas pada hari ke-1, 3, 7 dan 15 selama proses penyembuhan luka.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh vitamin C terhadap jumlah osteoblas selama proses penyembuhan luka dan mengetahui perbedaan efek vitamin C terhadap jumlah osteoblas pada hari ke-1, 3, 7 dan 15 selama proses penyembuhan luka. Sehingga dari penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat tentang kebutuhan vitamin C pada proses penyembuhan luka pada tulang.

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Farmakologi dan Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember serta laboratorium Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga pada bulan mei-september 2004. Subyek penelitian adalah hewan coba (tikus wistar) sebanyak 32 ekor dengan jenis kelamin jantan, berat ± 200 gr, usia tikus ± 2 bln. 32 ekor tikus diatas dibagi menjadi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol sehingga masing-masing berjumlah 16 ekor. Kelompok perlakuan diberi vitamin C tiap pagi jam 08.00-10.00 WIB pada hari ke-0 sampai 1 hari sebelum tikus dikorbankan, sedangkan kelompok kontrol tidak diberi vitamin C. Pada hari ke-0 semua hewan coba dicabut gigi molar pertama rahang bawah sebelah kiri yang sebelumnya dianastesi dengan ketalar. Pada hari ke-1, 3, 7 dan 15 hewan coba dikorbankan dan dipotong rahang bawah pada sisi rahang yang telah dilakukan pencabutan dan dibuat sediaan histologis. Setiap preparat dipotong menjadi 5 irisan dengan masing-masing irisan diamati pada 5 lapangan pandang dan dihitung jumlah osteoblasnya kemudian dirata-rata setiap preparat.

Hasil penelitian ini menunjukkan rata-rata jumlah osteoblas pada kelompok perlakuan lebih banyak dibanding dengan kelompok kontrol dan berbeda bermakna ($p < 0,05$) pada hari ke-1 dan hari ke-3. Pemberian vitamin C dapat mempengaruhi peningkatan jumlah osteoblas pada proses penyembuhan tulang.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di Indonesia telah banyak kita temui vitamin C dalam berbagai bentuk dan dalam dosis yang bermacam-macam pula. Mulai dari yang paling sering kita ketahui dan jumpai yaitu dalam bentuk tablet, kapsul dan tablet hisap, selain itu juga bisa berupa effervescent dan dalam bentuk cair. Serta dengan dosis antara 25 mg sampai 1000 mg. Sehingga masyarakat bisa memilih dan mendapatkan vitamin C dengan mudah.

Dalam kehidupan masyarakat saat ini mengonsumsi vitamin C sudah menjadi suatu kebiasaan. Biasanya masyarakat mengonsumsi vitamin C pada saat dan setelah sakit. Bahkan ada yang rutin mengonsumsi vitamin C dalam dosis yang tinggi. Selain itu vitamin C sering diberikan sebagai terapi suportif pada kasus ulserasi dan peradangan pada mukosa rongga mulut (Harijanti, 1996). Kebutuhan vitamin C tergantung pada kebutuhan jaringan tiap-tiap individu. Pada penderita yang masih dalam proses penyembuhan luka maka kebutuhan vitamin C menjadi lebih tinggi. Dosis yang dianjurkan untuk orang dewasa minimal 150 mg per hari (Ganiswarna dkk, 2001)

Peranan vitamin C pada proses penyembuhan luka khususnya pada tulang kurang dipahami dengan benar oleh masyarakat. Bahkan Sunita (2003 : 188) menyatakan masyarakat sudah terlampau percaya bahwa vitamin C dalam jumlah jauh melebihi angka kecukupan sehari diperlukan untuk pemeliharaan kesehatan, padahal konsumsi vitamin C dosis tinggi secara rutin tidak dianjurkan.

Proses penyembuhan luka merupakan suatu proses pergantian jaringan yang mati atau rusak dengan jaringan yang baru oleh tubuh dengan jalan regenerasi. Vitamin C yang dikonsumsi pada saat proses penyembuhan luka maka akan mempercepat waktu penyembuhan sebab peranan vitamin C untuk perawatan suportif yaitu untuk pembentukan kolagen (Harijanti, 1996).

Kolagen mengandung kira-kira sepertiga lisin, sepertiga prolin, dan 4 hidroksiprolin, 5 hidroksilisilisin dan lainnya alanin. Pada proses hidroksilasi prolin

dan lisin yang dibentuk menjadi hidrosiprolin dibutuhkan vitamin C, α - ketoglutarat, molekul O_2 dan Fe^{+++} (Combs *dalam* Harijanti, 1996). Sedangkan kolagen merupakan senyawa protein yang mempengaruhi integritas struktur sel di semua jaringan ikat pada tulang rawan, matriks tulang, dentin gigi, membran kapiler kulit. Differensiasi chondrosit dan osteoblast dari stem cell precursor membutuhkan vitamin C (Franceschi *dalam* Harijanti, 1996). Sehingga vitamin C pada proses penyembuhan tulang sangat dibutuhkan untuk perawatan suportif. Dengan demikian, vitamin C berperan dalam penyembuhan luka, patah tulang, perdarahan di bawah kulit dan pendarahan pada gusi (Almatsier, 2003).

1.2. Rumusan masalah

Berdasarkan gambaran diatas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

- a. Apakah vitamin C berpengaruh terhadap jumlah sel osteoblas selama proses penyembuhan luka ?
- b. Apakah ada perbedaan efek vitamin C terhadap jumlah osteoblas pada hari ke-1, 3, 7, dan 15, selama proses penyembuhan luka ?

1.3. Tujuan penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui hal – hal sebagai berikut :

- a. Mengetahui pengaruh vitamin C terhadap jumlah sel osteoblas selama proses penyembuhan luka
- b. Mengetahui perbedaan efek vitamin C terhadap jumlah osteoblas pada hari ke-1, 3, 7, dan 15 selama proses penyembuhan luka

1.4. Manfaat

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan untuk pemberian vitamin C sebagai terapi suportif pada proses penyembuhan luka khususnya pada tulang

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Vitamin C

Pada abad ke-15 para pelaut yang berlayar selama berbulan-bulan hanya makan makanan yang dikeringkan dan dalam bentuk biskuit. Sehingga para pelaut tadi menjadi pucat, rasa lelah berkepanjangan diikuti dengan perdarahan pada gusi, perdarahan dibawah kulit, tukak dan pada akhirnya kematian (Almatsier, 2003). Tanda-tanda klinis yang disebutkan diatas adalah gejala penyakit skorbut. Hal ini terjadi setelah tidak mengkonsumsi vitamin C selama 45 sampai 80 hari (Nizel; Jones & Mason; Combs *dalam* Harijanti, 1996).

Seorang dokter dari Skotlandia menemukan bahwa scurvy dapat dicegah dan diobati dengan memakan jeruk. Sehingga pada tahun 1932 Szent-Gyorgyi dan C. Glenn Kris berhasil mengisolasi zat anti skorbut dari jaringan adrenal, jeruk, kol dan dinamakan sebagai vitamin C. Kemudian disintesis oleh Hawortt dan Hirst sebagai asam askorbat pada tahun 1933 (Almatsier, 2003).

2.1.1 Sifat dan Definisi

Vitamin C adalah kristal putih yang mudah larut dalam air (Almatsier, 2003). Mudah mengalami oksidasi pada temperatur yang tinggi. Juga bereaksi dengan ion-ion metal yaitu Fe^{++} , Fe^{+++} dan Cu^{++} (Williams & Devlin *dalam* Harijanti, 1996). Dalam keadaan kering vitamin C cukup stabil. Vitamin C tidak stabil dalam larutan alkali tetapi cukup stabil dalam larutan asam. Jadi vitamin C merupakan vitamin yang paling labil. Vitamin C bekerja sebagai suatu koenzim dan pada keadaan tertentu merupakan reduktor dan antioksidan (Ganiswarna dkk, 2001).

2.1.2. Fungsi

Vitamin C mempunyai fungsi yang menyangkut berbagai aspek metabolisme yang terjadi di dalam tubuh antara lain sebagai elektron transport dalam suatu sistem redoks, contohnya sistem kolagen (Combs *dalam* Harijanti, 1996). Proses metabolisme yang begitu banyak di dalam tubuh kita ini dipengaruhi oleh vitamin C, namun mekanismenya belum diketahui dengan pasti

(Almatsier, 2003). Peranan metabolik yang sangat spesifik dari vitamin C adalah pada proses hidrosilasi dari prolin menjadi hidroksiprolin dan lisin menjadi hidroksilisin pada proses pembentukan kolagen (Dolby dkk dalam Harijanti, 1996).

Vitamin C merupakan kebutuhan penting untuk pembentukan kolagen, suatu protein penting yang digunakan untuk membentuk kulit, tendon, ligamen dan pembuluh darah. Vitamin C juga dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perbaikan jaringan di seluruh bagian dari tubuh kita sehingga penting untuk proses penyembuhan luka, dan untuk perbaikan serta pemeliharaan kartilago, tulang dan gigi. Tanpa asam askorbat maka serat kolagen yang terbentuk dalam semua jaringan tubuh menjadi cacat dan lemah (Guyton, 1997).

Seperti yang telah disebutkan diatas bahwa vitamin C juga berperan dalam penyembuhan dan perbaikan dari kartilago, tulang dan gigi. Terdapat bukti-bukti yang kuat secara invitro menunjukkan bahwa differensiasi chondrosit dan osteoblas dari stem cell precursor membutuhkan vitamin C (Franceschi dalam Harijanti, 1996). Sehingga untuk mempercepat proses penyembuhan luka khususnya pada tulang bisa diberikan vitamin C sebagai perawaatan suportif. Pada fraktur tulang, kekurangan vitamin C akan menyebabkan osteoblas tidak dapat membentuk matriks tulang yang baru sehingga tulang yang fraktur tidak dapat sembuh (Guyton, 1997).

Selain fungsi diatas sebagai pembentuk kolagen, vitamin C juga berfungsi sebagai berikut ini :

1. Sintesis karnitin, noradrenalin, serotonin dll
2. Absorpsi dan metabolisme besi
pada saat mengkonsumsi vitamin C maka feri direduksi menjadi fero dalam usus halus sehingga mudah diabsorpsi
3. Absorpsi kalsium
vitamin C membantu absorpsi kalsium dengan menjaga agar kalsium berada dalam bentuk larutan
4. Mencegah infeksi
vitamin C meningkatkan daya tahan tubuh terhadap infeksi

5. Mencegah kanker dan penyakit jantung

vitamin C dapat mencegah pembentukan nitrosamin yang berbentuk karsinogenik (Almatsier, 2003). Akan tetapi pemberian vitamin C mega dosis tidak terbukti efektif untuk aterosklerosis, penyembuhan luka dan skizofrenia serta kanker lanjut (Ganiswarna dkk, 2001).

2.1.3. Metabolisme

Absorpsi vitamin C sangat mudah pada bagian atas usus halus lalu masuk ke peredaran darah melalui vena porta. Defisiensi vitamin C diakibatkan intake makanan yang tidak cukup karena vitamin C mudah diabsorpsi dalam usus. Vitamin C kemudian dibawa ke semua jaringan. Konsentrasi tertinggi vitamin C terdapat dalam jaringan adrenal, pituitari dan retina (Almatsier, 2003).

2.1.4 Sumber

Vitamin C tidak dapat dibuat oleh tubuh sehingga perlu untuk dicukupi dari buah dan sayuran. Antara lain jeruk, pepaya, anggur, mangga, jambu monyet, jambu biji, nenas, rambutan. Kita dapat memperoleh vitamin C dari sayuran yang berupa daun singkong, daun katuk, daun melinjo, daun pepaya, sawi, kol, tomat masak, kangkung, bayam, kemangi, dan masih banyak lagi yang lainnya.

2.1.5 Defisiensi Vitamin C

Defisiensi vitamin C yang paling sering kita ketahui adalah scurvy atau skorbut. Salah satu efek skorbut yang paling penting adalah kegagalan penyembuhan luka. Sehingga penyembuhan luka menjadi lebih lama, yang biasanya beberapa hari menjadi beberapa bulan. Pada scurvy juga dapat kita lihat akibat nyata gangguan sintesis unsur organik utama matriks tulang. Karena vitamin C yang berfungsi sebagai kofaktor dalam peristiwa hidroksilasi dari prolin dan lisin sangat kurang dalam diet maka kolagen tidak dapat mengambil bentuk pilinan triple (*triple helix*). Oleh karena itu vitamin C sangat penting untuk pertumbuhan dan penyembuhan tulang sebab vitamin C juga dapat meningkatkan absorpsi kalsium (Cormack, 1994).

Tanda-tanda yang lain adalah lelah, lemah, nafas pendek, kejang otot, tulang, otot dan persendian sakit serta kurang nafsu makan, kulit menjadi kering, kasar dan gatal, warna merah kebiruan di bawah kulit, perdarahan gusi, kedudukan gigi menjadi longgar, mulut dan mata kering, serta rambut merah (Almatsier, 2003).

2.1.6 Hipervitaminosis Vitamin C

Vitamin C yang berasal dari makanan tidak menimbulkan gejala apabila di dalam tubuh terdapat dalam jumlah berlebih. Vitamin C dalam bentuk suplemenlah yang dapat menimbulkan hiperoksaluria dan resiko lebih tinggi terhadap batu ginjal bila dikonsumsi secara berlebihan tiap hari. Walaupun resiko batu oksalat karena vitamin C dosis tinggi masih begitu rendah tetapi hal ini dapat menjadi berarti pada seseorang yang mempunyai kecenderungan untuk pembentukan batu ginjal.

2.1.7 Pengaruh vitamin C terhadap osteoblas

Vitamin C memiliki fungsi yang luas dalam peranan biokimia dan fisiologi termasuk sintesis kolagen dimana kolagen merupakan komponen penting dari tendon, ligamen, kulit, tulang, gigi, kartilago, kornea, lensa dan substansi struktural (Roomi dalam www.orst.edu/dept/lpi/sp-su97/vitc.html). Vitamin C sangat penting untuk sintesis matriks kolagen tipe I, aktivitas alkaline phosphatase, akumulasi osteocalcin dan mineralisasi matriks pada osteoblas (Franceschi dalam www.rxvitamins.com/people/bonetech). Sehingga vitamin C dapat merangsang proliferasi osteoblas. Franceschi juga menyatakan diferensiasi kondrosit dan osteoblas dari *stem cell precursor* membutuhkan vitamin C.

2.2 Tulang

Tulang merupakan jaringan yang paling keras atau kaku di dalam tubuh manusia. Jaringan ini mengandung sel-sel dan matriks inter sel. Matriks ini mengandung unsur organik yaitu terutama serat-serat kolagen dan unsur anorganik yang merupakan dua pertiga berat tulang itu (Leeson dkk, 1996).

Tulang dibungkus oleh lapisan jaringan ikat khusus yaitu periosteum dan lapis jaringan ikat serupa yang kurang berkembang yaitu endosteum yang membatasi rongga dan celah-celah sumsum. Ciri-ciri paling utama dari tulang secara mikroskopis adalah susunannya yang lamelar, yaitu substansi intersel yang mengalami perkapuran atau matriks tulang, yang tersusun dalam lapisan-lapisan atau lamel-lamel dengan berbagai pola. Di dalam substansi interstisial terdapat rongga-rongga kecil atau lakuna yang berisi sel-sel tulang (osteosit). Setiap lakuna akan memancar keluar saluran-saluran halus disebut kanalikuli, yang menembus lamel-lamel dan berhubungan dengan kanalikuli lakuna sekitarnya. Jadi semua lakuna saling berhubungan melalui sistem saluran halus.

Sel-sel yang terdapat di dalam tulang antara lain sel osteoprogenitor, osteoblas, osteosit, dan osteoklas. Sedangkan yang berperan pada sintesa komponen organik matriks tulang (kolagen dan glikoprotein) adalah osteoblas (Junqueira dkk, 1998).

2.2.1 Sel Osteoprogenitor

Sel ini ditemukan pada permukaan tulang di lapisan dalam periosteum, pada endosteum dan dalam saluran vaskuler dari tulang kompakta. Terdapat dua jenis sel yaitu satu jenis (preosteoblas) memiliki sedikit retikulum endoplasma dan menghasilkan osteoblas dan jenis yang lain (preosteoklas) mengandung lebih banyak mitokondria dan ribosom bebas dan menghasilkan osteoklas (Leeson dkk, 1996).

2.2.2 Osteoblas

Osteoblas terletak pada permukaan jaringan tulang secara berdampingan yang menyerupai susunan epitel sederhana. Osteoblas memiliki ukuran dengan diameter 15-20 μm . Osteoblas berbentuk kuboid dan sitoplasmanya basofilik pada saat sedang giat mensintesis matriks. Bila kegiatan sintesa matriks ini menurun, maka osteoblas menjadi gepeng dan sifat basofilik sitoplasmanya berkurang (Junqueira dkk, 1998).

Osteoblas mempunyai inti besar dan biasanya mempunyai satu anak inti. Sitoplasmanya basofil karena kandungan nukleoprotein yang berperan untuk

sintesis unsur organik matriks tulang seperti kolagen dan glikoprotein. Osteoblas mengandung enzim fosfatase alkali, yang menandakan bahwa mereka tidak saja berhubungan dengan pembuatan matriks tetapi juga dengan proses kalsifikasinya. (Leeson dkk, 1996).

2.2.3 Osteosit

Sitoplasmanya bersifat basofil ringan, intinya terpulas gelap. Bentuknya berdasarkan bentuk lakuna yang merupakan tempat tinggalnya. Hanya satu osteosit pada masing-masing lakuna. Beberapa molekul juga mengadakan pertukaran diantara osteosit dan pembuluh darah melalui sejumlah kecil bahan ekstraseluler yang berlokasi diantara osteosit dan matriks tulang (Junqueira dkk, 1998).

2.2.4 Osteoklas

Sel raksasa berinti banyak dan jumlah anak inti sangat bervariasi. Terdapat dekat pada permukaan tulang, sitoplasmanya tampak granuler dan basofil ringan. Osteoklas mengeluarkan kolagenase dan enzim proteolitik lain yang menyebabkan matriks tulang melepaskan bagian substansi dasar yang mengapur. Sesudah proses resorpsi sempurna osteoklas akan menghilang, mungkin berdegenerasi atau berubah lagi menjadi sel asalnya.

2.3 Pemulihan Tulang

Pemulihan jejas tulang pada dasarnya juga merupakan penyembuhan jaringan ikat, namun perbedaannya terletak pada pembentukan jaringan perkapuran yang khas pada tulang sebagai akibat aktivitas dari osteoblas dan osteoklas. Sel-sel pembentuk tulang berasal dari periosteum dan endosteum pada daerah sekitar jejas atau mungkin berasal dari sel-sel primitif mesenkim yang mengalami perubahan metaplasti atau berasal dari fibroblas jaringan ikat di sekitarnya. Penyembuhan pada tulang yang patah dapat dipergunakan sebagai model proses penyembuhan tulang (Robbins dan Kumar, 1995).

Pada saat terjadi jejas maka akan terjadi pendarahan pada lokasi tersebut sehingga terbentuk bekuan darah. Bekuan darah ini disebabkan oleh terputusnya

pembuluh darah pada tulang dan periosteum karena sumsum tulang merupakan jaringan yang kaya dengan pembuluh darah. Fase ini disebut fase hematoma. Hematoma ini akan menjadi medium pertumbuhan sel jaringan fibrosis dan vaskuler hingga hematoma berubah menjadi jaringan fibrosis dengan kapiler di dalamnya. Jaringan ini menyebabkan fragmen tulang saling menempel. Fase ini disebut fase jaringan fibrosis (Sjamsuhidayat, 1997). Dalam satu atau dua hari pasca fraktur terdapat bukti histologis bahwa sedang berlangsung reaksi radang akut. Makrofag akan melahap sel darah yang berasal dari bekuan darah, fibrin dan jaringan nekrotik. Namun bekuan darah masih tetap dapat dikenali. Jika bekuan darah menjadi besar, mungkin hal ini merupakan tanda-tanda serbuk seluler dan vaskularisasi, tanda awal osteogenesis. Pergantian dari tahap radang awal ke tahap perbaikan pada proses penyembuhan ini biasanya diawali dengan pembersihan secara progresif terhadap bekuan darah melalui fagositosis (Cormack, 1994).

Hematoma yang terbentuk akan segera diserbu oleh proliferasi fibroblas yang bersifat osteogenik yang berasal dari mesenkim periosteum dan sedikit endosteum. Fibroblas osteogenik berubah menjadi osteoblas dan menghasilkan bahan organik antar sel yang disebut osteoid (Sjamsuhidayat, 1997). Robbin dan Kumar menyatakan pada hari kedua atau ketiga akan tampak kondroblas dan osteoblas yang berproliferasi dengan cepat, disekitar daerah periosteum dan endosteum yang cedera. Jaringan yang menempelkan fragmen patahan tulang tersebut dinamakan kalus fibrosa kemudian tumbuh sel jaringan mesenkim yang bersifat osteogenik. Sel ini akan berubah menjadi sel kondroblas yang membentuk kondroid yang merupakan bahan dasar tulang rawan. Akhir minggu pertama terlihat pulau-pulau tulang rawan dalam jaringan granulasi yang telah mengganti bekuan darah. Pulau-pulau tulang rawan ini merupakan jaringan ikat penghubung yang dikenal sebagai kalus sementara.

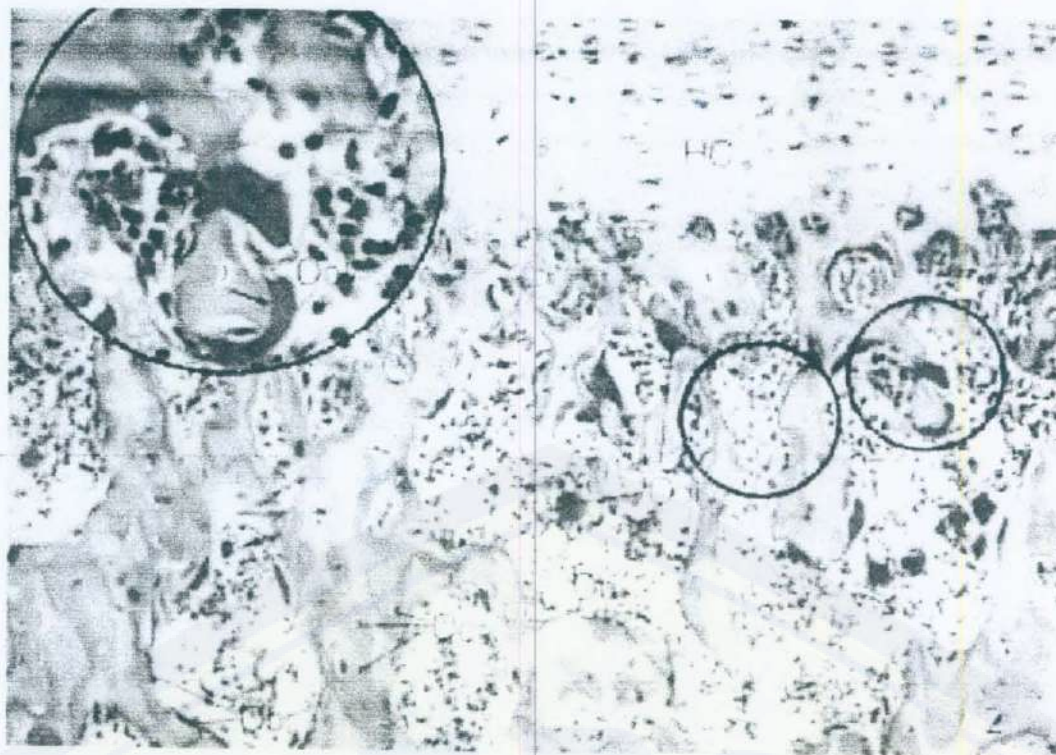
Kondrosit dan osteoid ini mula-mula tidak mengandung kalsium. Pada tahap selanjutnya terjadi penulangan atau osifikasi. Hal ini menyebabkan kalus fibrosa berubah menjadi kalus tulang. Fase ini disebut fase penyatuan klinis. Selanjutnya terjadi pergantian sel tulang secara berangsur-angsur oleh sel tulang yang mengatur diri sesuai dengan garis tekanan dan tarikan yang bekerja pada

tulang. Kekuatan kalus ini sama dengan tulang biasa dan fase ini disebut fase konsolidasi (Sjamsuhidayat, 1997). Apabila terjadi kelebihan tulang dalam ruang sumsum tulang maupun sekeliling daerah jejas maka akan dibentuk kembali secara perlahan-lahan dengan cara diabsorpsi oleh osteoklas. Akhirnya ruang sumsum tulang pulih kembali seperti semula sebelum terjadi jejas (Robbins dan Kumar, 1995).

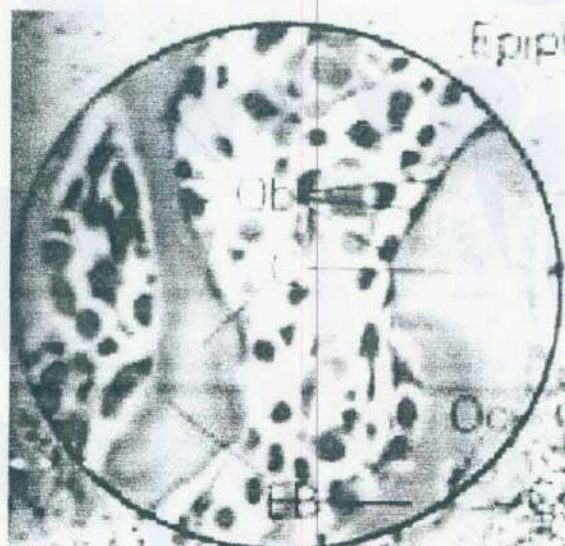
2.4 Hipotesis

1. Vitamin C berpengaruh terhadap peningkatan jumlah osteoblas selama proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.
2. Lama pemberian Vitamin C berpengaruh terhadap peningkatan jumlah osteoblas selama proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.





Gambar 1 : Tulang. Pewarnaan: HE. Pembesaran: 150X, insets 380X. Keterangan
Ob: osteoblas; Oc: osteosit; HC: hypertrophic cartilago; Ocl:
osteoclas



Keterangan : Ob: Osteoblas; Oc: Osteosit; EB: Endochondral bone; C: calcified
cartilago matrix
Sumber : (Ross dan Reith, 1985)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

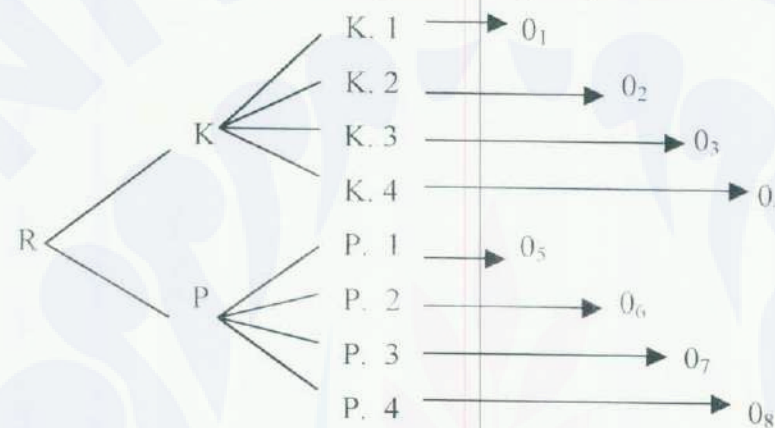
Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

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

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Posttest Only Control Group Design* (Notoatmodjo,2002). Dalam rancangan penelitian ini diukur pengaruh perlakuan pada kelompok perlakuan dengan cara membandingkan kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol dan tidak dilakukan pretest. Pengelompokan subyek dan cara perlakuannya dapat dilihat pada skema berikut :



Gambar 2 : Skema Pengelompokan Subyek Penelitian

Keterangan:

- R : Randomisasi
- K : Kelompok kontrol
- P : Kelompok perlakuan
- K.1 : Kontrol tanpa diberi vitamin C dikorbankan 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
0₁ – 0₈ : 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 yang digunakan pada penelitian ini adalah 32 ekor tikus yang dibagi menjadi dua kelompok, kelompok kontrol dan kelompok posttest. Kelompok posttest adalah kelompok perlakuan yang diberi vitamin C. Masing-masing kelompok diamati dalam empat waktu yang berbeda. Jadi jumlah sampel tiap-tiap kelompok sebanyak 4 ekor tikus. Jumlah sampel minimal diatas dihitung dengan cara (Stell dan Torie dalam Harmono, 2003) :

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

dengan menentukan jumlah kelompok sebanyak 8 kelompok pengamatan, maka besar sampel masing-masing kelompok :

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

$$n \geq 3,86$$

$$n = 4 \text{ ekor}$$

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 pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Tikus Wistar 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 adalah jumlah osteoblas selama penyembuhan luka tulang rahang bawah tikus dengan pemberian vitamin C.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

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 dipelihara dengan cara ditempatkan pada suatu wadah yang masing-masing berisi 4 ekor serta dirawat oleh seorang petugas yang tetap dengan pemberian makanan standar (Pokpand) dan diberi minum air ad libitum.
3. Cara kerja penelitian
16 ekor hewan coba kelompok perlakuan diberi vitamin C tiap pagi jam 08.00-10.00 WIB pada hari ke-0 sampai 1 hari sebelum tikus dikorbankan, sedangkan 16 ekor kelompok kontrol tidak diberi vitamin C. Pada hari ke-0 semua hewan coba dilukai dengan cara dicabut gigi molar pertama RB kiri yang sebelumnya dianestesi dengan ketalar. Pada hari ke 1, 3, 7, dan 15 hewan coba dikorbankan

dan dipotong tulang RB pada sisi rahang yang telah dilakukan pencabutan dan dibuat sediaan histologis.

4. Waktu perlakuan

Perlakuan hewan coba dilaksanakan selama 2 minggu

5. Tehnik pewarnaan menggunakan pewarnaan *Haematoxylin Eosin*.

6. Cara penghitungan

Penghitungan pada sediaan histologis menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 400 kali.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah :

1. Kandang plastik
2. Sarung tangan
3. Masker
4. *Disposable syringe* (Terumo)
5. Sonde bengkok
6. Arteri klem
7. Neraca (OHAUS)
8. Timbangan (OHAUS)
9. Erlenmeyer
10. Sonde lambung
11. Skalpel
12. Pinset
13. Pot untuk tempat fiksasi
14. Mikrotom (Leica)
15. *Waterbath* (Mommert)
16. Kertas saring
17. Kuas
18. *Over* (Mommert)
19. Kaca obyek

20. Rak kaca obyektif
21. *Cover glass*
22. Mikroskop cahaya binokuler (Leica)

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan 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. *Formaldehyde*
12. Cat *Haematoxylin Eosin*
13. Air

3.7 Konversi dosis pemberian vitamin C dari manusia ke tikus

a. Konversi dosis (Wattimena dan Widiyanto, 1993)

Dosis vitamin C untuk orang dewasa 60mg/70kgBB. Konversi dosis manusia

± 70 kg ke tikus $200\text{mg} = 0,018$, sehingga dosis vitamin C ke tikus adalah :

$$= 0,018 \times 60$$

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

b. 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 0,27mg vitamin C

3.8 Konversi dosis ketalar yang disuntikkan

$$\text{Ketalar (X)} = \frac{90}{1000} \times \text{Berat badan tikus}$$

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

$$\text{Dosis anastesi} = (X+Y) \text{ mg/gr}$$

(Wang dkk, 1997)

3.9 Cara kerja**3.9.1 Tahap persiapan**

- a. Tikus diadaptasikan dengan lingkungan baru \pm 1 minggu. Tikus diberi makanan standar (Pokpand) dan diberi minum (air).
- b. Dosis vitamin C menurut konversi dosis pemberian vitamin C dari manusia ke tikus adalah 1,08 mg/200gBB/hari. Sebelumnya vitamin C di timbang sebanyak 27 mg, kemudian dilarutkan dengan akuades sampai 100mL. Untuk vitamin C yang disondekan ke dalam tikus yaitu 0,02 mL/gBB/hari. Jadi jumlah vitamin C yang disondekan masing-masing tikus berbeda tergantung berat badan.

3.9.2 Tahap pengelompokan sampel

Jumlah sampel sebanyak 32 ekor tikus Wistar dikelompokkan menjadi 2 kelompok yaitu :

1. Kelompok I (kelompok kontrol)

Terdiri dari 16 ekor tikus yang diberi makanan standar (Pokpand) dan minum (air) tanpa vitamin C. Kelompok kontrol dibagi 4 sub kelompok sesuai dengan 4 hari pengamatan yang berbeda yaitu hari ke-1, 3, 7 dan 15.

2. Kelompok II (kelompok perlakuan)

Terdiri dari 16 ekor tikus yang diberi makanan standar (Pokpand) dan minum (air) ditambah vitamin C per oral 1,08 mg /200gr BB/hari. Kelompok perlakuan dibagi 4 sub kelompok sesuai dengan 4 hari pengamatan yang berbeda yaitu hari ke-1, 3, 7 dan 15.

3.9.3 Tahap pemberian vitamin C

Kelompok II diberi vitamin C setiap hari mulai hari ke-0 sampai satu hari sebelum tikus dikorbankan (pk1 08.00 – 10.00 WIB). Vitamin C diberikan per oral dengan sondase sesuai dosis konversi manusia ke tikus yaitu 1,08 mg/200gr BB/hari.

3.9.4 Tahap perlukaan hewan coba

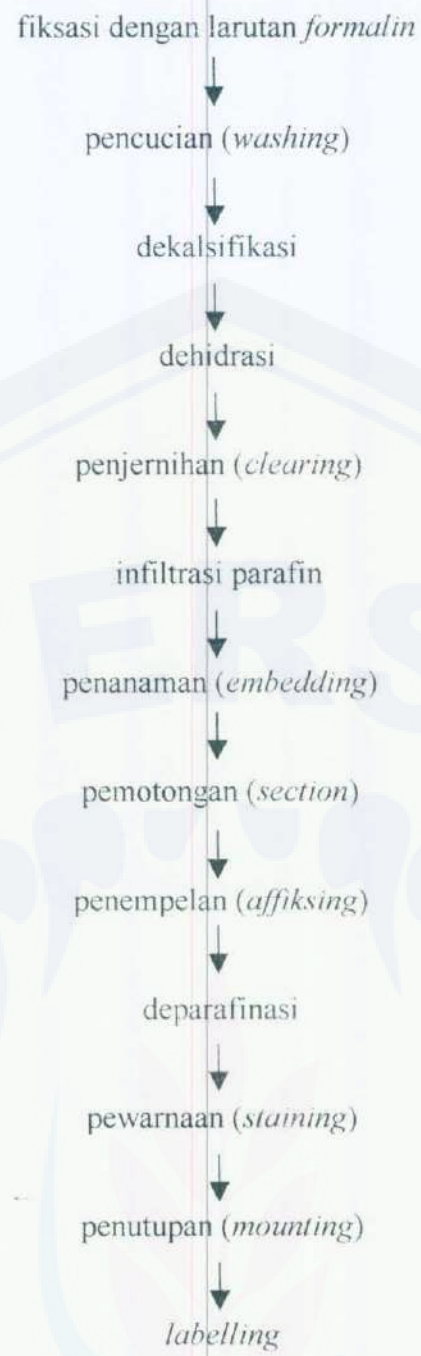
Hewan coba di anastesi intravena menggunakan ketalar (ketamin) yang dicampur aquabides. Selanjutnya dilakukan pencabutan pada gigi molar pertama RB sebelah kiri dengan menggunakan arteri klem pada hari ke-0.

3.9.5 Tahap preparasi jaringan

Hewan coba dikorbankan secara inhalasi dengan *eter chloride*. Kemudian dilakukan pemotongan pada mandibulanya secara sagital dengan jarak $\pm 0,5$ mm dari mesial dan distal bekas luka pencabutan.

3.9.6 Tahap pembuatan sediaan

Skema tahap pembuatan sediaan dengan metode parafin dapat dilihat pada bagan berikut :



Gambar 3. Skema tahap pembuatan sediaan jaringan

Sumber : Suntoro, 1983

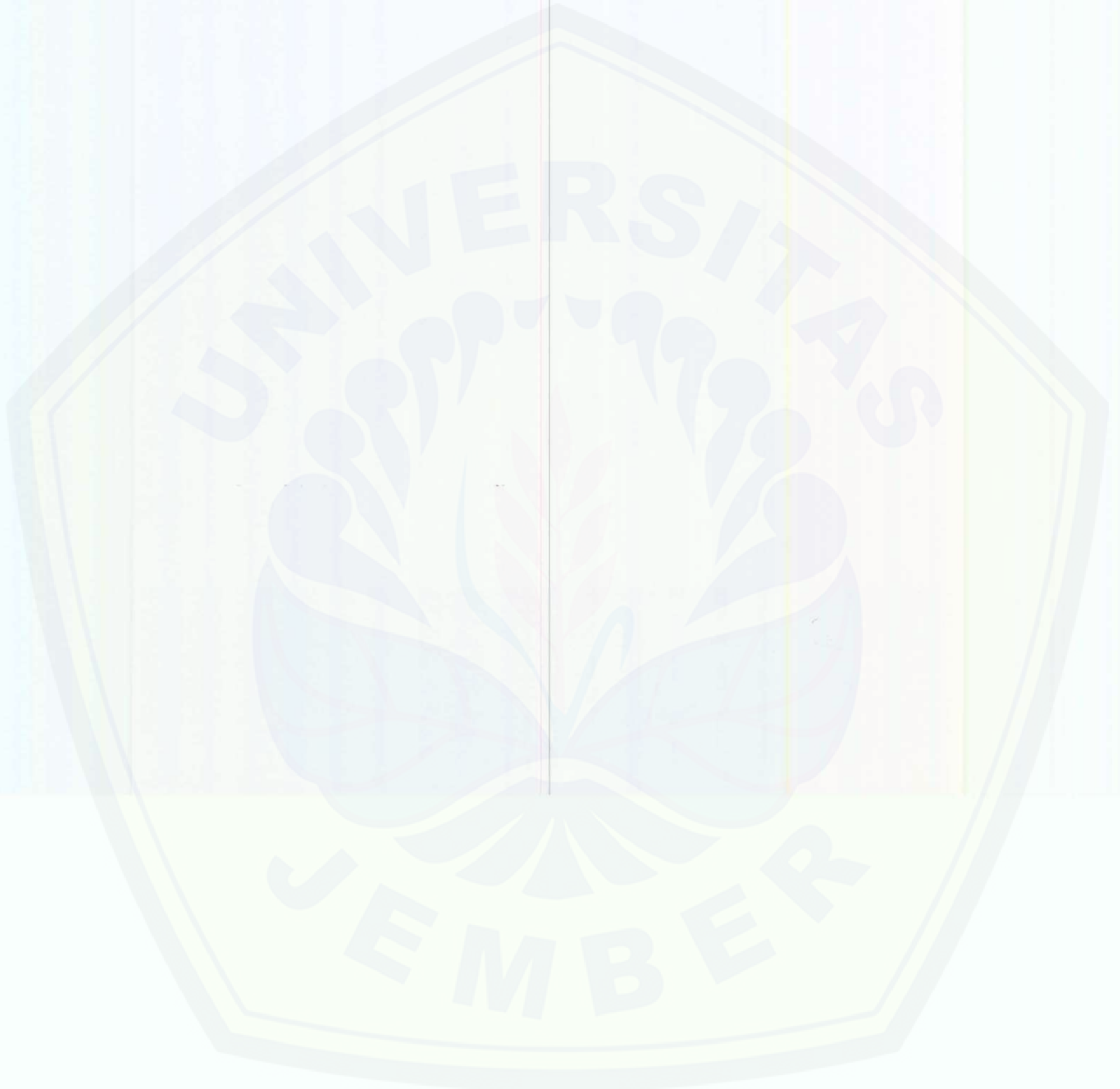
3.9.7 Tahap pengecatan *Haematoxylin Eosin*

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 entellan. Kemudian sediaan itu ditutup dengan kaca penutup dan dibiarkan mengering.

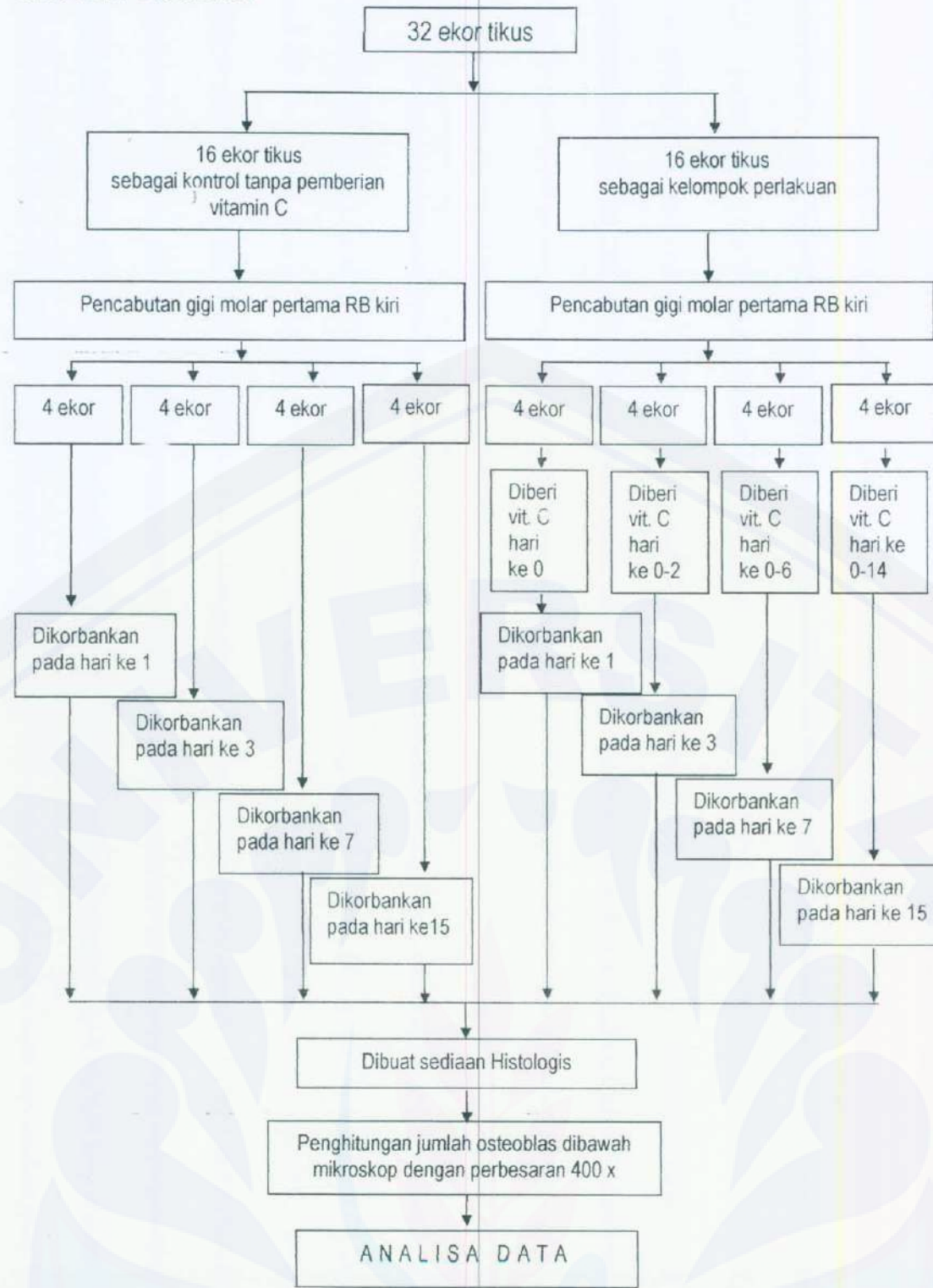
3.9.8 Tahap penghitungan jumlah osteoblas

Jumlah osteoblas dihitung dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan pembesaran 400 kali. Setiap preparat terdiri dari lima irisan dan masing-masing irisan diamati lima lapang pandang dan dihitung jumlah osteoblasnya. Kemudian jumlah osteoblas tersebut dirata-rata pada setiap preparat (Maryana, 2004).





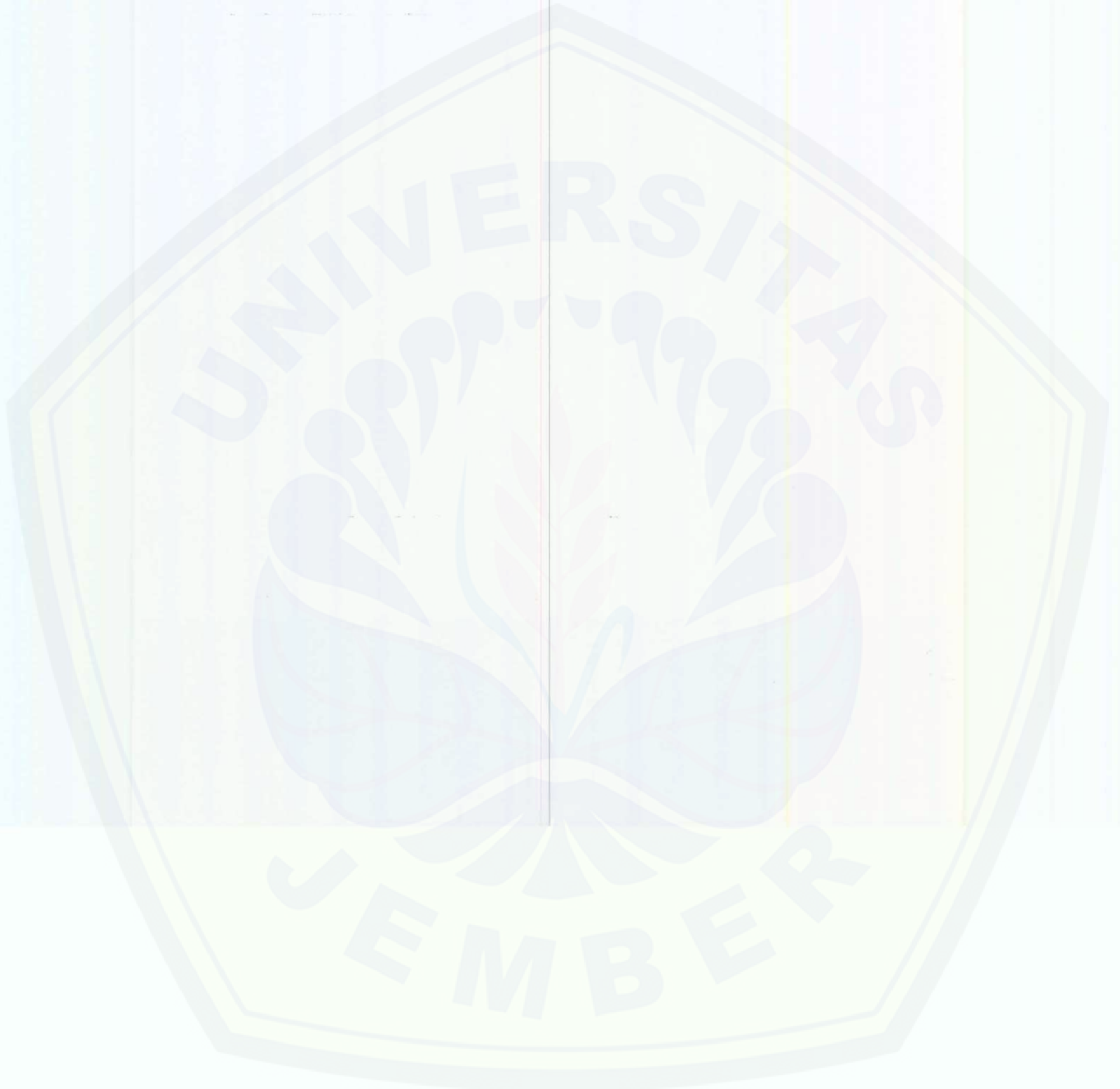
3.10 Alur Penelitian



Gambar 4 : Alur penelitian

3.11 Analisa Data

Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisa dengan menggunakan uji statistik Anova satu arah dengan tingkat kemaknaan 95% ($\alpha = 0.05$). Dilanjutkan dengan uji Tukey-HSD untuk melihat lebih lanjut perbedaan antar variabel.



IV. HASIL DAN ANALISA DATA

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei-September 2004 dengan jumlah sampel 32 tikus wistar yang dibagi menjadi 16 tikus Wistar tidak diberi perlakuan (kelompok kontrol) dan 16 tikus Wistar diberi Vitamin C (kelompok perlakuan). 32 tikus Wistar di atas diberi perlakuan dengan cara dicabut gigi molar pertama rahang bawah sebelah kiri. 32 tikus wistar tersebut dikorbankan pada hari 1, 3, 7 dan 15 kemudian dilakukan preparasi jaringan selanjutnya dibuat sediaan dan diamati.

Pengamatan histologis dilakukan dengan cara diamati di bawah mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 400 kali. Setiap preparat terdiri dari 5 irisan dan masing-masing irisan diamati 5 lapangan pandang dan dihitung jumlah osteoblasnya. Hasil perhitungan osteoblas dapat di lihat pada tabel 1.

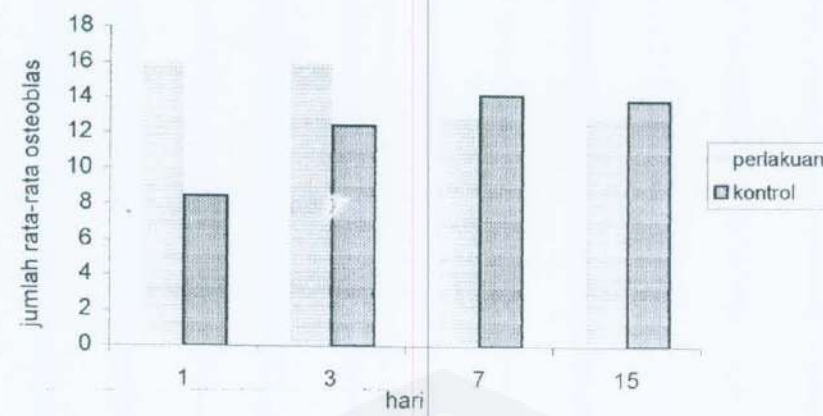
Tabel 1. Jumlah osteoblas pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Hewan	P1	P3	P7	P15	K1	K3	K7	K15
1	15.48	15.4	13.68	12.76	6.28	10.4	14.72	14.56
2	16.08	16.2	12.96	13.32	9.32	12.36	14	14.12
3	16.44	16.4	12.72	13.64	8.76	12.36	13.84	13.68
4	16.28	16.04	12.84	13.4	9.56	14.76	14.28	13.4
Rata-rata	16.07	16.01	13.05	13.28	8.48	12.47	14.21	13.94
sd	0.42	0.43	0.43	0.37	1.50	1.78	0.39	0.51

Berdasarkan rata-rata jumlah osteoblas diatas maka dapat disimpulkan:

1. Jumlah osteoblas kelompok perlakuan hari ke-1 dan ke-3 lebih banyak daripada kelompok kontrol hari ke-1 dan ke-3
2. Jumlah osteoblas kelompok perlakuan hari ke-7 dan ke-15 lebih sedikit daripada kelompok kontrol hari ke-7 dan ke-15
3. Jumlah osteoblas kelompok perlakuan hari ke-1 dan ke-3 lebih banyak daripada kelompok perlakuan hari ke-7 dan ke-15
4. Jumlah osteoblas kelompok kontrol hari ke-1 dan ke-3 lebih sedikit daripada kelompok kontrol hari ke-7 dan ke-15

Data diatas dapat dilihat secara histogram pada grafik berikut:



Gambar 5 : Grafik Perbandingan Jumlah Osteoblas

4.2 Analisa Data

Sebelum dilakukan uji Anova satu arah terlebih dahulu dilakukan uji Normalitas dengan tujuan untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal dan uji homogenitas varian untuk menguji berlaku tidaknya salah satu asumsi yakni ragam dari populasi-populasi tersebut sama.

Tabel 2. Hasil Uji Homogenitas Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan.

F	df1	df2	Sig
1,910	7	24	,112

Keterangan:

F : taraf kepercayaan

df1 : derajat bebas kelompok perlakuan

df2 : standar error

Sig : probabilitas

Uji normalitas data menggunakan uji Kolmogorov-smirnov dan didapatkan hasil nilai $P > 0,05$, ini berarti data yang diperoleh terdistribusi normal. Dari hasil uji homogenitas varian didapatkan hasil yang signifikan yakni 0,112 ($P > 0,05$). Jadi dapat disimpulkan bahwa ragam dari semua kelompok adalah homogen.

Kemudian uji statistik yang dilakukan adalah uji parametrik yakni dengan uji Anova satu arah dengan kemaknaan $P=0,05$.

Tabel 3. Hasil Uji Anova Satu Arah.

Sumber keragaman	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Kuadrat tengah	F	Sig
Hari*Perl	100,504	3	33,501	40,959	,000
Total	5959,170	32			

Berdasarkan hasil Anova satu arah diperoleh $p=0,000$ ($p<0,05$) dalam hal ini terdapat perbedaan bermakna antara hari pemberian vitamin C terhadap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap jumlah osteoblas. Untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan pada masing-masing variabel maka dilanjutkan dengan uji Tukey HSD.

Tabel 4. Hasil Uji Tukey HSD

Kombinasi	Kombinasi	Mean Difference	Std. Error	Sig.
P1	P3	6.000E-02	.6395	1.000
	P7	3.0200*	.6395	.002
	P15	2.7900*	.6395	.004
	K1	7.5900*	.6395	.000
	K3	3.6000*	.6395	.000
	K7	1.8600	.6395	.115
	K15	2.1300*	.6395	.048
P3	P1	-6.0000E-02	.6395	1.000
	P7	2.9600*	.6395	.002
	P15	2.7300*	.6395	.006
	K1	7.5300*	.6395	.000
	K3	3.5400*	.6395	.000
	K7	1.8000	.6395	.138
	K15	2.0700	.6395	.059

P7	P1	-3.0200*	.6395	.002
	P3	-2.9600*	.6395	.002
	P15	-.2300	.6395	1.000
	K1	4.5700*	.6395	.000
	K3	.5800	.6395	.982
	K7	-1.600	.6395	.617
	K15	-.8900	.6395	.852
P15	P1	-2.7900*	.6395	.004
	P3	-2.7300*	.6395	.006
	P7	.2300	.6395	1.000
	K1	4.8000*	.6395	.000
	K3	.8100	.6395	.902
	K7	-.9300	.6395	.823
	K15	-.6600	.6395	.964
K1	P1	-7.5900*	.6395	.000
	P3	-7.5300*	.6395	.000
	P7	-4.5700*	.6395	.000
	P15	-4.8000*	.6395	.000
	K3	-3.9900*	.6395	.000
	K7	-5.7300*	.6395	.000
	K15	-5.4600*	.6395	.000
K3	P1	-3.6000*	.6395	.000
	P3	-3.5400*	.6395	.000
	P7	-.5800	.6395	.982
	P15	-.8100	.6395	.902
	K1	3.9900*	.6395	.000
	K7	-1.7400	.6395	.164
	K15	-1.4700	.6395	.334
K7	P1	-1.8600	.6395	.115

	P3	-1.8000	.6395	.138
	P7	1.1600	.6395	.617
	P15	.9300	.6395	.823
	K1	5.7300*	.6395	.000
	K3	1.7400	.6395	.164
	K15	.2700	.6395	1.000
K15	P1	-2.1300*	.6395	.048
	P3	-2.0700	.6395	.059
	P7	.8900	.6395	.852
	P15	.6600	.6395	.964
	K1	5.4600*	.6395	.000
	K3	1.4700	.6395	.334
	K7	-.2700	.6395	1.000

* berbeda bermakna

Dari uji Tukey HSD menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara lain:

1. kelompok perlakuan hari ke-3 dengan kelompok perlakuan hari ke-7
2. kelompok perlakuan hari ke-1 dengan kelompok kontrol hari ke-1
3. kelompok perlakuan hari ke-3 dengan kelompok kontrol hari ke-3
4. kelompok kontrol hari ke-1 dengan kelompok kontrol hari ke-3

Hasil uji Tukey HSD yang menunjukkan perbedaan tidak bermakna antara lain:

1. kelompok perlakuan hari ke-1 dengan kelompok perlakuan hari ke-3
2. kelompok perlakuan hari ke-7 dengan kelompok perlakuan hari ke-15
3. kelompok perlakuan hari ke-7 dengan kelompok kontrol hari ke-7
4. kelompok perlakuan hari ke-15 dengan kelompok kontrol hari ke-15
5. kelompok kontrol hari ke-3 dengan kelompok kontrol hari ke-7
6. kelompok kontrol hari ke-7 dengan kelompok kontrol hari ke-15

V. PEMBAHASAN

Pencabutan gigi akan menimbulkan luka di soket gigi. Luka yang ditimbulkan dapat dengan mudah sembuh akan tetapi tidak jarang juga mengalami berbagai komplikasi yang akan memperlambat proses penyembuhan. Pada waktu melakukan pencabutan biasanya diikuti dengan sedikit fraktur pada jaringan tulang pendukung (Ismardianita, 2003).

Penyembuhan tulang ialah proses pembentukan jaringan tulang karena aktivitas osteoblas dan osteoblas yang mengalami kalsifikasi dapat dilihat secara histologis (Robin dan Angell dalam Oedijani, 1992). Awal penyembuhan tulang yang dapat dilihat secara histologis ialah terbentuknya matriks tulang (kolagen) oleh fibroblas maupun oleh osteoblas atau disebut proses kolagenisasi (Junqueira dalam Oedijani, 1992).

Setelah tikus diberi vitamin C kemudian dilakukan pengamatan selanjutnya dianalisa dengan uji statistik Anova satu arah. Dari hasil uji Anova didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C mempengaruhi jumlah osteoblas pada proses penyembuhan tulang.

Diferensiasi osteoblas dari *stem cell precursor* membutuhkan vitamin C (Franceschi dalam Harijanti, 1996). Oleh karena itu penyembuhan fraktur pada jaringan tulang pendukung gigi pasca pencabutan dapat dipercepat dengan mengkonsumsi Vitamin C. Vitamin C akan merangsang proliferasi sel tulang selain itu sangat penting juga untuk sintesis matriks kolagen tipe 1, aktivitas alkaline phosphatase, akumulasi osteocalcin dan mineralisasi matriks pada osteoblas (Franceschi dalam [www. rx vitamins.com/people/bonetech](http://www.rxvitamins.com/people/bonetech)). Vitamin C juga menstimulasi absorpsi Calcium (Bourne dalam www. rx vitamins.com/people/bonetech).

Penyembuhan tulang dibagi menjadi dua fase yaitu fase seluler yang terjadi 2-4 minggu dengan proliferasi dan diferensiasi sel dan fase pembentukan tulang baru (Kent dalam Oedijani, 1992). Setelah gigi dicabut maka darah akan

mengisi soket, 24–48 jam kemudian setelah ekstraksi terjadi vasodilatasi dan masuknya pembuluh darah ke bekas daerah pencabutan, mobilisasi leukosit di sekitar bekuan darah (Shafer dkk, 1974).

Kelompok perlakuan hari ke-1 dibanding dengan kelompok kontrol hari ke-1 terdapat peningkatan jumlah osteoblas yang bermakna. Hal ini disebabkan vitamin C mempengaruhi proliferasi osteoblas pada kelompok perlakuan. Vitamin C merangsang proliferasi osteoblas selain itu sangat penting untuk sintesis matriks kolagen tipe 1, aktivitas alkaline phosphatase, akumulasi osteocalcin dan mineralisasi matriks pada osteoblas. Vitamin C juga menstimulasi absorpsi calcium (Bourne dalam www.rxvitamins.com/people/bonetech).

Begitu juga dengan kelompok perlakuan hari ke-3 dibandingkan dengan kelompok kontrol hari ke-3 terdapat peningkatan jumlah osteoblas yang bermakna pada hari ke-3 ini masih terjadi proliferasi sel osteoblas, dengan pemberian vitamin C maka proliferasi osteoblas akan dirangsang daripada kelompok kontrol tanpa vitamin C.

Kelompok perlakuan hari ke-7 dibandingkan dengan kelompok kontrol hari ke-7 terdapat penurunan jumlah osteoblas yang tidak bermakna. Pada hari ke-7 tulang alveolar crest yang membentuk margin soket menunjukkan adanya permulaan aktivitas osteoklas. Sehingga baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan terjadi penurunan jumlah osteoblas. Pemberian vitamin C tidak dapat merangsang proliferasi sel osteoblas karena pada alveolar crest terjadi aktivitas osteoklas.

Pada kelompok kontrol hari ke-15 jumlah sel osteoblas lebih banyak daripada kelompok perlakuan hari ke-15 namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Pada hari ke-15 vitamin C tidak mempengaruhi proliferasi osteoblas. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pada hari ke-15 kelompok perlakuan, proses aktivasi osteoblas sudah mulai hilang. Hal ini ditunjukkan oleh penurunan jumlah osteoblas.

Resorpsi tulang akan diikuti oleh pembentukan tulang, setelah terjadi peningkatan preosteoklas dan aktivasi dari osteoklas maka proses selanjutnya adalah penurunan dari osteoklas dan migrasi preosteoblas. Pada akhirnya

dilanjutkan dengan proses aktivasi dari osteoblas. Proses ini merupakan proses untuk mempertahankan volume tulang yang normal (Anan, 1991).

Pada grafik perbandingan jumlah osteoblas dapat dilihat bahwa pada kelompok perlakuan jumlah osteoblas meningkat pada hari ke-1 dan ke-3 dan menurun pada hari ke-7 dan ke-15, sebaliknya pada kelompok kontrol jumlah osteoblas mulai meningkat pada hari ke-7 dan ke-15. Hal ini dapat disimpulkan bahwa dengan vitamin C maka proliferasi osteoblas dirangsang pada awal penyembuhan (hari ke-1) dan penyembuhan tulang dapat berlangsung dengan cepat.

Vitamin C terkait dengan proses pembentukan kolagen, apabila terjadi defisiensi vitamin C maka pembentukan kolagen akan terganggu selanjutnya sintesis osteoid oleh osteoblas pun akan terganggu. Mekanisme peran vitamin C terhadap osteoblas adalah vitamin C berperan pada proses pembentukan rantai polipeptida dari prokolagen. Dalam proses reaksi hidroksilasi yang melibatkan reaksi pertukaran kelompok hidroksil, OH, dengan atom hidrogen, H, dari proline residu pada rantai polipeptida membutuhkan vitamin C. Satu molekul dari vitamin C dipecah untuk setiap H yang digantikan OH, sehingga akan terbentuk kolagen (Pauling *dalam* Maryana, 2004). Salah satu komponen organik dari matriks tulang adalah kolagen tipe I, dengan adanya vitamin C maka proliferasi osteoblas dapat berlangsung dengan baik.

Di dalam gingiva dan ligamen periodontal terdapat kelompok sel sel jaringan ikat yang terdiri dari fibroblas yang menempati kira-kira 50 % volume jaringan ikat, osteoblas, sementoblas dan osteoklas, kelompok sel-sel pertahanan tubuh seperti makrofag, eosinofil dan mast cell, kelompok unsur neurovaskuler yaitu pembuluh darah dan saraf (Bloom dan Tencate *dalam* Trenggono, 1996). Selain itu fibroblas yang berasal dari ligamen periodontal lebih cepat berproliferasi dan bermigrasi untuk membentuk serabut kolagen dan jaringan tulang dibanding fibroblas yang berasal dari jaringan paravaskuler dan endosteal (Lin dkk *dalam* Ismardianita, 2003).

Dari hasil diatas dapat dilihat bahwa penyembuhan tulang pada tikus lebih cepat pada manusia. Pada dasarnya pola umum penyembuhan tulang pada

manusia dan binatang adalah sama hanya waktu yang kadang-kadang berbeda. Penyembuhan tulang pada manusia lebih lambat daripada penyembuhan pada anjing (Caflin dalam Oedijani, 1992).

Pada penelitian lain, penyembuhan tulang bisa dihambat oleh radikal bebas dengan adanya pemberian vitamin C maka penyembuhan tulang dapat berlangsung dengan baik karena salah satu manfaat vitamin C sebagai antioksidan (http://www.thejcdp.com/issue_018/bsoul/046soul.htm). Oleh karena itu pada kelompok perlakuan penyembuhan tulangnya dapat berlangsung dengan cepat.

Pada kelompok perlakuan hari-1 dibanding dengan kelompok perlakuan hari-3 tidak terdapat peningkatan yang bermakna jumlah sel osteoblas. Pada hari ke-1 (24 jam setelah ekstraksi) hanya terjadi vasodilatasi dan mobilisasi leukosit pada area di sekeliling bekuan darah (Shafer dkk, 1974). Pada hari ke-2 dan ke-3 akan tampak kondroblas dan osteoblas yang berproliferasi dengan cepat, disekitar daerah periosteum dan endosteum yang cedera (Robbins dan Kumar, 1995). Oleh karena itu dapat disimpulkan jumlah osteoblas pada hari ke-1 dan ke-3 tidak terdapat peningkatan yang bermakna karena pada hari ke-2 dan ke-3 osteoblas berproliferasi dengan cepat. Hal ini dapat dilihat dari tabel jumlah osteoblas pada hari ke-1 dan ke-3 tidak berbeda jauh.

Pada kelompok perlakuan hari ke-3 dibanding dengan kelompok perlakuan hari ke-7 terdapat penurunan jumlah osteoblas yang bermakna. Pada minggu ini terjadi proliferasi fibroblas dari jaringan penghubung di dalam bekas pencabutan dan puncak tulang yang membentuk tepi atau leher soket menunjukkan aktivitas resorpsi oleh osteoklas (Shafer dkk, 1974). Vitamin C pada minggu pertama ini tidak mempengaruhi diferensiasi osteoblas.

Tidak terdapat perbedaan yang bermakna peningkatan jumlah osteoblas jika membandingkan kelompok perlakuan pada hari ke-7 dan hari ke-15. Pada akhir minggu ke II (hari ke-15) ini kapiler-kapiler baru telah penetrasi ke pusat jendalan darah, daerah bekas pencabutan perlahan-lahan terjadi degenerasi dan masih terus menunjukkan resorpsi oleh osteoklas (Shafer dkk, 1974). Pada hari ke-15 ini vitamin C tidak mempengaruhi diferensiasi osteoblas, hal ini dapat dilihat

dari peningkatan jumlah osteoblas dari hari ke-15 dibanding hari ke-7 namun tidak berbeda jauh.

Terjadi peningkatan jumlah sel osteoblas yang bermakna pada kelompok kontrol hari ke-1 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol hari ke-3, karena pada hari ke-2 atau ke-3 akan tampak kondroblas dan osteoblas yang berproliferasi dengan cepat, disekitar daerah periosteum dan endosteum yang cedera (Robbin dan Kumar, 1995).

Pada kelompok kontrol hari ke-3 dan hari ke-7 terdapat peningkatan jumlah sel osteoblas yang tidak bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa proses proliferasi osteoblas hampir selesai dan akan digantikan oleh proses resorpsi tulang. Namun tidak terlalu beda jauh jumlah sel osteoblas hari ke-7 dan ke-15.

Pada kelompok kontrol hari ke-7 dan hari ke-15 terdapat penurunan jumlah osteoblas yang tidak bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa osteoblas sudah tidak dirangsang lagi, karena pada minggu ini terjadi aktivitas resorpsi oleh osteoklas pada tepi soket.

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1. Kesimpulan

- a. Pemberian Vitamin C dapat mempengaruhi peningkatan jumlah osteoblas pada proses penyembuhan tulang.
- b. Vitamin C meningkatkan proliferasi osteoblas pada hari ke-1 dan hari ke-3.

VI.2. Saran

1. Vitamin C dapat digunakan sebagai perawatan suportif pada proses penyembuhan melalui regenerasi jaringan khususnya pada tulang sehingga mempercepat waktu penyembuhan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan dosis vitamin C dan jangka waktu yang baik terhadap jumlah osteoblas pada proses penyembuhan tulang.
3. Dari hasil penelitian kita dapat mengetahui proses penyembuhan tulang namun tidak secara mendetail, perlu juga dilihat peningkatan dan penurunan jumlah osteoklas yang dipengaruhi oleh vitamin C.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, Sunita. 2003. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Anan, H, dkk. 1991. A Histochemical Study of Bone Remodelling During Experimental Apical Periodontitis in Rats. Dalam *Journal of Endodontics Vol 17 No 7*.hal 332-334
- Cormack, David H. Ph.D. 1994. *HAM Histologi ed 9*. Jakarta : Binarupa Aksara.
- Ganiswarna,S.G., Rianto, S., Frans, D.S., Purwastyastuti, Nafrialdi.2001. *Farmakologi dan Terapi ed. 4*. Jakarta : Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gartner,Leslie P. 1987. *Atlas of Histology*. USA : Williams & Wilkins.
- Ghosh, S. 1971. *Fundamental of Experimental Pharmacology*. Calcutta : Scientific Book Agency.
- Guyton, Arthur C., Hall, John E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC.
- Harijanti, Kus. 1996. Peranan Vitamin C dalam Kesehatan Jaringan Lunak Rongga Mulut.Dalam *Majalah Kedokteran Gigi vol 29 no 3*. Surabaya : Universitas Airlangga. hal 59-62
- Harmono, Happy. 2003. Tesis : *Pengaruh Pemberian Kontrasepsi Oral Kombinasi (Ethinilestradiol-Levonorgestrol) terhadap Gambaran Mikroskopis Gingiva Tikus Betina Jenis Wistar (Rattus norvegicans)*. Tesis Program Pasca Sarjana. Surabaya : Fakultas Kedokteran Gigi Unair.
- <http://www.rxvitamins.com/people/bonetech.asp>, (Online), diakses 30 Oktober 2004.
- <http://www.orst.edu/dept/lpi/sp-su97/vitC.html>, (online), diakses 10 Agustus 2002
- http://www.thejcdp.com/issue_018/bsoul/04bsoul.htm (Online),diakses 3 Januari 2005
- Ismardianita, Efa dkk. 2003. Pengaruh Kuretase terhadap Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi Kajian Histologi pada Tikus Galur Wistar. Dalam *Dentika Dental Journal. Vol. 8. No. 2*. Medan : Fakultas Kedokteran Gigi USU. hal 75-80

- Junqueira, L.C, J. Carneiro, dan R.O. Kelly. 1998. *Basic Histology ed 9*.USA : McGraw-Hill Companies.
- Leeson. Leeson. Paparo. 1996. *Buku Ajar Histologi*, Edisi V. Alih bahasa : Staf Ahli Histologi FKUI. Judul asli : *Textbook of Histology*. Jakarta : EGC.
- Maryana, T. 2004. *Pengaruh pemberian Gel Lidah Buaya (Aloe Vera) Per Oral Terhadap Jumlah Osteoblas pada tikus Galur Wistar Jantan Pasca Pencabutan Gigi*. Skripsi. Jember: FKG UNEJ
- Notoatmodjo, Soekidjo. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : PT Rineka Cipta.
- Oedijani. 1992. Pola Kolagenasi Jejas Tulang Mandibula Rattus norvegicus Pasca Implantasi. Dalam *Jurnal Kedokteran Gigi PDGI. No. 2 tahun ke 41*. Jakarta : PDGI hal 30-32
- Price, Sylvia. A. Wilson, Lorraine. M. 1995. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Alih bahasa : dr. Peter Anugerah. Judul asli : *Pathophysiology Clinical Concepts of Disease Processes*. Jakarta : EGC.
- Robbins & Kumar. 1995. *Buku Ajar Patologi I ed 4*. Jakarta : EGC.
- Ross, Michael H., Reith, Edward J. 1985. *Histology : A Text and Atlas*. USA : Harper & Row Publisher.
- Shafer, William. G et al. 1974. *A Textbook of Oral Pathology*. USA : Saunders.
- Suntoro, S. H. 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi & Histokimia)*. Jakarta : Bhratara Karya Aksara.
- Sjamsuhidayat, R., Wim de Jong. 1997. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta : EGC
- Trenggono, Bambang. S. 1996. Zat Kolagen Murni Secara Topikal terhadap Proses Penyembuhan Luka Jaringan Periodontal. Dalam *Majalah ilmiah kedokteran Gigi edisi Khusus Foril V Vol.2*. Jakarta : Fakultas Kedokteran Gigi Usakti. hal 388-392

Lampiran 1

Tabel 1.1. Tabel Perbandingan luas permukaan hewan percobaan untuk konversi dosis

Di cari \ Diket	20 g Mencit	200 g Tikus	400 g Marmut	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

Sumber : Wattimena dan Widiyanto, 1993

Lampiran 2

Tabel 1.2. Tabel batas volume pemberian cairan yang dapat diberikan pada hewan percobaan.

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

Sumber: Wattimena dan Widiyanto, 1993

Lampiran 3

Jumlah Osteoblas Kelompok Perlakuan

Hari	Tikus	Sediaan	Lapang pandang					Rata-rata	- x
			1	2	3	4	5		
1	1	1	19	17	15	18	17	17,2	15,48
		2	18	15	19	15	18	17	
		3	16	14	18	15	20	13,6	
		4	16	19	14	14	19	13,4	
		5	18	16	16	15	16	16,2	
	2	1	15	20	17	19	18	17	16,08
		2	17	15	16	18	15	16,2	
		3	17	18	19	17	16	14,4	
		4	16	15	17	18	16	16,4	
		5	15	18	17	17	15	16,4	
	3	1	18	16	17	15	17	16,6	16,44
		2	15	16	19	15	19	16,8	
		3	18	17	15	16	18	16,8	
		4	15	17	16	17	15	16	
		5	16	18	15	16	15	16	
	4	1	20	16	18	18	15	17,4	16,28
		2	17	14	16	15	14	15,2	
		3	17	15	15	16	15	15,6	
		4	19	14	17	18	16	16,8	
		5	18	17	15	15	17	16,4	
3	1	1	15	19	15	16	15	13	15,4
		2	16	17	15	16	16	16	
		3	16	15	16	15	17	15,8	
		4	17	15	15	17	16	16	
		5	16	17	15	16	17	16,2	
	2	1	17	15	19	19	17	16,6	16,2
		2	15	17	16	18	15	16,2	
		3	16	15	15	16	17	15,8	
		4	18	17	15	15	17	16,4	
		5	16	15	17	17	15	16	
	3	1	15	17	19	15	16	16,4	16,4
		2	16	18	15	17	18	16,8	
		3	16	19	16	15	15	16,2	
		4	18	19	15	17	15	16,6	
		5	16	17	16	15	16	16	
	4	1	15	17	16	18	15	16,2	16,04
		2	16	15	15	17	16	15,8	
		3	17	15	16	16	15	15,8	
		4	16	15	17	16	16	16	
		5	17	18	17	16	15	16,4	

Hari	Tikus	Sediaan	Lapang pandang					Rata-rata	\bar{x}
			1	2	3	4	5		
7	1	1	14	16	13	17	13	14,6	13,68
		2	13	13	12	15	12	13	
		3	11	13	11	14	13	12,4	
		4	15	13	16	12	14	14	
		5	14	13	17	13	15	14,4	
	2	1	13	11	11	13	15	12,6	12,96
		2	14	12	11	12	13	12,4	
		3	14	15	13	11	13	13,2	
		4	16	13	11	12	16	13,6	
		5	13	17	12	11	12	13	
	3	1	11	12	13	13	11	12	12,72
		2	14	12	13	12	11	12,4	
		3	15	13	11	12	13	12,8	
		4	12	15	13	11	17	13,6	
		5	11	13	15	14	11	12,8	
	4	1	12	14	12	14	13	13	12,84
		2	12	13	13	11	12	12,2	
		3	14	11	13	11	11	12	
		4	13	15	12	13	16	13,8	
		5	11	15	13	13	14	13,2	
15	1	1	14	12	12	14	12	12,8	12,76
		2	12	11	15	13	14	13	
		3	12	12	12	13	11	12	
		4	15	11	13	14	12	13	
		5	12	16	13	11	13	13	
	2	1	13	14	12	11	11	12,2	13,32
		2	11	12	14	12	14	12,6	
		3	14	15	17	13	12	14,2	
		4	16	13	14	12	15	14	
		5	13	12	15	17	11	13,6	
	3	1	13	14	12	15	13	13,4	13,64
		2	12	16	14	17	14	14,6	
		3	12	14	13	13	14	13,2	
		4	15	17	12	11	12	13,4	
		5	12	16	13	14	13	13,6	
	4	1	13	12	13	14	14	13,2	13,4
		2	13	14	13	12	15	13,4	
		3	13	16	12	11	17	13,8	
		4	12	14	13	13	14	13,2	
		5	11	15	13	14	14	13,4	

Lampiran 4

Jumlah Osteoblas Kelompok Kontrol

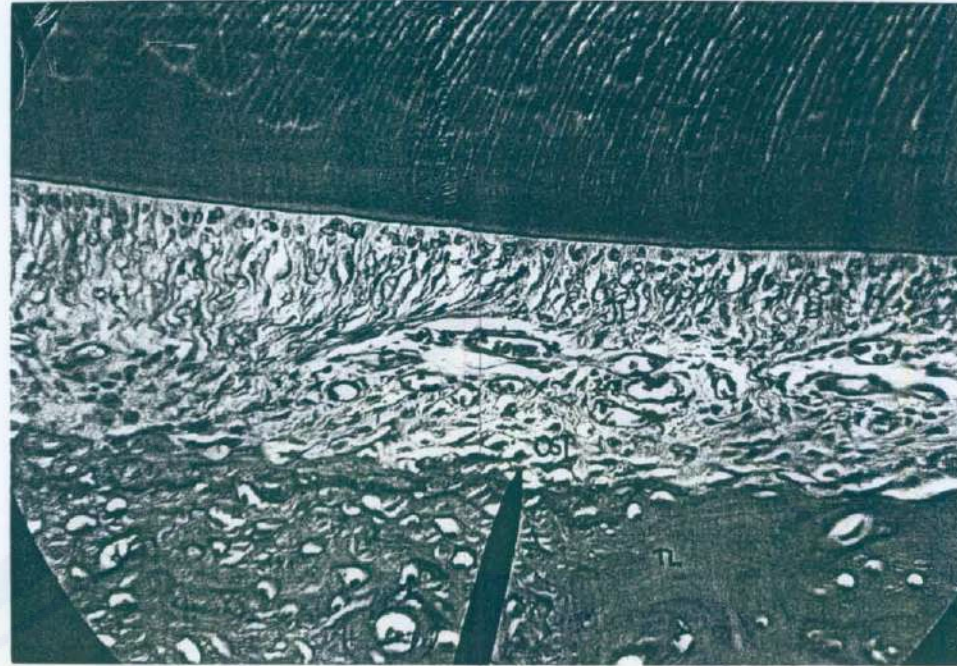
Hari	Tikus	Sediaan	Lapang pandang					Rata-rata	\bar{x}
			1	2	3	4	5		
1	1	1	5	7	5	6	6	5,8	6,28
		2	7	8	5	5	6	6,2	
		3	7	7	8	5	5	6,4	
		4	6	8	6	7	4	6,2	
		5	5	6	7	8	8	6,8	
	2	1	10	9	8	8	7	8,4	9,32
		2	9	8	11	9	9	9,2	
		3	10	1	9	8	12	10	
		4	11	9	9	8	7	8,8	
		5	12	8	12	9	10	10,2	
	3	1	8	11	10	9	8	9,2	8,76
		2	9	8	7	9	7	8	
		3	9	10	8	7	9	8,6	
		4	11	11	9	9	8	9,6	
		5	9	11	7	8	7	8,4	
	4	1	9	11	10	9	13	10,4	9,56
		2	10	8	9	11	8	9,2	
		3	9	13	11	11	8	10,4	
		4	9	10	10	8	10	9,4	
		5	10	8	7	8	9	8,4	
3	1	1	11	14	2	9	10	11,2	10,4
		2	9	15	10	10	9	10,6	
		3	11	10	9	9	10	9,8	
		4	10	9	9	11	13	10,4	
		5	4	10	11	13	12	10	
	2	1	11	10	12	12	10	11	12,36
		2	12	15	16	13	11	11,4	
		3	17	12	13	16	13	14,2	
		4	11	12	15	11	16	13	
		5	10	13	14	13	11	12,2	
	3	1	12	14	14	17	11	13,6	12,36
		2	13	10	11	12	10	11,2	
		3	14	12	14	13	11	12,8	
		4	13	12	13	11	10	11,8	
		5	15	12	12	11	12	12,4	
	4	1	16	14	16	15	18	15,8	14,26
		2	18	17	13	12	16	15,2	
		3	20	17	12	12	11	14,4	
		4	15	12	12	15	15	13,8	
		5	18	15	14	14	12	14,6	

Hari	Tikus	Sediaan	Lapang pandang					Rata-rata	\bar{x}
			1	2	3	4	5		
7	1	1	15	14	16	15	14	14,8	14,72
		2	16	12	14	18	13	14,6	
		3	13	15	18	15	13	15,4	
		4	18	12	15	17	18	16	
		5	11	12	14	15	12	12,8	
	2	1	11	16	16	13	14	14	14
		2	16	17	15	12	12	14,4	
		3	13	16	15	13	12	13,8	
		4	12	16	14	12	15	13,8	
		5	13	16	16	12	13	14	
	3	1	19	19	13	15	13	15	13,84
		2	16	12	14	14	15	14,2	
		3	14	12	15	14	12	13,4	
		4	13	16	16	13	14	14,4	
		5	11	13	12	12	13	12,2	
	4	1	14	13	14	15	14	14	14,28
		2	15	14	16	13	16	14,8	
		3	15	16	14	17	14	15,2	
		4	14	15	12	13	13	13,4	
		5	14	12	15	13	16	14	
15	1	1	16	15	13	13	12	13,8	14,56
		2	19	16	14	17	13	15,8	
		3	14	19	16	14	14	15,4	
		4	13	14	12	13	12	12,8	
		5	16	18	13	15	13	15	
	2	1	15	13	13	15	13	13,8	14,12
		2	18	12	16	15	13	14,8	
		3	17	16	16	12	16	15,4	
		4	12	14	12	15	14	13,4	
		5	13	15	13	12	13	13,2	
	3	1	12	13	12	11	14	12,4	13,68
		2	13	14	16	14	13	14	
		3	12	15	15	16	13	14,2	
		4	15	12	16	13	12	14,4	
		5	16	14	12	12	13	13,4	
	4	1	14	15	13	13	12	13,4	13,4
		2	15	14	17	12	12	14	
		3	13	12	14	14	13	13,2	
		4	14	15	13	12	12	3,2	
		5	11	16	14	13	12	13,2	



Lampiran 5

Foto Hasil Penelitian



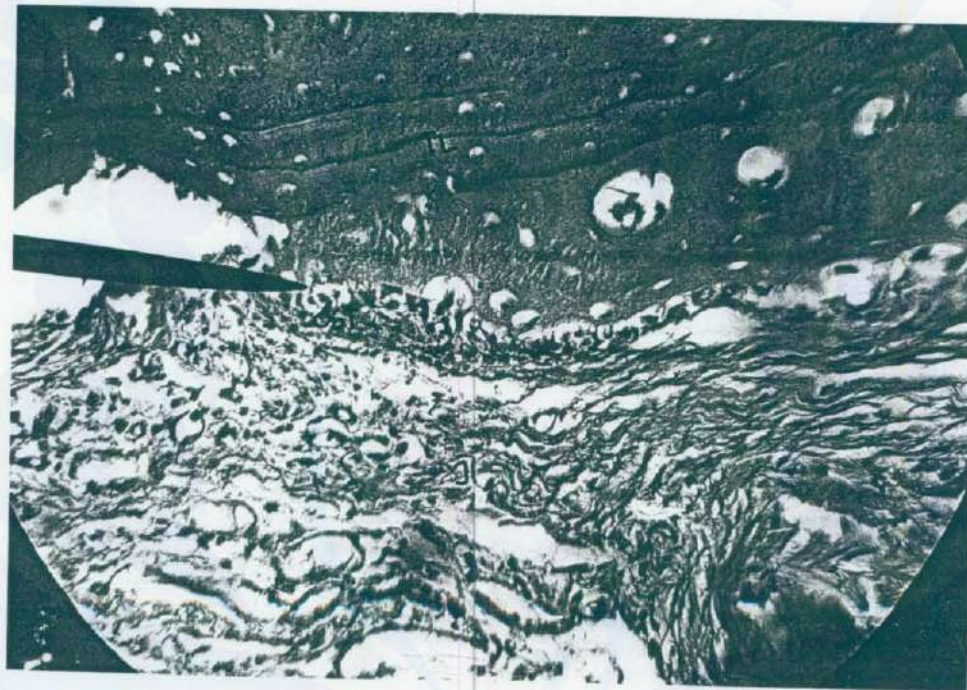
Gambar 2. Foto mikroskop osteoblas kelompok kontrol hari ke-1 dengan pembesaran 400X dan pengecatan HE



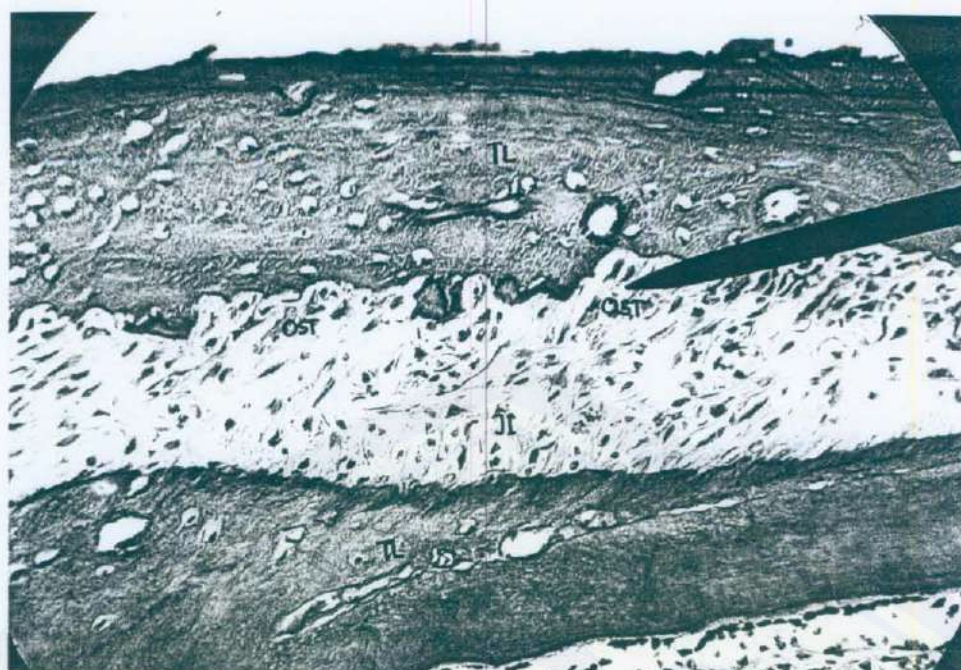
Gambar 2. Foto mikroskop osteoblas kelompok kontrol hari ke-3 dengan pembesaran 400X dan pengecatan HE



Gambar 3. Foto mikroskop osteoblas kelompok kontrol hari ke-7 dengan pembesaran 400X dan pengecatan HE



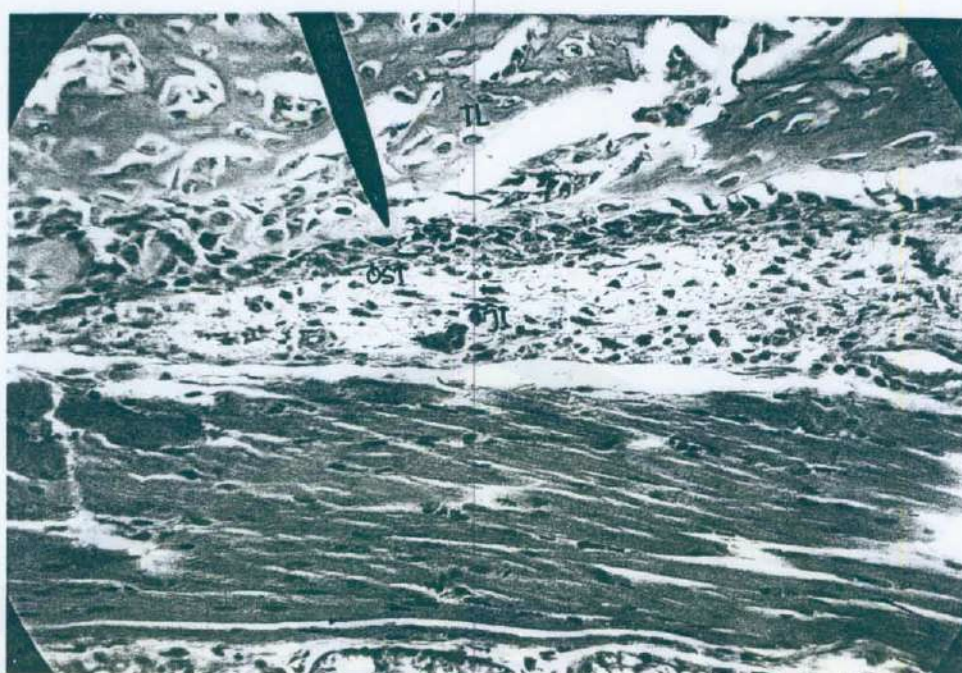
Gambar 4. Foto mikroskop osteoblas kelompok kontrol hari ke-15 dengan pembesaran 400X dan pengecatan HE



Gambar 5. Foto mikroskop osteoblas kelompok perlakuan hari ke-1 dengan pembesaran 400X dan pengecatan HE



Gambar 6. Foto mikroskop osteoblas kelompok perlakuan hari ke-3 dengan pembesaran 400X dan pengecatan HE



Gambar 7. Foto mikroskop osteoblas kelompok perlakuan hari ke-7 dengan pembesaran 400X dan pengecatan HE



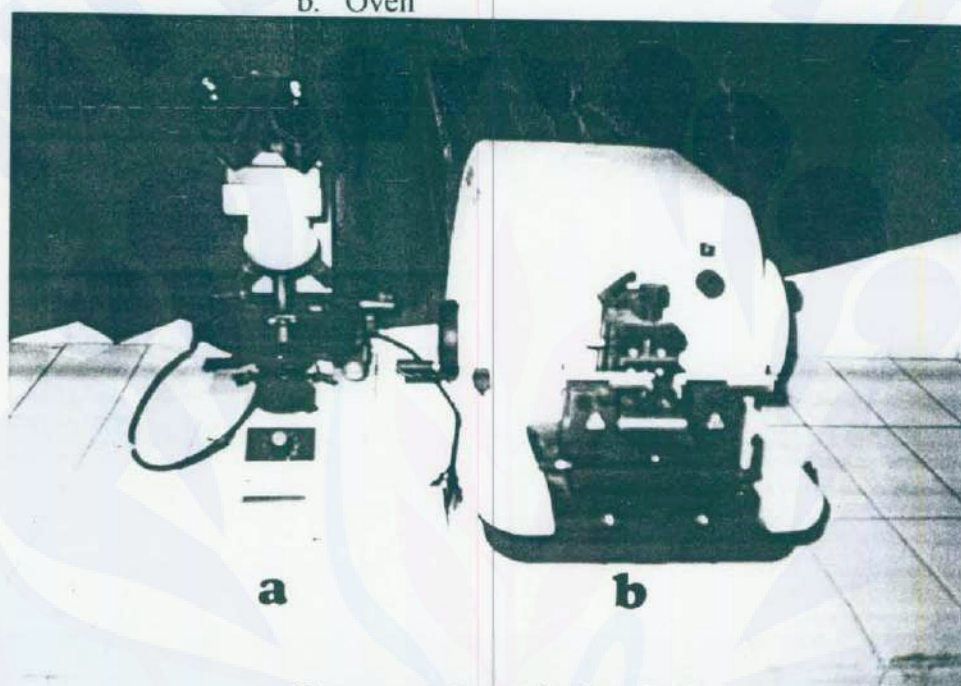
Gambar 8. Foto mikroskop osteoblas kelompok perlakuan hari ke-15 dengan pembesaran 400X dan pengecatan HE

Lampiran 6

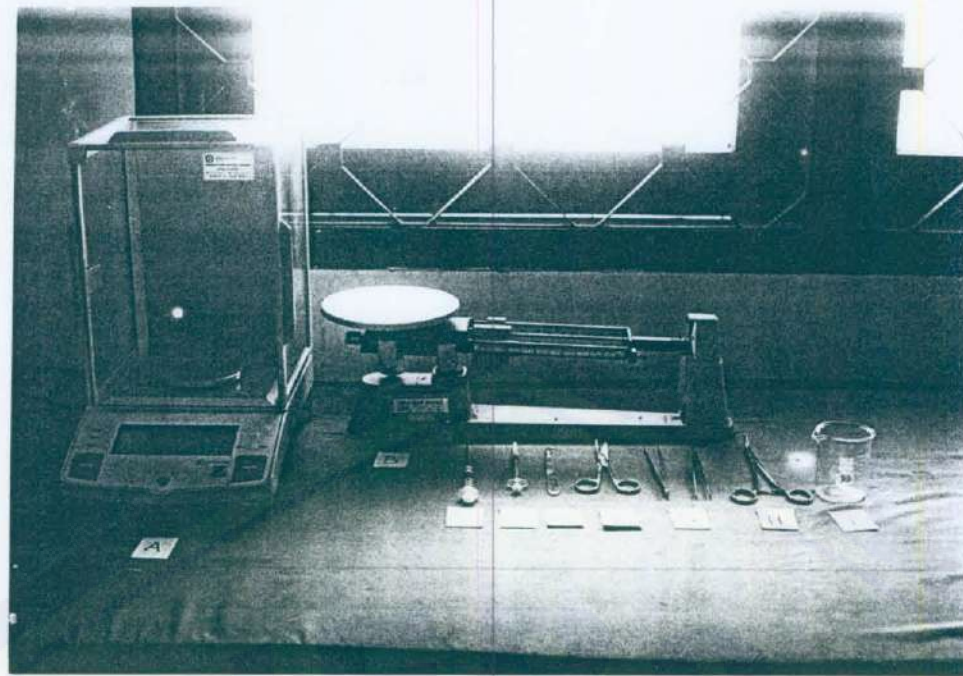
Foto Alat Penelitian



Keterangan Foto Alat Penelitian:
a. *Waterbath*
b. Oven



Keterangan Foto Alat Penelitian:
a. Mikroskop
b. Mikrotom



Keterangan Foto Foto Alat Penelitian:

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

Lampiran 7

Foto Bahan Penelitian



Keterangan Bahan Penelitian:

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



Pemberian vitamin C pada tikus dengan menggunakan sonde lambung



Data rata-rata jumlah osteoblast

Hewan	P1	P3	P7	P15	K1	K3	K7	K15
1	15.48	15.4	13.68	12.76	6.28	10.4	14.72	14.56
2	16.08	16.2	12.96	13.32	9.32	12.36	14	14.12
3	16.44	16.4	12.72	13.64	8.76	12.36	13.84	13.68
4	16.28	16.04	12.84	13.4	9.56	14.76	14.28	13.4
Rata-rata	16.07	16.01	13.05	13.28	8.48	12.47	14.21	13.94
sd	0.42	0.43	0.43	0.37	1.50	1.78	0.39	0.51

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Jumlah Osteoblast	Based on Mean	1.910	7	24	.112
	Based on Median	1.063	7	24	.416
	Based on Median and with adjusted df	1.063	7	7.809	.462
	Based on trimmed mean	1.749	7	24	.145

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		P1	P3	P7	P15	K1	K3	K7	K15
N		4	4	4	4	4	4	4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	16.0700	16.0100	13.0500	13.2800	8.4800	12.4700	14.2100	13.9400
	Std. Deviation	.4200	.4325	.4313	.3724	1.5045	1.7845	.3856	.5086
Most Extreme Differences	Absolute	.259	.278	.333	.293	.324	.275	.207	.195
	Positive	.189	.184	.333	.169	.236	.275	.207	.195
	Negative	-.259	-.278	-.222	-.293	-.324	-.225	-.169	-.144
Kolmogorov-Smirnov Z		.519	.555	.665	.586	.648	.549	.414	.391
Asymp. Sig. (2-tailed)		.950	.917	.768	.883	.796	.924	.995	.998

a. Test distribution is Normal.
 b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance**Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
Hari	1		8
	3		8
	7		8
	15		8
Perlakuan	1	P	16
	2	K	16

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Jumlah Osteoblast

F	df1	df2	Sig.
1.910	7	24	.112

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+HARI+PERL+HARI * PERL

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Jumlah Osteoblast

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	160.340 ^a	7	22.906	28.005	.000
Intercept	5779.200	1	5779.200	7065.757	.000
HARI	16.498	3	5.499	6.723	.002
PERL	43.338	1	43.338	52.986	.000
HARI * PERL	100.504	3	33.501	40.959	.000
Error	19.630	24	.818		
Total	5959.170	32			
Corrected Total	179.970	31			

a. R Squared = .891 (Adjusted R Squared = .859)

Estimated Marginal Means**Grand Mean**

Dependent Variable: Jumlah Osteoblast

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
13.439	.160	13.109	13.769



Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Osteoblast
Tukey HSD

(I) PXH	(J) PXH	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P3	6.000E-02	.6395	1.000	-2.0580	2.1780
	P7	3.0200*	.6395	.002	.9020	5.1380
	P15	2.7900*	.6395	.004	.6720	4.9080
	K1	7.5900*	.6395	.000	5.4720	9.7080
	K3	3.8000*	.6395	.000	1.4820	5.7180
	K7	1.8600	.6395	.115	-.2580	3.9780
P3	K15	2.1300*	.6395	.048	1.202E-02	4.2480
	P1	-6.000E-02	.6395	1.000	-2.1780	2.0580
	P7	2.9600*	.6395	.002	.8420	5.0780
	P15	2.7300*	.6395	.006	.6120	4.8480
	K1	7.5300*	.6395	.000	5.4120	9.6480
	K3	3.5400*	.6395	.000	1.4220	5.6580
P7	K7	1.8000	.6395	.138	-.3180	3.9180
	K15	2.0700	.6395	.059	-4.798E-02	4.1880
	P1	-3.0200*	.6395	.002	-5.1380	-.9020
	P3	-2.9600*	.6395	.002	-5.0780	-.8420
	P15	-.2300	.6395	1.000	-2.3480	1.8880
	K1	4.5700*	.6395	.000	2.4520	6.6880
P15	K3	.5800	.6395	.982	-1.5380	2.6980
	K7	-1.1600	.6395	.617	-3.2780	.9580
	K15	-.8900	.6395	.852	-3.0080	1.2280
	P1	-2.7900*	.6395	.004	-4.9080	-.6720
	P3	-2.7300*	.6395	.006	-4.8480	-.6120
	P7	.2300	.6395	1.000	-1.8880	2.3480
K1	K1	4.8000*	.6395	.000	2.6820	6.9180
	K3	.8100	.6395	.902	-1.3080	2.9280
	K7	-.9300	.6395	.823	-3.0480	1.1880
	K15	-.6600	.6395	.964	-2.7780	1.4580
	P1	-7.5900*	.6395	.000	-9.7080	-5.4720
	P3	-7.5300*	.6395	.000	-9.6480	-5.4120
K3	P7	-4.5700*	.6395	.000	-6.6880	-2.4520
	P15	-4.8000*	.6395	.000	-6.9180	-2.6820
	K3	-3.9900*	.6395	.000	-6.1080	-1.8720
	K7	-5.7300*	.6395	.000	-7.8480	-3.6120
	K15	-5.4600*	.6395	.000	-7.5780	-3.3420
	P1	-3.6000*	.6395	.000	-5.7180	-1.4820
K7	P3	-3.5400*	.6395	.000	-5.6580	-1.4220
	P7	-.5800	.6395	.982	-2.6980	1.5380
	P15	-.8100	.6395	.902	-2.9280	1.3080
	K1	3.9900*	.6395	.000	1.8720	6.1080
	K7	-1.7400	.6395	.164	-3.8580	.3780
	K15	-1.4700	.6395	.334	-3.5880	.6480
K15	P1	-1.8600	.6395	.115	-3.9780	.2580
	P3	-1.8000	.6395	.138	-3.9180	.3180
	P7	1.1600	.6395	.617	-.9580	3.2780
	P15	.9300	.6395	.823	-1.1880	3.0480
	K1	5.7300*	.6395	.000	3.6120	7.8480
	K3	1.7400	.6395	.164	-.3780	3.8580
K15	K15	.2700	.6395	1.000	-1.8480	2.3880
	P1	-2.1300*	.6395	.048	-4.2480	-1.202E-02
	P3	-2.0700	.6395	.059	-4.1880	4.798E-02
	P7	.8900	.6395	.852	-1.2280	3.0080
	P15	.6600	.6395	.964	-1.4580	2.7780
	K1	5.4600*	.6395	.000	3.420	7.5780
K3	K3	1.4700	.6395	.334	-.6480	3.5880
	K7	-.2700	.6395	1.000	-2.3880	1.8480

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Jumlah Osteoblast

Tukey HSD^a

PXH	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
K1	4	8.4800			
K3	4		12.4700		
P7	4		13.0500		
P15	4		13.2800		
K15	4		13.9400	13.9400	
K7	4		14.2100	14.2100	14.2100
P3	4			16.0100	16.0100
P1	4				16.0700
Sig.		1.000	.164	.059	.115

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Profile Plots

Est. Marg. Means of Jumlah Osteoblast

