

**SKRIPSI**

**2022**

**PENGARUH ASAM ASKORBAT TERHADAP  
KRISTALISASI KALSIMUM OKSALAT SECARA *IN VITRO***



**DISUSUN OLEH:**

**Imam Adrian Rakhman**

**C011191014**

**PEMBIMBING:**

**Dr. dr. Syahrijuita, M.Kes., Sp.T.H.T-B.K.L.(K).**

**DISUSUN SEBAGAI SALAH SATU SYARAT UNTUK  
MENYELESAIKAN STUDI PADA PROGRAM STUDI  
PENDIDIKAN DOKTER FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**2022**

**PENGARUH ASAM ASKORBAT TERHADAP KRISTALISASI KALSIMUM  
OKSALAT SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada Universitas Hasanuddin  
Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat  
Mencapai Gelar Sajana Kedokteran**

**Imam Adrian Rakhman**

**C011191014**

**Pembimbing :**

**Dr. dr. Syahrijuita, M.Kes., Sp.T.H.T-B.K.L.(K).**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**MAKASSAR**

**2022**

## HALAMAN PENGESAHAN

Telah disetujui untuk dibacakan pada seminar akhir  
di Departemen Biokimia  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dengan judul:

### **PENGARUH ASAM ASKORBAT TERHADAP KRISTALISASI KALSIMUM OKSALAT SECARA IN VITRO**

**Hari, Tanggal** : Kamis, 22 Juni 2022

**Waktu** : 10.00 WITA

**Tempat** : ZOOM Online

Makassar, 22 Juni 2022



**Dr. dr.Svahrijuita, M.Kes., Sp.T.H.T-B.K.L.(K).**

**NIP. 196812301998032001**

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

PENGARUH ASAM ASKORBAT TERHADAP  
KRISTALISASI KALSIMUM OKSALAT SECARA IN VITRO

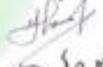
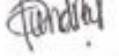
Disusun dan Diajukan oleh

Imam Adrian Rakhman

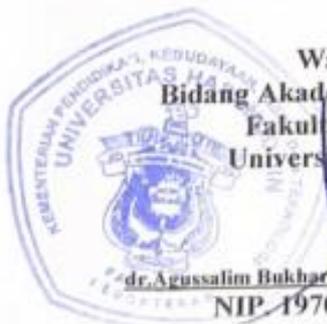
C011191014

Menyetujui

Panitia Penguji

No.	Nama Penguji	Jabatan	Tanda Tangan
1	Dr.dr.Syahrijuita, M.Kes., Sp.T.H.T- B.K.L.(K)	Pembimbing	
2	dr.Marhaen Hardjo, M.Biomed, Ph.D	Penguji 1	
3	dr. Diandra Sabrina NK	Penguji 2	

Mengetahui:



Wakil Dekan  
Bidang Akademik, Riset & Inovasi  
Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin

dr. Agus salim Bukhari, M.Clin.Med., Ph.D., Sp.GK(K)  
NIP. 197008211999031001

Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran  
Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin

  
dr. Ririn Nislawati, M.Kes., Sp.M  
NIP. 198101182019122003

## LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Imam Adrian Rakhman  
NIM : C011191014  
Tempat & Tanggal Lahir : Makassar, 22 April 2001  
Alamat Tempat Tinggal : BTN. Citra Mangalli Permai B2 No.27  
Alamat Email : aimam.22@yahoo.com  
Nomor Telepon : 082293536810

Dengan ini, menyatakan bahwa skripsi berjudul: **“Pengaruh Asam Askorbat Terhadap Kristalisasi Kalsium Oksalat Secara *In Vitro*”** adalah hasil karya saya. Apabila terdapat kutipan atau pemakaian dari hasil karya orang lain berupa tulisan, gambar, dan ilustrasi yang terpublikasi atau tidak terpublikasi telah dikutip sesuai pedoman kutipan akademis.

Saya menyadari plagiarisme adalah kejahatan akademis, dan melakukannya akan menyebabkan sanksi berat berupa pembatalan skripsi dan sanksi akademik lainnya. Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Makassar, 22 Juni 2022



Imam Adrian Rakhman

**TELAH DISETUJUI UNTUK DICETAK DAN DIPERBANYAK**

Skripsi Berjudul:

**PENGARUH ASAM ASKORBAT TERHADAP KRISTALISASI KALSIMUM  
OKSALAT SECARA *IN VITRO***

**Makassar, 22 Juni 2022**

**Pembimbing,**

**(Dr. dr. Syahrjuita, M.Kes., Sp. T.H.T-B.K.L. (K).)**

**NIP. 196812301998032001**

**Imam Adrian Rakhman (C011191014)**  
**Dr. dr. Syahrijuita, M.Kes., Sp.T.H.T-B.K.L.(K).**  
**“Pengaruh Asam Askorbat Terhadap Kristalisasi Kalsium Oksalat Secara *In Vitro*”**

### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Batu kalsium oksalat menjadi salah satu jenis batu penyebab tersering peningkatan insidensi dari kelompok penyakit urolitiasis. Terapi diet buah sitrus yang kaya sitrat, menjadi pilihan paling mudah dan murah dalam mencegah peningkatan kasus batu kalsium oksalat. Tetapi, senyawa kompleks selain sitrat yang terkandung dalam buah sitrus belum diketahui efeknya terhadap batu kalsium oksalat. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menilai pengaruh asam askorbat terhadap kristalisasi kalsium oksalat secara *in vitro*. **Metode:** penelitian ini adalah studi *experimental* dengan *post-test only group design*. Pengujian secara spektrofotometrik dengan sampel larutan standar kalsium oksalat yang diinduksi hiperoksalouria menggunakan dua parameter yaitu, laju Agregasi (SN) dan laju nukleasi (SA). Efek inhibitorik dinilai dari SN dan SA yang didapatkan dari gradien garis potong kurva absorbansi terhadap waktu dengan tiga kali pengukuran tak terikat. Asam Askorbat konsentrasi 0,00195M digunakan sebagai kelompok perlakuan sedangkan larutan standar kalsium oksalat dan *C. aurantiifolia* sebagai kontrol negatif dan positif. **Hasil Penelitian:** penambahan asam askorbat berhasil menurunkan laju nukleasi menjadi  $34,8 \pm 22,92$  dengan  $p=0,003$  dibandingkan kontrol negatif. Sementara itu, pada laju agregasi berhasil diturunkan menjadi  $9,9 \pm 1,06$ , tetapi tidak signifikan ( $p=0,0948$ ) dibandingkan dengan kontrol negatif. **Kesimpulan:** Asam askorbat berhasil menurunkan laju nukleasi (SN) dan berpotensi menurunkan laju agregasi (SA).

**Kata kunci:** Asam askorbat, Kristalisasi Kalsium Oksalat

**Imam Adrian Rakhman (C011191014)**

**Dr. dr. Syahrijuita, M.Kes., Sp.T.H.T-B.K.L.(K).**

**"Effect of Ascorbic Acid on In Vitro Crystallization of Calcium Oxalate"**

### **ABSTRACT**

**Background:** Calcium oxalate stones are one of the most common types of stones that cause an increase in the incidence of the urolithiasis group. Diet therapy citrus fruit rich in citrate is the easiest and cheapest option to prevent the increase in calcium oxalate stones. However, other than citrate in citrus fruits, complex compounds have no known effect on calcium oxalate stones. Therefore, this study was conducted to assess the effect of ascorbic acid on calcium oxalate crystallization *in vitro*. **Methods:** This research is an experimental study with a post-test-only group design. Spectrophotometric testing with a sample of calcium oxalate standard solution induced hyperoxaluria using two parameters: the rate of aggregation (SN) and the rate of nucleation (SA). The assessed inhibitory effect of SN and SA was obtained from the cut-line gradient of the absorbance curve concerning time with three indeterminate measurements. Ascorbic acid concentration of 0.00195M was used to treat the standard solution of calcium oxalate and *C. aurantiifolia* as a negative and positive control, respectively. **Result:** the addition of ascorbic acid decreased the nucleation rate to  $34.8 \pm 22.92$  with  $p=0.003$  compared to the negative control. Meanwhile, the aggregation rate was successfully reduced to  $9.9 \pm 1.06$ , but not significant ( $p=0.0948$ ) compared to the negative control. **Conclusion:** Ascorbic acid successfully reduced the nucleation rate (SN) and possibly lowered the aggregation rate (SA).

**Keywords:** Ascorbic acid, Calcium Oxalate Crystallization

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. Tuhan Yang Mahasa Esa. Pengayom segenap alam yang telah memberikan segala rahmat dan hidayah-Nya, telah memberikan kesabaran, kekuatan, dan keikhlasan. Berkat semua itu, penulis dapat menyelesaikan skripsi sebagai salah satu syarat penyelesaian tugas kepaniteraan pre-klinik di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Adapun judul skripsi ini: “**Pengaruh Asam Askorbat Terhadap Kristalisasi Kalsium Oksalat Secara *In Vitro***”. Shalawat serta salam tidak lupa haturkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, karena berkat syafaatnya kita dapat terbebas dari zaman kejahiliah.

Dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari berbagai macam kendala. Namun atas *ikhtiar*, doa kepada Allah SWT, serta bimbingan dari banyak pihak membuat penulis dapat mengatasi kendala tersebut satu persatu. Oleh sebab itu, pada pengantar yang singkat ini, penulis ingin menghaturkan rasa hormat setinggi-tingginya dan terima kasih sebesar-besarnya terkhusus kepada pihak-pihak dituliskan di bawah ini; atas segala bantuan dan dukungan yang telah diberikan:

1. Prof. dr. Budu, Ph.D.,Sp.M(K).,M.Med.ed selaku pimpinan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin beserta para wakil dekan yang telah menyediakan fasilitas untuk proses pendidikan dokter dengan sangat baik, sehingga penulis bisa menuntut ilmu dan pengalaman yang bermakna.
2. Dr.Kartika Paramita. Sp.PK., selaku pembimbing akademik yang telah memberikan kesempatan peneliti untuk berkembang lebih melalui penelitian ini.
3. Dr. dr. Syahrijuita, M.Kes., Sp.T.H.T-B.K.L.(K)., selaku pembimbing skripsi yang tak sungkan untuk menggunakan waktu sibuknya demi memberikan arahan, saran konstruktif, serta motivasi kepada penulis mulai dari penggarapan proposal, penelitian, sampai penyusunan skripsi ini.

4. Dr. dr. Marhaen Hardjo, M. Biomed.,Ph.D. dan dr. Diandra Sabrina Natsir Kalla, Ph.D. yang tidak membatasi dirinya hanya sebagai penguji semata, namun juga meluangkan waktu dan sangat responsif jika penulis mengajukan pertanyaan seputar penelitian dan penyusunan skripsi ini.
5. Orang tua penulis, Dr. H. Basri Rakhman, M.Si., dan Nurhaya yang tak bosan untuk mendoakan, menyemangati, menasehati, dan membiayai penulis dalam menyelesaikan skripsinya.
6. Ian Wahyuni, S.S., M.Hum. sebagai kakak yang juga tak lepas untuk mendoakan, membiayai, dan menyemangati penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
7. Fadhiil Ansyarullah M selaku mentor yang telah memberikan ide, membimbing, dan menyemangati penulis dalam setiap proses penelitian dan penyelesaian skripsi ini.
8. Muh.Shafaa Ulayya Dhaifullah, Kezia Patimang, Fadhail Aqilah dan Bachtiar Lubis sebagai sahabat yang selalu mendengarkan keluh kesah dan menyamangati penulis dalam merampungkan skripsinya.
9. St. Ramliah S.T. selaku Pranata Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah membimbing penulis dalam membuat reagen dan prosedur pemakaian alat-alat laboratorium.
10. Kamalia S.T. sebagai staf Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah membantu dan memberikan arahan kepada penulis dalam memenuhi kewajiban administratif terkait peminjaman fasilitas laboratorium.
11. Teman-teman seperjuangan angkatan 2022 “Filaggrin” yang telah memberikan dukungan kepada penulis.

Dengan demikian, penulis ingin menyampaikan bahwa tentunya skripsi ini masih memiliki kekurangan. Oleh karena itu, penulis berharap kepada pembaca untuk memberikan saran dan kritik yang membangun agar penelitian ini bisa menjadi lebih baik. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat utamanya dalam pencegahan penyakit batu saluran kemih.

## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA .....	vi
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	ix
KATA PENGANTAR .....	x
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1. Tujuan Umum .....	4
1.3.2. Tujuan Khusus .....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan.....	4
1.4.2. Manfaat Bagi Masyarakat .....	4
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1. Asam Askorbat .....	5
2.2. Batu Kalsium Oksalat.....	6
2.2.1. Definisi dan klasifikasi .....	6
2.2.2. Etiopatogenesis.....	7
2.2.3. Pencegahan dan Penatalaksanaan .....	13
2.3. Analisis Spektrofotometrik dalam Pengamatan Kristalisasi .....	14
2.4. Kerangka Teori.....	16
2.5. Kerangka Konsep .....	17
2.6. Hipotesis.....	17
<b>BAB 3 METODE PENELITIAN.....</b>	<b>18</b>
3.1. Jenis Penelitian .....	18
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian .....	18

3.3. Variabel Penelitian .....	18
3.3.1. Variabel Dependen .....	18
3.4. Sampel Penelitian .....	18
3.4.1. Sampel Penelitian .....	18
3.4.2. Kriteria Inklusi .....	18
3.4.3. Kriteria Ekslusi .....	18
3.5. Definisi Operasional.....	18
3.6. Instrumen dan Prosedur penelitian .....	19
3.6.1. Instrumen Penelitian .....	19
3.6.2. Prosedur Penelitian .....	19
3.7. Jenis Data Penelitian .....	22
3.8. Rencana Pengolahan Data .....	22
3.9. Etika Penelitian .....	23
3.10. Alur Penelitian.....	23
<b>BAB 4 HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
<b>BAB 5 PEMBAHASAN .....</b>	<b>27</b>
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>29</b>
6.1. Kesimpulan.....	29
6.2. Saran.....	29
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>30</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>36</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b>	
2.1. Tiga Zona Supersaturasi .....	10
2.2. Proses Kristalisasi .....	12
2.3. Promotor dan Inhibitor .....	13
<b>DAFTAR TABEL</b>	
2.1. Jenis Temuan Urolithiasis .....	8
2.2. Anjuran Asupan Vitamin C .....	16

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Urolitiasis (*Ouron* = urin, *Lithos* = batu) adalah istilah untuk pembentukan batu di sepanjang traktus urinarius yakni ginjal, vesika urinaria, dan atau uretra. Secara global, kasus urolitiasis meningkat dari tahun ke tahun (Knoll, 2010). Berdasarkan laporan *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES), terjadi peningkatan *self-reported prevalence* tiga kali lipat dari 3,2% (1976-1980) menjadi 8,8% (2007-2010); 600,000 atau 1 dari 11 masyarakat Amerika berjuang menghadapi urolitiasis tiap tahunnya (Stamatelou *et al.*, 2003; Scales *et al.*, 2012). Di Benua Asia, Data terakhir menunjukkan insidensi mencapai angka 5% (Sorokin *et al.*, 2017), dengan prevalensi tertinggi meliputi Asia Barat, Asia Tenggara, dan Asia Selatan (Liu *et al.*, 2018). Di sisi lain, 6 per 1000 penduduk di Indonesia menderita batu ginjal—urolitiasis posisi tiga besar penyakit di bidang urologi (Kemenkes, 2013). Di Makassar, observasi tahun 2015-2017 dari 1166 pasien urolitiasis; 803 di antaranya adalah laki-laki dan 827 di antaranya terdiagnosis nefrolitiasis.

Ada empat jenis batu yang sering ditemukan (1) Batu kalsium: kalsium oksalat (CaOx) dan Kalsium fosfat (CaP), (2) Batu struvit, (3) Batu Asam Urat, dan (4) batu Cystin. Secara global, Batu kalsium oksalat mendominasi hingga 80% (Evan, 2010) dan studi *in vitro* dengan sampel banyak menempatkan batu kalsium oksalat menjadi komponen tersering (Spivacow *et al.*, 2016). Sementara itu, lebih dari 50 per 100 pasien mengalami kekambuhan (Bird and Khan, 2017).

Berdasarkan *uji in vivo* atau *uji in vitro*, menunjukkan urolitiasis diprakarsai oleh ketidakseimbangan dari zat promotor dan zat inhibitor dalam urin (Borofsky *et al.*, 2019; Alelign and Petros, 2018). Zat promotor yang terdiri atas kalsium, oksalat, fosfat, dan asam urat. Sementara itu, sitrat sebagai zat inhibitorynya. Ketidakseimbangan kedua indikator ini merupakan cerminan dari abnormalitas metabolik (Bird and Khan, 2017). Dilaporkan

pada studi molekular terhadap pasien urolitiasis, hipositraturia menjadi profil paling mencolok dengan angka 43% dan diikuti hiperurikosuria.(Taghi Goodarzi *et al.*, 2012). Di samping itu, terdapat faktor-faktor lain yang meningkatkan laju kristalisasi kalsium oksalat yakni asupan nutrisi, pH, dan laju aliran urine. Pada pH alkalin (5,5-6,0), batu yang terbentuk adalah kalsium-fosfat. Sementara itu, pada pH asam (<5,5) membentuk batu asam urat atau batu cystin. Batu kalsium oksalat sendiri dapat terbentuk pada pH asam, tetapi pada beberapa kasus terbentuk juga pada pH basa (Elmaci, Ece and Akin, 2014; Ferraro *et al.*, 2020).Urolitiasis saat ini menjadi komplikasi tersering yang ditemukan pada pasien stasis urine di sepanjang penyempitan traktus urinarius, tidak sedikit pula yang berakhir menjadi penyakit ginjal kronis(Li *et al.*, 2020).

Pencegahan dan penanganan terhadap kasus urolitiasis harus diperhatikan dengan multidisiplin, terkhusus masyarakat yang telah memiliki faktor resiko tinggi yakni adanya kelainan anatomi, pasien yang pernah terdiagnosis, riwayat keluarga, jenis kelamin laki-laki, usia tua, dan pola makan tidak sehat. Hal ini perlu dilakukan untuk menekan angka kesakitan, penghematan biaya perawatan, dan meningkatkan kualitas hidup masyarakat. Saat ini, banyak terapi yang digadang-gadang dalam bentuk diet atau medikamentosa selain pembedahan(Türk *et al.*, 2016; Gottlieb, Long and Koyfman, 2018). Buah sitrus menjadi salah satu pilihan terapi utama sebagai pencegahan terbentuknya batu dan pencegahan rekurensi setelah pembedahan. Pemberian terapi dapat melalui sediaan langsung atau potassium sitrat sebagai bentuk medikamentosa(Gottlieb, Long and Koyfman, 2018).

Pemberian sitrat tinggi dapat menghambat pengikatan kalsium dengan oksalat ataupun fosfat, sehingga kompleks yang terbentuk hanya sitrat dan kalsium. Hal ini dibuktikan dari hasil *uji in vitro* dan *in vivo* terhadap laju nukelasi(SN) dan laju agregasi(SA). Laju nukelasi merujuk pada pembentukan partikel nidus dan peningkatan maksimum densitas optik per satuan waktu. Di samping itu, laju agregasi merujuk proses agregasi kristal dan penurunan maksimum densitas optik per satuan waktu. Dalam hal ini,

sitrat dapat menurunkan indeks saturasi batu kalsium fosfat serta memperlambat laju nukelasi dan agregasi batu kalsium oksalat dalam pengamatan spektrofotometrik.

Namun, buah sitrus juga mengandung asam askorbat atau vitamin C yang tinggi. Berdasarkan studi epidemiologi oleh *Health Professionals Follow-Up Study* (HPFS), 41% pria yang mengkonsumsi 1,000 mg vitamin C per hari beresiko terkena urolitiasis dibandingkan dengan kadar konsumsi hanya 90 mg per hari dari total asupan (Ferraro *et al.*, 2016). Laporan yang sama didapatkan positif adanya hubungan antara asam askorbat dengan tingkat urolitiasis dua kali lipat pada 23.555 laki-laki Swedia, tetapi tidak ada hasil serupa yang didapatkan pada subjek Wanita (Ferraro *et al.*, 2020). Namun, data ini tidak sesuai dengan hasil studi epidemiologi serupa dengan konsumsi asam askorbat yang bahkan lebih >1 g/hari dan studi *in vivo* menunjukkan tidak adanya efek berarti terkait deposisi batu kalsium oksalat atau jenis lainnya (Jaturakan *et al.*, 2017). Oleh karena itu, hubungan antara asam askorbat dengan kristalisasi masih menjadi perdebatan.

Saat ini, belum ada data yang menunjukkan pengaruh asam askorbat terhadap urolitiasis secara jelas dan studi yang dilakukan masih terbatas studi epidemiologi. Belum ada juga penelitian secara *in vitro* yang dilakukan mengenai kaitan asam askorbat dengan urolitiasis. Oleh karena itu, peneliti berkeinginan untuk mengetahui pengaruh asam askorbat dalam kristalisasi batu kalsium oksalat secara *in vitro*.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian dari latar belakang masalah, peneliti merumuskan pertanyaan penelitian:

Bagaimana pengaruh asam askorbat terhadap kristalisasi kalsium oksalat secara *in vitro*?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

Mengetahui pengaruh asam askorbat terhadap kristalisasi kalsium oksalat secara *in vitro*.

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

- 1) Mengetahui pengaruh asam askorbat terhadap kristalisasi kalsium oksalat secara *in vitro* dengan mengamati laju nukelasinya.
- 2) Mengetahui pengaruh asam askorbat terhadap kristalisasi kalsium oksalat secara *in vitro* dengan mengamati laju agregasinya.

### **1.4. Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1. Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan**

Sebagai sumber pengetahuan dan wawasan mengenai pengaruh asam askorbat terhadap kristalisasi kalsium oksalat; untuk dikembangkan bagi penelitian selanjutnya.

#### **1.4.2. Manfaat Bagi Masyarakat**

Dapat memberikan wawasan tentang pentingnya asam askorbat dengan kaitannya terhadap upaya preventif batu saluran kemih dalam aspek modifikasi gaya hidup sehat.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Asam Askorbat

Asam askorbat atau vitamin C adalah nutrisi larut air yang ditemukan di beberapa makanan. Fungsinya adalah menjaga dan memelihara sel tubuh dari radikal bebas, menghasilkan kolagen untuk perbaikan jaringan, meningkatkan absorpsi besi, dan menjaga imunitas tubuh. Dosis asam askorbat per hari tergantung dengan umur dan kondisi manusia, berikut dosis anjuran(National Institutes of Health (NIH), 2019):

**Tabel 2.2.** Anjuran Asupan Vitamin C (National Institutes of Health (NIH), 2019).

Rentang Umur	Anjuran asupan harian
- Lahir sampai usia 6 bulan	- 40 mg
- Infantil 7–12 bulan	- 50 mg
- Anak 1–3 tahun	- 15 mg
- Anak 4–8 tahun 25 mg	- 25 mg
- Anak 9–13 tahun 45 mg	- 45 mg
- Remaja laki-laki 14–18 tahun	- 75 mg
- Remaja 14–18 perempuan	- 65 mg
- Dewasa pria	- 90 mg
- Dewasa wanita	- 75 mg
- Remaja Hamil	- 80 mg
- Wanita dewasa hamil	- 85 mg
- Remaja menyusui	- 115 mg
- Wanita menyusui	- 120 mg

Apabila berstatus perokok, dilakukan penambahan 35 mg dari nilai kalkulasi sesuai rentan umur per asupan harian. Adapun buah-buahan dan sayur-sayuran yang mengandung vitamin C tinggi; (1) Buah citrus (jeruk, kiwi, stroberi, tomat

dan anggur) (2) sayur brokoli, kentang panggang, cantaloupe (blewah)(Valdés, 2006; Ferraro *et al.*, 2016, 2020). Buah sitrus sendiri memiliki banyak macam, salah satunya jeruk nipis. Berdasarkan hasil pengamatan, pada 100g perasan/jus jeruk nipis mengandung vitamin c sebanyak 34,34 mg paling tertinggi di antara jenis jeruk lainnya (Nakilcioğlu-Taş and Ötleş, 2020).

Dalam sebuah pengamatan konsentrasi vitamin C plasma dan eksresi urin, menunjukkan kadar eksresi asam askorbat dalam urine sangat bergantung dengan daya absorpsi tubuh dan dosis harian. Perbandingan eksresi dengan dosis 100 mg dan 2.000 mg tidak menunjukkan perbedaan bermakna(Choi *et al.*, 2017). Di sisi lain, pemberian dosis hanya 60 mg/hari tidak terdapat sama sekali ekskresi produk dalam urine (Ministry of Health and Welfare: Korea health statistics, 2019). Studi pertama konsisten dengan hasil studi berikut; bila konsumsi 400 mg/hari vitamin C sangat pasti untuk dikatakan hanya terjadi setengah atau tidak terjadi absorpsi di dalam tubuh(Baker *et al.*, 1971).

## 2.2. Batu Kalsium Oksalat

### 2.2.1. Definisi dan klasifikasi

Batu traktus urinarius adalah deposit mineral berlebih dari ketidakseimbangan faktor promotor dan inhibitor yang bekerja. Terdapat dua jenis golongan batu traktus urinarius yakni, (1) Batu Non-Kalsium dan (2) Batu Kalsium, penamaan temuan batu didasarkan pada komposisi batu(Khan *et al.*, 2016).

**Tabel 2.1.** Jenis Temuan Urolithiasis (Khan *et al.*, 2016)

Batu Non-Kalsium	Batu Kalsium
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Batu Struvit</li> <li>- Batu Matrix</li> <li>- Batu Asam Urat</li> <li>- Golongan purin (<i>Xanthine dan 2,8-dihydroxyadenine</i>)</li> <li>- Batu <i>Cystine</i></li> <li>- Batu terinduksi obat (drug stones)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Batu Oksalat</li> <li>- Batu Fosfat</li> </ul>

Batu kalsium adalah jenis yang paling sering ditemukan. Dua batu kalsium yang terbanyak adalah Batu kalsium oksalat (CaOx) dan Batu kalsium fosfat (CaP), baik terkombinasi atau tidak terkombinasi. Dari dua jenis tersebut, batu kalsium oksalat paling banyak, terkomposisi monohidrat atau dihidrat (Scales *et al.*, 2012; Alelign and Petros, 2018).

Selain dikelompokkan berdasarkan batu kalsium dan batu non-kalsium, batu traktus urinarius dapat dikelompokkan berdasarkan pengaruh pH. Pada pH alkalin (5,5-6,0), batu yang terbentuk adalah batu kalsium-oksalat dan kalsium-fosfat, walaupun pada beberapa kasus ditemukan pada pH asam. Sementara itu, pada pH asam (<5,5) membentuk batu asam urat atau batu cystin (Ratkalkar and Kleinman, 2011; Grases *et al.*, 2012; Ferraro *et al.*, 2020).

### **2.2.2. Etiopatogenesis**

#### **a. Faktor Resiko dan Etiologi**

##### **1) Abnormalitas profil biokimiawi**

Urolitiasis atau urolitogenesis adalah pembentukan batu yang melibatkan etiologi gangguan metabolik, stasis urine, dehidrasi, infeksi saluran kemih kronik/berulang, dan idiopatik (O’Kell, Grant and Khan, 2017; Chang *et al.*, 2021). Etiologi-etologi tersebut dapat dikelompokkan menjadi abnormalitas zat promotor dan zat inhibitor. Abnormalitas ini akan menyebabkan keadaan hiperkalsiuria, hipositraturia, hiperoksalouria, hiperurikosuria, dan hipomagnesuria. Keadaan tersebut berkontribusi terhadap komposisi batu terbentuk (Evan, 2010).

a) Hipositraturia adalah keadaan rendahnya kadar sitrat di dalam urin. Rendahnya konsentrasi sitrat menyebabkan afinitas yang terbentuk dengan kalsium berkurang, sehingga meningkatkan jumlah kompleks yang terbentuk dengan oksalat dan fosfat. Reaksi ikatan tersebut diamati secara *in vitro* dalam studi hubungan ion kalsium dan asam sitrat. Apabila sitrat dalam urin meninggi, maka lebih mudah mencegah ikatan dengan senyawa

lain dan dominan membentuk  $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$  saja (solubilitas dan presipitasi rendah)(Taghi Goodarzi *et al.*, 2012; Garcia, Vavrusova and Skibsted, 2018). Berdasarkan peran sitrat tersebut, urolitiasis tipe kalsium menjadi temuan terbanyak pada studi epidemiologi(Sorokin *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2018).

- b) Hiperoksalouria adalah istilah untuk keadaan oksalat yang tinggi dalam urin. Oksalat sejatinya banyak ditemukan pada tanaman, digunakan dalam proses eliminasi kalsium berlebih dalam air. Kandungan oksalat tersebut banyak terakumulasi di daun, biji, dan buah. Apabila dipanen atau dipisahkan dari pohonnya, maka kalsium dan oksalat ikut dibuang. Di dalam tubuh, oksalat ini sangat kuat berikatan dengan kalsium dan menjadi promotor utama batu kalsium oksalat(Franceschi and Nakata, 2005).
- c) Hiperkalsiuria adalah keadaan tingginya kalsium dalam urin. Sejatinya, suplementasi kalsium sangat dibutuhkan untuk pemeliharaan sistem articular dan aktivitas kontraksi otot. Sayangnya, regulasi keseimbangan kalsium yang tidak seimbang di dalam tubuh menjermuskan ke keadaan peningkatan eksresi kalsium di urin, yang secara langsung sangat berkontribusi dalam genesis batu kalsium(Cormick and Belizán, 2019).

## 2) Stasis urin

Stasis urin adalah keadaan melambatnya aliran urin karena kelainan saluran atau adanya hambatan. Stasis urine sangat jelas pada pasien obstruksi kongenital *ureterpelvic junction*, pembesaran prostat jinak, karsinoma prostat, dan lainnya. Saat terjadi stasis urine, kejenuhan zat-zat sangat meningkat. Kejadian tersebut memberi kesempatan zat-zat penginduksi kristalisasi lebih berinteraksi. Selain itu, laju urine yang menurun (*wash out mechanism*) memberi bakteri *uropatogenik (Proteus mirabilis)* untuk melakukan perlekatan dengan uroepitelium(Becknell *et al.*,

2015). Interaksi tersebut adalah awal mula terjadinya batu *non-calcium struvite* (Alelign and Petros, 2018).

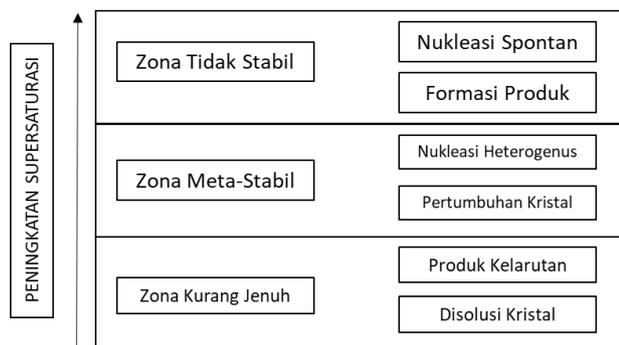
### **b. Patogenesis**

Model terjadinya urolitiasis sangat banyak, tetapi ada dua yang dapat mewakili yakni, (1) *Free particle* (partikel bebas) dan (2) *Fixed particle* (sumbatan partikel). Kedua model ini terbentuk dari abnormalitas faktor promotor dan inhibitor yang menyeimbangkan. Abnormalitas ini yang menciptakan keadaan supersaturasi (termodinamika aliran urin) dan kinetik kristalisasi mineral berlebih (laju kontrol cairan) (Khan et al., 2016).

Supersaturasi adalah keadaan deposisi suatu zat lebih cepat dari laju disolusinya. Ketika endapan terbentuk pada titik kejenuhan atau inisiasi kristalisasi disebut *thermodynamic solubility product (Ksp)*. Definisi supersaturasi mengindikasikan konsep disolusi yang berhubungan dengan larutan. Maka dari itu, dua faktor yang mempengaruhi supersaturasi yakni, konsentrasi H<sub>2</sub>O dan pH urin (Ramegowda Basavaraj et al., 2007). Kontrol yang tidak bagus akan menyebabkan ion-ion lebih mudah memulai proses kristalisasi. Apabila, pH urine tidak berada direntang normal menyebabkan pembentukan batu lebih mudah (Najeeb et al., 2013). Adapun pathogenesis dari pembentukan batu kalsium oksalat (Evan, 2010; Evan et al., 2015; Khan et al., 2016; Alelign and Petros, 2018):

1) **Nukleasi Kristal** adalah tahap awal pembentukan batu. Proses ini dapat terjadi secara homogenous dan heterogenous. Proses pembentukan batu kalsium oksalat terjadi secara heterogenous. Tidak seperti homogenous yang membutuhkan supersaturasi tinggi, heterogenous hanya membutuhkan kadar yang lebih rendah. Awalnya terdapat dua teori yakni *fixed particle nucleation* yang menyimpulkan bahwa awal nukleasi terjadi ketika kristal mengalami perlekatan dengan epitel tubulus dan bertumbuh menjadi batu. *free particle nucleation* menyimpulkan bahwa awal nukleasi terjadi oleh karena adanya mikrolit

atau nidus yang berasal dari bermacam macam bahan dan kemudian berkembang sampai menyumbat saluran kemih. Tetapi, kasus batu kalsium oksalat lebih banyak diawali oleh randal plak di sistem tubulus ginjal. Oleh karena itu, digunakan model *fixed particle nucleation* untuk mewakilinya (Evan, 2010; Alealign and Petros, 2018). Awalnya, ion-ion promotor bebas bebas akan berikatan dan membentuk kelompok struktur-struktur mikroskopis tertentu yang kemudian disebut kristal. Peristiwa ini dikenal dengan proses kristalisasi. Kristal-kristal yang semakin banyak terbentuk akan mengalami presipitasi satu sama salain membentuk nidus atau inti batu, proses inilah disebut nukleasi. Sejatinya, nidus yang terbentuk adalah jenis kalsium fosfat, tetapi adanya reaksi radang lokal atau interaksi di sepanjang epitel saluran urinarius menyebabkan komposisi heterogenous (sel epitel, eritrosit, bakteri, dan bahan lainnya), hingga terkomposisi batu kalsium oksalat. Selama interaksi tersebut, urin berada dalam keadaan supersaturasi menyebabkan laju kristalisasi bertambah cepat. Semakin supersaturatif, ion-ion promotor akan lebih mudah terbentuk (nukleasi). Hal ini diinterpretasikan sebagai *unstable zone*, keadaan konsentrasi zat terlarut kristalisasi meningkat dan inhibitor terkalahkan dari laju Ksp. Keadaan zat inhibitor sangat baik menghambat berada di *Undersaturated Zone*, dan masih cukup bekerja disebut *Metastable Zone*.



**Gambar 2.1. Tiga Zona Supersaturasi** (Ramegowda Basavaraj et al., 2007)

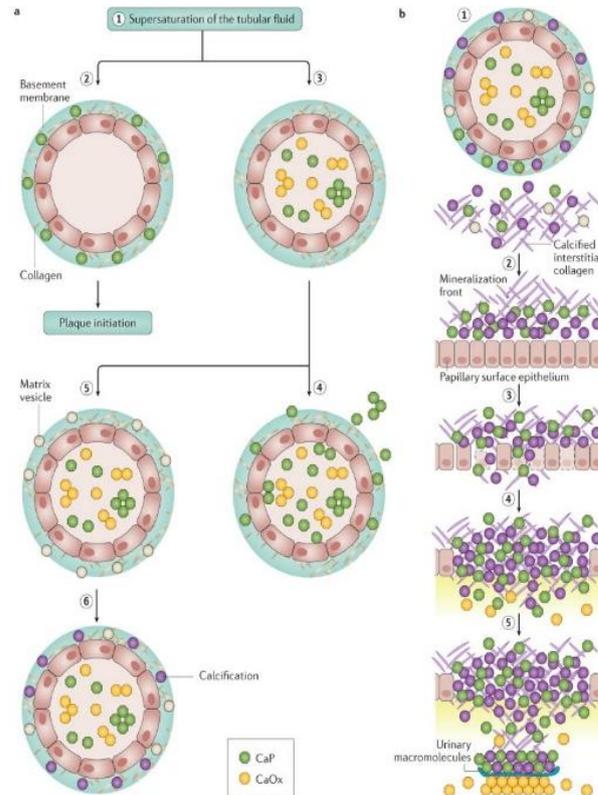
2) Pertumbuhan Kristal (*Crystal growth*) adalah tahapan yang menjelaskan terbentuknya kristal. Ketika ion-ion promotor membentuk

nidus, energi bebas total akan melemah. Di sisi lain, hal tersebut menyebabkan percepatan dari proses nukelasi dan agregasi. Seyogyanya, tahapan ini membutuhkan waktu sangat lama. Model *Free particle nucleation* dan *Fixed particle nucleation* yang dapat menjelaskan permulaan dari adanya kristal dalam traktus urinarius. Mekanisme keduanya masih belum jelas, tetapi konsentrasi urin dan model terjadinya aterosklerosis dipercayai dapat mewakili pemahamannya. Perlu diketahui, urin yang sejatinya heterogenous mengandung beberapa substansi matriks organik. Osteopontin dan *Tamm-Horsfall* protein adalah substansi yang menjamin pertumbuhan batu hingga bergejala dan menyumbat saluran kemih (Knoll, 2010). Matriks tersebut yang mencetuskan peningkatan bulk energi; memicu pertumbuhan batu lebih besar yang berawal dari Plak randal di papilla renalis (Evan, 2010; Alelign and Petros, 2018).

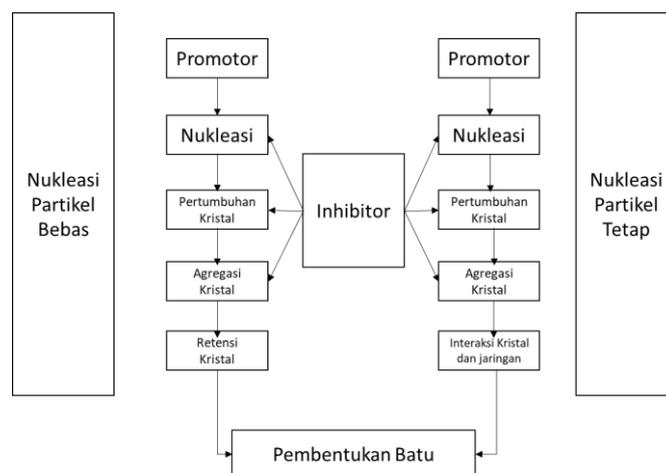
3) Agregasi Kristal tahapan menjelaskan proses perlekatan beberapa substansi ke nidus. Setelah proses yang lama, nidus akan berlekatan dengan matriks (*Tam-Horsfall protein* dan Osteopontin) menarik kristal-kristal lain, mengeras dan membesar membentuk massa baru.

4) Retensi Kristal dan Interaksi Sel-Kristal merupakan dua tahapan yang menjelaskan proses penyumbatan. Retensi kristal merupakan bagian dari model *free particle nucleation* dan interaksi sel kristal bagian dari *fixed particle nucleation*. Hiperoksalouria dan supersaturasi pada randal plak akan membentuk agregat kristal. Telah diketahui kristal oksalat dapat dalam bentuk monohidrit (COM) atau dihidrit. COM yang terbentuk di keadaan ini akan mengacaukan integrasi uroepitelium, termasuk tubulusnya. Disintegrasi ini menyebabkan interaksi sekaligus invasi kristal ke membran basolateral, membran basal dan menembus interstitial (Khan and Canales, 2015). Disinteragrasi jaringan, menimbulkan aksi dari sistem imun sepanjang jaringan, lalu makrofag atau lisosom yang bertugas mengeliminasi substansi asing melalui eksositosis dan sisanya dieksresikan keluar tubuh. Hasil penghancuran substansi asing berupa kristal meningkatkan

keadaan hiperoksalouria. Di samping itu, *renal prothrombin fragment-1* diproduksi dari kompensasi sel yang dirusak. Protein anionik ini mencetuskan aglomerasi agregat kalsium oksalat dan bertahan hingga bertahun-tahun yang menjadi penyebab sumbatan saluran kemih(Alelign and Petros, 2018).



**Gambar 2.2. Proses Kristalisasi(Khan et al., 2016)**



**Gambar 2.3. Promotor dan Inhibitor Kristalisasi Kalsium Oksalat(Ramegowda Basavaraj et al.,2007)**

### 2.2.3. Pencegahan dan Penatalaksanaan

Batu traktus urinarius jenis kalsium oksalat adalah penyakit multifaktorial (Bawari, Sah and Tewari, 2017). Telah diketahui, penyakit ini berawal dari abnormalitas zat promotor dan inhibitor yang tampak dalam profil biokimiawi penderita. Selain itu, abnormalitas biokimiawi juga disebabkan oleh kelainan metabolik, sehingga perlu perhatian khusus terhadap progresivitasnya (Ahmad *et al.*, 2013). Keefektifan prevensi kasus tersebut benar-benar bergantung pada penyebabnya. Tindakan preventif pada episode pertama urolitiasis atau episode kedua salah satunya adalah manajemen diet. Selain dari medikamentosa dan pembedahan, manajemen diet adalah tindak preventif paling bagus (Prezioso *et al.*, 2015; Alelign and Petros, 2018). Tentunya,

Mengesampingkan tatalaksana medikamentosa dan lainnya, pasien harus diinstruksikan meningkatkan jumlah *intake* air untuk menjaga *output urin*, setidaknya dua liter per hari. Peningkatan konsumsi air, khususnya air minum pH alkalin, menolong dalam mengendalikan saturasi dan dilusi dari kristalisasi CaOx. Telah dipahami, status hidrasi berperan penting, semakin rendah status hidrasi makan semakin pekat atau semakin rendah konsentrasi zat pelarut (Najeeb *et al.*, 2013). Selain itu, penurunan diet oksalat (kangkung, daging, kacang-kacangan) dan asupan kalsium cukup berperan sangat penting menjaga status hiperoksalouria. Selain menjaga status tersebut, Hipositraturia harus dijamin intake-nya. Sitrat merupakan zat *antilithogenic* sekaligus berperan penting dalam *urinary alkalization*. Konsumsi 1,2 liter jus jeruk atau 2 liter lemon meningkatkan eksresi sitrat sekaligus menurunkan resiko dan rekurensi urolitiasis (Wabner and Pak, 1993; Odvina, 2006; Kang *et al.*, 2007; Stoller *et al.*, 2009; Gul and Monga, 2014). Efek alkalisasi dapat dilihat dari jalur asidosis metabolik. Pada keadaan asidosis metabolik, reabsorpsi di tubulus dan metabolisme sitrat dengan transporter NaDC-1 meningkat. Jalur tersebut bergantung pada natrium dan sitosolik ATP sitrat liase. Pemberian sitrat atau alkalosis menurunkan regulasi enzim-enzim tersebut, sehingga meningkatkan ekresi sitrat urin. Tentunya, hal ini berhubungan langsung dengan hiperoksalouria dan risiko

pembentukan batu oksalat. Selain dari buah, konsumsi sayur-sayuran juga penting terkecuali yang kaya akan oksalat (Domrongkitchaiporn, Stitchantrakul and Kochakarn, 2006; Strohmaier, Seilnacht and Schubert, 2012).

Adapun tatalaksana definitif urolitiasis yang dianjurkan berdasarkan komposisi, ukuran dan gejala klinis yang timbul, tetapi bila ada nyeri kolik hebat tatalaksana awalnya dengan anti nyeri. Mengesampingkan tata laksana definitif, pemasangan *stent* atau *Percutaneous Nephrostomy Drainage* dilakukan pada pasien dengan urosepsis untuk dekompresi saluran kemih (Bawari, Sah and Tewari, 2017). Pengeluaran batu dapat dilakukan dengan *Extracorporeal Shockwave Lithotripsy (ESWL)*, melalui tindakan endourologi, bedah laparoscopi, ataupun *open surgery*. ESWL serta endourologi berupa *Ureteroscopic Lithotripsy (URS)* dan *Electrokinetic Lithotripsy (EKL)* merupakan dua modalitas tersering digunakan di kota makassar. Selain itu, setiap pasien yang mendapatkan terapi definitif, diberikan terapi diet untuk perbaikan dan pemeliharaan profil biokimiawi urin (Rasyid *et al.*, 2018):

- 1) Asupan cairan harus menghasilkan Urine output > 2,5 L/hari
- 2) Pengurangan asupan natrium < 2300 mg/hari
- 3) Peningkatan konsumsi makanan kaya sitrat
- 4) Menghindari minuman berkarbonasi (Ferraro *et al.*, 2013; Assimos, 2014)
- 5) Asupan protein secukupnya <150 gram/hari
- 6) Konsumsi kalsium secukupnya 1000-1200 mg/hari

Ringkasnya, konsep manajemen diet adalah kaya inhibitor dan rendah zat promotor kristalisasi (Goldfarb, 2019).

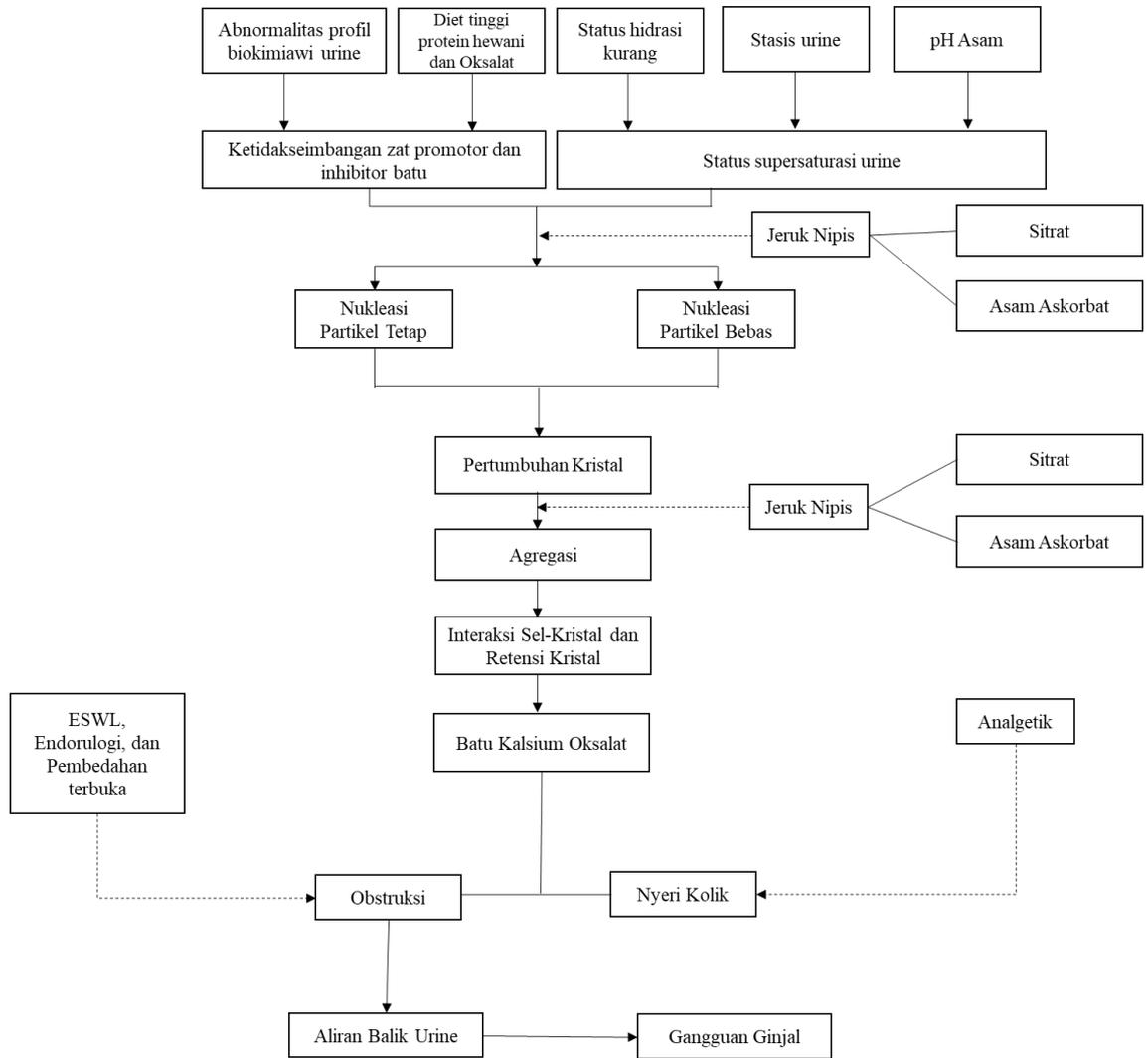
### **2.3. Analisis Spektrofotometrik dalam Pengamatan Kristalisasi**

Analisis kristalisasi dalam larutan standar diamati menggunakan alat spektrofotometri dengan mengukur densitas optik. Metode ini digunakan karena sensitifitasnya dapat menilai kemampuan suatu bahan dalam mempengaruhi kristalisasi. Pada pengukurannya, spektrofotometrik akan mengukur laju nukleasi dan agregasi kalsium oksalat. Di samping itu, dapat

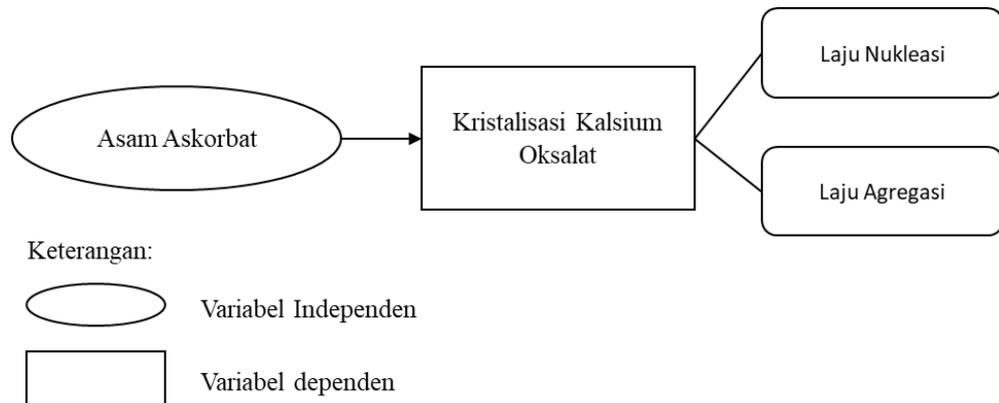
diukur proses kristalisasi yang berlangsung dengan menilai waktu tercapainya densitas optik maksimum dan penambahan zat promotor kristalisasi. Densitas optik dipilih dalam pengukuran turbiditas dengan panjang gelombang 620 nm terhadap larutan sampel. Adapun parameter-parameter yang dijabarkan secara matematis (Kovacevic, Lu and Lakshmanan, 2013; Kustov and Strelnikov, 2018):

- 1) SN (*Nucleation Rate*) mewakili pembentukan partikel nidus yang baru dalam urine. Parameter ini didefinisikan sebagai peningkatan maksimum densitas optik per satuan waktu yakni, hasil bagi densitas optik maksimum dicapai dengan waktu saat kondisi tersebut dicapai.
- 2) SA (*Aggregation Rate*) mempresentasikan proses agregasi kristal. Parameter ini didefinisikan sebagai sebagai penurunan maksimum densitas optik per satuan waktu yang diperoleh dari hasil bagi densitas optik minimum dengan waktu yang dihitung dari tercapainya densitas optik maksimum hingga minimum.

## 2.4. Kerangka Teori



## 2.5. Kerangka Konsep



## 2.6. Hipotesis

Berdasarkan konsep yang dipaparkan, maka hipotesis yang dirumuskan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

H<sub>0</sub> = Tidak terdapat pengaruh asam askorbat terhadap kristalisasi kalsium oksalat.

H<sub>A</sub> = Terdapat pengaruh asam askorbat terhadap kristalisasi kalsium oksalat.

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan *post-test only control grup design* dengan tujuan menilai pengaruh asam askorbat terhadap kristalisasi kalsium oksalat secara *in vitro*.

#### **3.2. Waktu dan Tempat Penelitian**

- 1) Waktu : Januari 2022 – Juni 2022
- 2) Tempat Penelitian : Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

#### **3.3. Variabel Penelitian**

##### **3.3.1. Variabel Dependen**

Variabel dependen pada penelitian ini adalah kristalisasi kalsium

##### **3.3.2. Variabel Independen**

Variabel independen pada penelitian ini adalah asam askorbat.

#### **3.4. Sampel Penelitian**

##### **3.4.1. Sampel Penelitian**

Sampel penelitian yang digunakan sebagai berikut:

1. Asam Askorbat standar analitik.
2. Larutan standar:  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaCl}$ , dan  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ .

##### **3.4.2. Kriteria Inklusi**

L (+)-Asam askorbat untuk analisis EMSURE®.

##### **3.4.3. Kriteria Eksklusi**

- 1) Sampel dengan turbiditas yang nyata.
- 2) Sampel yang telah didiamkan pada suhu  $\geq 30^\circ\text{C}$  selama  $\geq 10$  menit.
- 3) Sampel yang dididihkan pada suhu  $\geq 70$  derajat celcius.
- 4) Sampel dengan pH  $\geq 8,1$ .

#### **3.5. Definisi Operasional**

- 1) Asam Askorbat: Bubuk asam askorbat standar analitik yang dilarutkan dengan aquades 100 ml; 1,9M.
- 2) Alat Ukur : Spektrofotometer