



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN C DAN E
TERHADAP KADAR GSH PLASMA
PADA KASUS LUKA BAKAR
SEDANG BERAT**

TESIS

MARYA WARASCESARIA HARYONO

0706171043

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI ILMU GIZI
KEKHUSUSAN ILMU GIZI KLINIK
JAKARTA
DESEMBER, 2009**

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun rujukan
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Marya Warascesaria Haryono

NPM : 0706171043

Tanda tangan :



Tanggal : 15 Desember 2009

LEMBAR PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Marya Warascesaria Haryono
NPM : 0706171043
Program Studi : Ilmu Gizi, Kekhususan Ilmu Gizi Klinik
Judul Tesis : Pengaruh Suplementasi Vitamin C dan E Terhadap Kadar GSH Plasma Pada Kasus Luka Bakar Sedang Berat

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan Diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister pada Kekhususan Ilmu Gizi Klinik, Program Studi Ilmu Gizi, Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK
Pembimbing II : dr. Yeftha Moenadjat, SpBP(K)
Penguji : dr. Ninik Mudjihartini, MS
Penguji : dr. Dhanasari Vidiawati Trisna, MSc, CMFM
Penguji : dr. Inge Permadhi, MS, SpGK
Penguji : dr. Rudyanto Sedono, SpAn, KIC

(*[Signature]*)
(*[Signature]*)
(*[Signature]*)
(*[Signature]*)
(*[Signature]*)

Ditetapkan di : Jakarta
Tanggal : 15 Desember 2009

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya haturkan ke hadirat Tuhan yang Maha Kuasa atas kasih karunia-Nya yang diberikan selama ini sehingga penyusunan tesis ini dapat diselesaikan pada waktunya.

Penelitian ini menguji pengaruh suplementasi vitamin C dan E terhadap kadar GSH Plasma pada kasus luka bakar derajat sedang berat dengan menggunakan sampel kasus luka bakar usia 18 - 59 tahun.

Ucapan terima kasih yang amat besar saya sampaikan kepada kedua pembimbing tesis ini. Kepada dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK sebagai pembimbing I yang memberikan motivasi dan bimbingan sejak awal seminar tinjauan pustaka, dan kepada dr. Yefta Moenadjat, SpBP(K) sebagai pembimbing II atas kesabaran dan juga perhatian untuk memberikan masukan khususnya dalam penanganan kasus luka bakar, sehingga makin memperkaya kajian penelitian dan penyusunan tesis ini.

Tak lupa ucapan terima kasih saya tujukan kepada dr. Victor Tambunan , MS, SpGK, selaku Ketua Departemen Ilmu Gizi, dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK selaku Ketua Program Studi Ilmu Gizi, dr. Diana Sunardi, MGizi, selaku Ketua Kekhususan Ilmu Gizi Klinik, dan dr. Erwin Christianto, MS, SpGK, serta seluruh staf pengajar Departemen Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia atas dukungan dan kesempatan yang diberikan kepada saya selama menempuh pendidikan.

Khusus kepada dr. Sri Sukmaniah, Msc, SpGK , dr. Inge Permadhi, MS, SpGK, dr. Samuel Oetoro, MS, SpGK, dan dr. Fiastuty Witjaksono, MS, SpGK , terima kasih telah membuka peluang untuk melaksanakan penelitian mengenai luka bakar.

Ucapan terima kasih yang tulus juga saya sampaikan pada mbak Dhita dan mbak Ade atas dukungan, kebersamaan, keceriaan, dan nasihat selama masa penelitian bersama ini.

Untuk rekan Mas Taufik, mbak Diana, dan Anet, terima atas dukungan dan masukan di saat-saat terakhir dalam menyelesaikan tesis ini.

Terima kasih juga kepada Bp. Ondi dan Mbak Dewi dari bagian Biokimia serta ibu Asih dari Laboratorium Seameo yang berperan serta membantu dalam pemeriksaan sampel penelitian yang saya lakukan. Kepada Santi, Topan, Yuni dan karyawan Departemen Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, serta Mbak Ani dari ULB RSCM karena kerja sama dan bantuannya selama ini amat mendukung proses pendidikan yang saya jalani.

Untuk suami dan anakku tercinta, terima kasih telah diberikan kesempatan untuk penyelesaian pendidikan, penelitian dan penyusunan tesis ini, meskipun cukup banyak menyita perhatian dan waktu tapi tetap motivasi cinta kalian yang menguatkan.

Untuk mama papa di Kendari dan mami di Semarang, terima kasih dan syukur kepada Tuhan karena memberikan saya orang tua yang mampu memberikan pengaruh yang menguatkan untuk mengatasi setiap permasalahan.

Untuk orang-orang di rumah, terima kasih banyak karena mendukung kerepotan pengaturan waktu dan segala urusan di rumah selama proses menjalani pendidikan ini.

Untuk rekan seperjuangan, sahabat dan rekan yang tidak bisa disebutkan satu persatu, saya ucapkan terima kasih atas dukungan dan doanya.

Kiranya Tuhan yang Maha Kuasa memberikan balasan yang setimpal berupa berkat yang melimpah kepada semua pihak yang telah berpartisipasi dalam segala hal hingga penyelesaian pendidikan yang saya jalani.

Semoga hasil penelitian ini memberikan manfaat bagi pengembangan Ilmu Gizi di Indonesia khususnya mendukung upaya pemulihan para penderita luka bakar.

Hasil karya ini saya dedikasikan kepada siapa saja yang telah bersedia menjadi subyek penelitian.

Jakarta, 15 Desember 2009

Penulis

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Marya Warascesaria Haryono

NPM : 0706171043

Program studi : Ilmu Gizi

Fakultas : Kedokteran

Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN C DAN E TERHADAP KADAR
GSH PLASMA PADA KASUS LUKA BAKAR SEDANG BERAT**

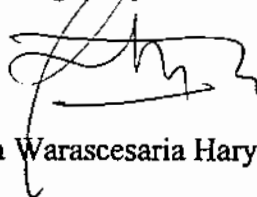
Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*data base*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Jakarta

Pada tanggal 15 Desember 2009

Yang menyatakan



(Marya Warascesaria Haryono)

ABSTRAK

Nama : Marya Warascesaria Haryono
Program studi : Ilmu Gizi, Kekhususan Ilmu Gizi Klinik
Judul : Pengaruh suplementasi vitamin C dan E terhadap kadar GSH plasma pada kasus luka bakar sedang berat

Tujuan penelitian ini adalah menilai kadar GSH plasma setelah suplementasi vitamin C 1000 mg intravena dan 400 mg vitamin E secara oral selama empat hari berturut-turut pada luka bakar sedang berat. Penelitian eksperimen ini dengan satu kelompok *pre-post test* dengan usia 18-59% tahun pada kasus luka bakar sedang berat kurang dari 60%. Dari 16 kasus yang memenuhi kriteria, diperoleh 12 kasus sebagai subjek penelitian sesuai dengan sampel yang diharapkan. Penyebab luka bakar terbanyak adalah api (75%) dan sebagian besar subyek memiliki BMI normal (67%) dengan rata-rata $22,04 \pm 1,89 \text{ kg/m}^2$. Kadar vitamin C sebelum suplementasi adalah $17,79(10,16-32,88) \mu\text{mol} / \text{L}$ dan sesudah suplementasi adalah $18,33(9,10-37,02) \mu\text{mol} / \text{L}$ ($p = 0,239$). Nilai rata-rata serum kadar vitamin E meningkat signifikan, yaitu $9,06 \pm 1,56 \mu\text{mol} / \text{L}$ sebelum suplementasi dan $15,50 (6,28-27,17) \mu\text{mol} / \text{L}$ setelah suplementasi ($p = 0,019$). Nilai rata-rata dan kisaran kadar GSH plasma sebelum suplementasi adalah $0,54 \pm 0,11 \mu\text{g} / \text{mL}$. Nilai rata-rata tingkat GSH setelah suplemen adalah $1,07 (0,94-1,68) \mu\text{g} / \text{mL}$. Ini menunjukkan bahwa suplementasi vitamin C dan vitamin E bisa meningkatkan kadar GSH secara signifikan ($p = 0,002$). Terdapat perbedaan yang signifikan pada perubahan kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH sebelum dan sesudah perlakuan antara luka bakar sedang dan luka bakar berat.

Kata kunci :

Luka bakar sedang berat, vitamin C, vitamin E, GSH, stres oksidatif.

ABSTRACT

Name : Marya Warascesaria Haryono
Study Program : Nutrition, Clinical Nutrition
Judul : The Effect of Vitamin C and E Supplementation On Level Of Plasma GSH of Moderate and Severe Burn

The aimed of the study is to assess the levels of GSH after supplementation of vitamin C 1000 mg iv and 400 mg vitamin E orally for four consecutive days on a moderate to severe burns. This experimental studies with one group pre-post test involved 18-59% years aged patients with moderate to severe burns less than 60%. From 16 cases required the criteria, there were 12 cases as the subject of research in accordance with the expected sample. The most causes of burns is fire (75%) and most of subjects have a normal BMI (67%) with average 22.04 ± 1.89 kg /m². Median value of vitamin C levels before supplementation was 17.79(10.16-32.88) $\mu\text{mol/L}$ and after supplementation was 18.33(9.10-37.02) $\mu\text{mol/L}$ ($p= 0.239$). Average value of serum vitamin E levels increased significantly, which are 9.06 ± 1.56 $\mu\text{mol/L}$ before supplementation and 15.50(6.28-27.17) $\mu\text{mol/L}$ after supplementation ($p= 0.019$). Median value and range of plasma GSH levels before supplementation was 0.54 ± 0.11 $\mu\text{g/mL}$. Median value of GSH levels after supplementation was 1.07 (0.94-1.68) $\mu\text{g/mL}$. This is show that the supplementation of vitamin C and vitamin E may increased GSH levels significantly ($p = 0.002$). There were no significant differences in changes in levels of vitamin C, vitamin E, and GSH before and after treatment among the study subjects with moderate and severe burns.

Keywords:

Moderate and severe burns, vitamin C, vitamin E, plasma GSH, oxidative stress.

DAFTAR ISI

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
ABSTRAK	vi
<i>ABSTRACT</i>	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Permasalahan	3
1.2.1 Identifikasi masalah	3
1.2.2 Rumusan masalah	3
1.3 Hipotesis	3
1.4 Tujuan penelitian	3
1.5 Manfaat penelitian	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Patofisiologi dan stres oksidatif pada luka bakar.....	6
2.2 Radikal bebas dan ROS.....	9
2.3 Reaksi perusakan oleh radikal bebas di dalam tubuh	10
2.4 Pertahanan tubuh terhadap radikal bebas	11
2.5 Pemberian nutrisi pada kasus luka bakar	12
2.6 Vitamin C	14
2.6.1 Definisi, sifat fisik dan struktur kimia	14
2.6.2 Metabolisme	15
2.6.3 Distribusi vitamin C	17
2.6.4 Fungsi vitamin C sebagai antioksidan	17
2.6.5 Kebutuhan vitamin C	18
2.6.6 Bahan Makanan Sumber vitamin C.....	19
2.6.7 Defisiensi dan Toksisitas.....	19
2.6.8 Penilaian Status Vitamin E	20
2.7 Vitamin E	20
2.7.1 Sifat biokimia	20
2.7.2 Metabolisme	22
2.7.3 Konsentrasi dalam plasma	24
2.7.4 Fungsi vitamin E	24
2.7.5 Kebutuhan vitamin E	25
2.7.6 Konversi dan potensi biologi vitamin E	25
2.7.7 Status vitamin E	25
2.7.8 Bahan Makanan Sumber vitamin E	26

2.7.9 Defisiensi dan Toksisitas	26
2.8 GSH	27
2.9 Pengaruh vitamin C dan vitamin E terhadap kadar GSH pada penderita luka bakar	28
2.10 Kerangka Teori	31
2.11 Kerangka Konsep	32
3. METODE PENELITIAN	33
3.1 Rancangan Penelitian	33
3.2 Tempat dan waktu penelitian	33
3.3 Bahan Penelitian	33
3.4 Instrumen Pengumpulan Data	35
3.5 Cara Kerja	36
3.6 Variabel yang digunakan	38
3.7 Manajemen Data	38
3.8 Batasan Operasional	39
3.9 Matriks identifikasi variabel	44
3.10 Organisasi penelitian	44
3.11 Alur penelitian	45
4. HASIL PENELITIAN	46
4.1 Seleksi Subyek Penelitian	46
4.2 Karakteristik Subyek Penelitian	47
4.3 Analisis Asupan	48
4.4 Kadar Vitamin C, Vitamin E, dan GSH	50
4.5 Perubahan kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH terhadap luka bakar sedang dan berat	51
5. PEMBAHASAN	52
5.1 Keterbatasan penelitian	52
5.2 Karakteristik subyek penelitian	53
5.3 Analisis asupan	55
5.4 Kadar vitamin C dan E subyek penelitian	57
5.5 Kadar GSH subyek penelitian	58
5.6 Perubahan kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH terhadap luka bakar sedang dan berat	59
6. RINGKASAN, SIMPULAN, DAN SARAN	60
 <i>SUMMARY, CONCLUSIONS, AND RECOMMENDATIONS</i>	 64
DAFTAR REFERENSI	68
MANUSCRIPT	73
 LAMPIRAN	 80

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Perhitungan Faktor Stres Penderita Luka Bakar	14
Tabel 2.2. Kandungan Vitamin C dalam Beberapa Bahan Makanan Sumber...	19
Tabel 2.3. Kadar GSH pada jaringan manusia	27
Tabel 3.1. Klasifikasi Indeks Massa Tubuh (IMT) Untuk Asia Pasifik.....	41
Tabel 3.2. Interpretasi asupan protein terhadap kebutuhan kalori total	42
Tabel 3.3. Tabel matriks identifikasi variabel	44
Tabel 4.1. Karakteristik subyek penelitian berdasarkan kadar SGOT, SGPT, ureum, kreatinin, dan waktu MRS (n=12)	47
Tabel 4.2. Kebutuhan, asupan, dan persentase asupan per kebutuhan energi, protein, vitamin C, dan vitamin E (n=12).....	48
Tabel 4.3. Kadar vitamin C, E, dan GSH sebelum dan sesudah perlakuan (n=12)	51
Tabel 4.4 Perubahan kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH terhadap derajat luka bakar	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Respon inflamasi pada penderita luka bakar	6
Gambar 2.2. Metabolisme xantin menghasilkan superoksida seperti O_2 , OH, dan H_2O_2	7
Gambar 2.3. Terjadinya radikal bebas.....	9
Gambar 2.4. Pertahanan enzimatik terhadap cedera radikal bebas.....	12
Gambar 2.5. Struktur vitamin C	15
Gambar 2.6. Struktur vitamin C dan glukosa.....	16
Gambar 2.7. Struktur vitamin E.....	21
Gambar 2.8. Absorpsi dan distribusi vitamin E.....	23
Gambar 2.9. Posisi tokoferol dalam membran sel.....	23
Gambar 2.10. Mekanisme kerja GSH mereduksi H_2O_2	28
Gambar 2.11. Kadar GSH serum.....	29
Gambar 2.12. Regenerasi <i>scavenger</i>	30
Gambar 4.1. Penyebab luka bakar.....	47
Gambar 4.2. Kadar GSH menurut penyebab luka bakar	48
Gambar 4.3. Asupan energi selama empat hari berturut-turut	49
Gambar 4.4. Asupan protein selama empat hari berturut-turut	50
Gambar 4.5. Asupan vitamin C dan vitamin E selama empat hari berturut-turut	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Keterangan lolos Kaji Etik.....	82
Lampiran 2. Formulir A1: Lembar informasi penelitian	83
Lampiran 3. Formulir A2: Lembar persetujuan responden penelitian.....	84
Lampiran 4. Formulir A3: Formulir seleksi berdasarkan kriteria penerimaan dan penolakan.....	85
Lampiran 5. Formulir A4: Formulir identitas responden.....	86
Lampiran 6. Formulir B : Formulir data antropometri, yaitu berat badan, tinggi badan, IMT.....	87
Lampiran 7. Formulir C : Formulir data laboratorium yaitu kadar vitamin C dan vitamin E serum dan GSH plasma.....	88
Lampiran 8. Formulir D: Formulir penilaian asupan.....	89
Lampiran 9. Cara pemeriksaan GSH plasma	90
Lampiran 10. Cara pemeriksaan vitamin E serum.....	91
Lampiran 11. Cara pemeriksaan vitamin C serum.....	92

DAFTAR SINGKATAN

ABA	= <i>American Burn Association</i>
AKG	= <i>Angka Kecukupan Gizi</i>
ATP	= <i>Adenosine triphosphate</i>
BB	= <i>Berat badan</i>
BM	= <i>Berat molekul</i>
DNA	= <i>Deoxyribonucleic acid</i>
FNB	= <i>The Food and Nutrition Board</i>
GLUT	= <i>Glukosa transporter</i>
GPx	= <i>Glutation peroksidase</i>
GSH	= <i>Glutation</i>
GSSG	= <i>Glutation teroksidasi</i>
HPLC	= <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IOM	= <i>Institute of Medicine</i>
KEB	= <i>Kebutuhan energi basal</i>
MDA	= <i>Malondialdehid</i>
MODS	= <i>Multiple organ disfunctions</i>
MRS	= <i>Masuk rumah sakit</i>
NADPH	= <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NHANES	= <i>National Health And Nutrition Examination Survey</i>
PUFA	= <i>Poly unsaturated fatty acid</i>
RDA	= <i>Recommended Dietary Allowances</i>
ROS	= <i>Reactive oxygen species</i>
RSUPNCM	= <i>Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo</i>
SGOT	= <i>Serum glutamic oxaloacetic transaminase</i>
SGPT	= <i>Serum glutamic piruvic transaminase</i>
SIRS	= <i>Systemic inflammatory response syndrome</i>
SOD	= <i>Superoxide dismutase</i>
SPSS	= <i>Statistical Program for Social Science</i>
SVCT	= <i>Sodium-dependent vitamin C transporter</i>
TB	= <i>Tinggi badan</i>
TBARS	= <i>Thiobarbituric acid reactant substances</i>
TBSA	= <i>Total body surface area</i>
UL	= <i>Upper limit</i>
UPK-LB	= <i>Unit Pelayanan Khusus Luka Bakar</i>
VLDL	= <i>Very low density lipoprotein</i>
α -TTP	= <i>α-tocopherol transfer protein</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Luka bakar adalah suatu bentuk kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik dan radiasi. Luka bakar merupakan suatu jenis trauma dengan morbiditas dan mortalitas tinggi yang memerlukan penatalaksanaan khusus sejak awal.¹ Di Amerika, sekitar dua sampai tiga juta kasus luka bakar setiap tahunnya dengan jumlah kematian lima sampai enam ribu kematian pertahun, sedangkan di Indonesia belum ada laporan tertulis. Data dari Unit Pelayanan Khusus Luka Bakar (UPKLB) Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta (RSCM) tercatat pada tahun pada tahun 1998 terdapat 107 kasus luka bakar yang dirawat, dengan angka kematian 37,38 %, sedangkan pada tahun 2007 terdapat 131 kasus luka bakar dengan angka kematian sebesar 36%.^{2,3}

Pada fase awal luka bakar terjadi gangguan sirkulasi yang mengakibatkan hipoksia sebagai akibat terganggunya perfusi sampai ke tingkat sel. Keadaan ini menimbulkan stres oksidatif dan respon metabolik. Adanya jaringan yang luka dapat menstimulasi mediator dan sitokin sehingga memperberat keadaan stres oksidatif dan respon metabolik tubuh.^{1,4}

Penelitian Ritter dkk dan Sypniewska dkk mendapatkan bahwa stres oksidatif pada subyek kasus luka bakar terjadi sejak hari pertama pasca luka bakar sampai hari terakhir pengamatan.^{5,7} Stres oksidatif terjadi akibat ketidakseimbangan antara kapasitas antioksidan tubuh dengan radikal bebas. Pada kasus luka bakar, stres oksidatif ditandai dengan peningkatan produk kerusakan oksidatif terhadap sel dan penurunan antioksidan dalam tubuh, termasuk kadar glutathion (GSH), vitamin C dan vitamin E tubuh.^{8,9} Beberapa penelitian memperlihatkan bahwa pemberian vitamin C dan vitamin E pada kasus luka bakar dapat membantu mengendalikan stres oksidatif. Vitamin C atau asam askorbat adalah suatu mikronutrien yang esensial bagi kesehatan tubuh. Salah satu fungsi vitamin C adalah sebagai antioksidan intraseluler maupun ekstraseluler karena dapat mendonorkan atom hidrogennya.⁶ Vitamin C dapat mereduksi peroksida

lipid dengan dikatalisis oleh askorbat peroksidase menghasilkan dehidroaskorbat. Dehidroaskorbat dikembalikan menjadi askorbat oleh GSH dengan dikatalisis oleh dehidroaskorbat reduktase.¹⁰ Vitamin E mampu mereduksi radikal lipid atau radikal peroksil menghasilkan radikal tokoferol yang kurang reaktif. Radikal tokoferol diubah kembali menjadi α -tokoferol oleh asam askorbat, menghasilkan dehidroaskorbat.^{6,10} Pada kondisi stres oksidatif yang sangat meningkat seperti pada kasus luka bakar, kebutuhan vitamin C dan vitamin E bagi tubuh meningkat sedangkan asupan menurun, sehingga dapat terjadi defisiensi.¹¹

Dukungan nutrisi yang mencakup pemberian makronutrien dan mikronutrien yang baik sangat diperlukan dalam penatalaksanaan terapi pada kasus luka bakar. Penelitian mengenai pengaruh pemberian mikronutrien seperti vitamin C yang berperan sebagai antioksidan terhadap kasus luka bakar telah banyak dipublikasikan. Penelitian Jawad dkk mendapatkan pemberian vitamin C secara oral sebesar 500 mg/hari dan vitamin E 400 mg pada kasus luka bakar sedang-berat selama perawatan dapat meningkatkan kadar GSH secara bermakna pada hari ke tiga dan ke tujuh perlakuan, sedangkan Al-Kaisy dkk dkk mendapatkan peningkatan bermakna kadar GSH sejak hari ke dua dan ke empat dengan perlakuan yang sama.^{9,11}

Untuk mengetahui peran suplementasi vitamin C dan E pada kasus luka bakar di Indonesia khususnya di UPKLB RSCM peneliti merasa perlu melakukan penelitian mengenai suplementasi vitamin C dan E terhadap respon stres oksidatif kasus luka bakar. Penelitian ini belum pernah dilakukan pada kasus luka bakar di Indonesia, sehingga pemilihan dosis disesuaikan dengan karakteristik populasi Indonesia yang berbeda dalam hal penanganan emergensi dan kemampuan pertahanan tubuh terhadap *injury*. Suplementasi vitamin C diberikan sebesar 1000 mg iv dan vitamin E 400 mg per oral. Dosis vitamin C masih di bawah nilai rekomendasi Demling yaitu 2000 mg iv, sedangkan dosis vitamin E sesuai dengan nilai rekomendasi minimal dari Demling yaitu 400-1000 mg per oral. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian di Departemen Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dengan judul Pengaruh Suplementasi Vitamin C dan E Terhadap Kadar *C-reactive protein* (CRP), malondialdehid (MDA), dan GSH Pada Kasus Luka Bakar Sedang Berat.

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan desain *one group pre-post test* pada kasus luka bakar derajat sedang-berat berusia 18-59 tahun yang dilakukan di UPKLB RSCM Jakarta, untuk mengetahui kadar vitamin C dan vitamin E serum dan kadar GSH plasma setelah mendapatkan suplementasi vitamin C dan vitamin E selama empat hari berturut-turut.

1.2 Permasalahan

1.2.1 Identifikasi masalah

- Angka mortalitas pada kasus luka bakar masih tinggi.
- Stres oksidatif pada kasus luka bakar dapat menyebabkan penurunan kadar GSH, vitamin E dan vitamin C.

1.2.2 Rumusan masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang penelitian di atas dapat dirumuskan pertanyaan sebagai berikut:

Apakah suplementasi vitamin C 1000 mg intravena (iv) dan vitamin E 400 mg oral selama empat hari berturut-turut, pada kasus luka bakar sedang berat dapat meningkatkan kadar GSH plasma?

1.3 Hipotesis

Pemberian vitamin C 1000 mg iv dan vitamin E 400 mg oral selama empat hari berturut-turut pada kasus luka bakar sedang berat dapat meningkatkan kadar GSH plasma.

1.4 Tujuan penelitian

a. Tujuan umum

Mengendalikan stres oksidatif dan menurunkan mortalitas pada kasus luka bakar.

b. Tujuan khusus

1. Diketuinya karakteristik subyek penelitian berdasarkan usia, jenis kelamin, status gizi, derajat luka bakar, penyebab luka bakar, pemeriksaan *serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT)*, *serum*

glutamic piruvic transaminase (SGPT), ureum, kreatinin, waktu masuk rumah sakit (MRS), dan kadar GSH menurut penyebab luka bakar.

2. Diketuainya asupan energi, protein, vitamin C, dan vitamin E selama empat hari berturut-turut dan persentase asupan terhadap kebutuhan sebelum dan sesudah perlakuan dengan metode *food record*.
3. Diketuainya kadar vitamin C serum, vitamin E serum, dan GSH plasma sebelum dan sesudah perlakuan.
4. Diketuainya perubahan kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH terhadap derajat luka bakar.

1.5 Manfaat penelitian

1. Untuk subyek penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam upaya memperpendek hari rawat kasus luka bakar.

2. Untuk institusi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai manfaat suplementasi vitamin C dan E pada kasus luka bakar. Hasil penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi data dasar bagi penelitian selanjutnya.

3. Untuk peneliti

Diharapkan dapat menerapkan pengetahuan yang didapat selama kuliah dan melatih cara berpikir serta membuat penelitian yang baik dan benar.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

Luka bakar dapat terjadi akibat api, air panas, bahan kimia, listrik, petir dan radiasi. Kedalaman kerusakan jaringan akibat luka bakar tergantung pada derajat panas sumber, penyebab dan lamanya kontak dengan tubuh penderita. Berdasarkan kedalaman kerusakan jaringan dibedakan menjadi luka bakar derajat I, II, dan III.^{1,2}

American Burn Association (ABA), memberikan beberapa kriteria luka bakar yang harus mendapat perawatan di unit khusus luka bakar, yaitu:¹²

1. Luka bakar berat (*major burn*)

- Luka bakar derajat dua dan tiga, dengan luas luka bakar lebih dari 10% luas permukaan tubuh atau *total body surface area (TBSA)*, pada pasien dengan usia di bawah 10 tahun atau lebih dari 50 tahun.
- Luka bakar derajat dua dan tiga, dengan luas luka bakar lebih dari 20% TBSA, pada semua usia.
- Luka bakar derajat tiga lebih dari 5%, pada semua usia.
- Luka bakar derajat dua dan tiga yang mempunyai predileksi pada muka, tangan, kaki, genitalia, perineum dan sendi yang penting.
- Luka bakar listrik
- Luka bakar kimiawi yang menyebabkan gangguan fungsi atau gangguan kosmetik.
- Trauma inhalasi
- Adanya penyulit khusus, yang membutuhkan manajemen terapi yang baik.
- Kombinasi antara luka bakar mekanik dan termal, yang mempunyai resiko perburukan.

2. Luka bakar sedang (*moderate burn*)

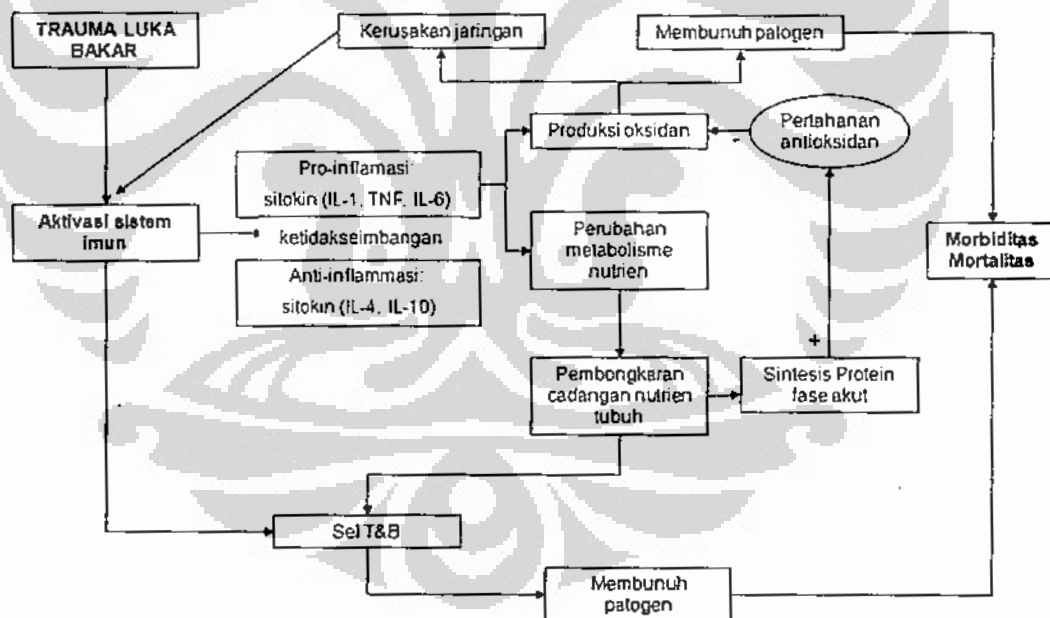
- Luka bakar dengan luas 15-25% pada dewasa, dengan luas luka bakar derajat tiga kurang dari 10%.
- Luas luka bakar dengan luas 10-20% pada anak kurang dari 10 tahun atau dewasa > 40 tahun, dengan luas luka bakar derajat tiga kurang dari 10%.

- Luas luka bakar dengan derajat tiga kurang dari 10% pada anak dan dewasa yang tidak mengenai muka, tangan, kaki, dan perineum.

2.1 Patofisiologi dan stres oksidatif pada luka bakar

Pada fase awal luka bakar terjadi penurunan laju metabolisme, curah jantung, suhu tubuh, konsumsi oksigen, dan terjadi hipoperfusi serta asidosis laktat. Fase ini disebut juga fase *ebb*/fase akut yang terjadi akibat hilangnya cairan dan elektrolit sehingga terjadi gangguan sirkulasi. Fase *ebb* berlangsung singkat dan selanjutnya diikuti oleh fase *flow* atau fase hipermetabolik yang dimulai dalam 24 jam sampai 36 jam setelah terjadi trauma luka bakar.^{1,4}

Perubahan metabolisme pada kasus luka bakar bukan hanya terjadi oleh adanya perubahan hormon stres saja, tetapi juga oleh mediator inflamasi seperti sitokin, eikosanoid dan radikal bebas yang dilepaskan ke dalam sirkulasi.¹³



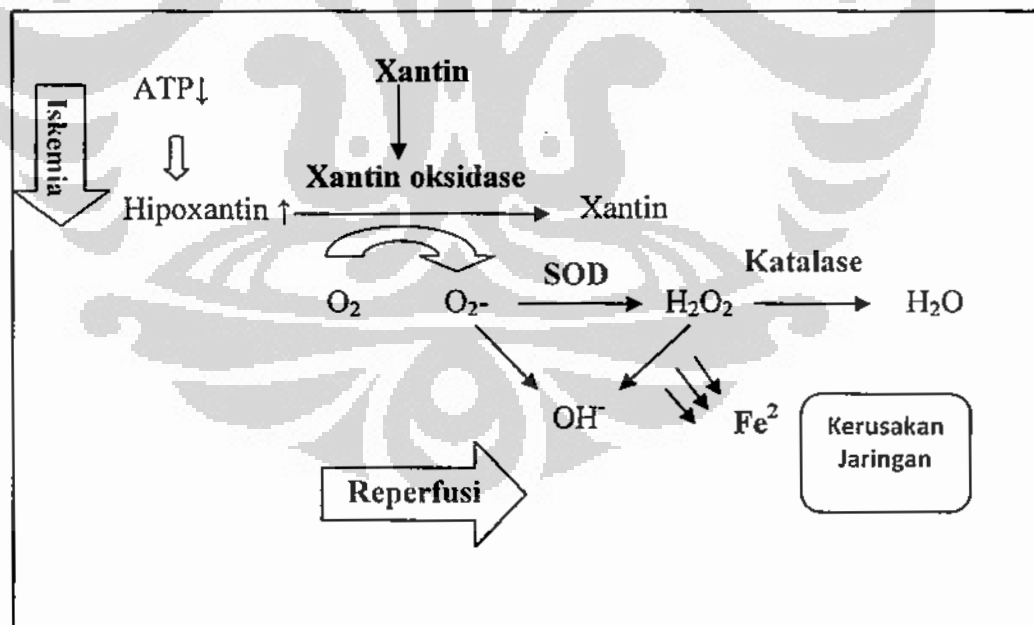
Gambar 2.1. Respon inflamasi pada kasus luka bakar

Sumber: Visser¹³

Mediator inflamasi yang dihasilkan dari daerah cedera pada luka bakar memiliki efek lokal maupun sistemik dan dapat merusak sistem organ lain.¹³ Respon inflamasi sistemik ini akan memproduksi radikal bebas yang tidak diimbangi dengan pertahanan antioksidan tubuh, sehingga timbul keadaan stres

oksidatif yang dapat memperberat perubahan metabolisme bahkan menimbulkan *multiple organ disfunctions* (MODS), yang kemudian dapat mempengaruhi morbiditas dan mortalitas (gambar 2.1).¹³

Gangguan sirkulasi menyebabkan gangguan perfusi dan oksigenasi jaringan yang terjadi secara sistemik dan dapat menimbulkan gangguan fungsi sampai ke tingkat seluler. Kemudian jaringan mengalami iskemia akibat hipoksia.⁴ Saat jaringan mengalami iskemia, terjadi pemecahan *adenosine triphosphate* (ATP) yang menyebabkan akumulasi hipoxantin, dan terjadi peningkatan aktivitas enzim xantin oksidase. Setelah iskemia berlangsung akan terjadi proses reperfusi, yaitu proses reoksigenasi jaringan secara cepat. Saat reperfusi, hipoxantin bereaksi dengan oksigen, yang dikatalisis enzim xantin oksidase, dan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS). ROS dapat bereaksi dengan Fe dan Cu yang dilepaskan oleh sel yang rusak sehingga terjadi kerusakan pada sel dan jaringan lain (gambar 2.2).^{5,14} Kerusakan jaringan ini akan menstimulasi sitokin dan mediator pro-inflamasi lebih banyak lagi ke sirkulasi dan memicu MODS.⁴



Gambar 2.2. Metabolisme xantin yang menghasilkan superoksida seperti O₂⁻, OH⁻, dan H₂O₂

Sumber: Moenadjat⁴ (telah diolah kembali)

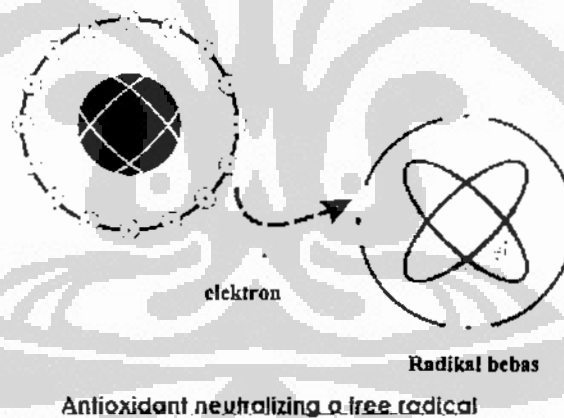
Berbagai penelitian pada kasus luka bakar terhadap stres oksidatif telah dilakukan. Maghit dkk melakukan penelitian klinis secara prospektif pada 20 kasus luka bakar, dengan rata-rata usia 40 tahun dan luas luka bakar lebih dari 30%, dibandingkan dengan 20 subyek sehat, didapatkan penurunan *superoxide dismutase* (SOD), glutathion peroksidase (GPx), vitamin C, dan vitamin E dalam darah serta peningkatan produk peroksidasi lipid (*thiobarbituric acid reactant substances*/TBARS) secara bermakna sejak hari pertama pasca luka bakar sampai hari terakhir pengamatan (hari ke lima).⁸ Selaras dengan Maghit, Ritter dkk mengamati 25 kasus luka bakar dengan luas lebih dari 30% mendapatkan bahwa pada luka bakar terjadi peningkatan bermakna TBARS.⁷ Sedangkan penelitian Sypniewska dkk pada 84 kasus luka bakar anak usia lima bulan sampai 14 tahun, dibagi menjadi kelompok dengan luka bakar ringan dengan luas luka bakar kurang dari 10% derajat satu sampai dua dan kelompok luka bakar sedang-berat yaitu dengan luas luka bakar lebih dari 10% pada derajat dua atau luka bakar derajat tiga. Pada penelitian tersebut didapatkan peningkatan bermakna TBARS pada kelompok luka bakar ringan maupun sedang-berat dibandingkan kelompok kontrol subyek sehat (40 anak) sejak hari pertama pasca luka bakar sampai hari terakhir pengamatan. Kapasitas antioksidan total juga didapatkan menurun bermakna pada kedua kelompok dibandingkan dengan kelompok kontrol sehat. Namun peningkatan TBARS dan penurunan kapasitas antioksidan total tidak bermakna bila dibandingkan antara kelompok luka bakar ringan dengan luka bakar sedang-berat.⁵

Penatalaksanaan resusitasi baik resusitasi jalan napas maupun resusitasi cairan memegang peranan penting dalam penanganan kasus luka bakar. Resusitasi jalan napas bertujuan untuk mengupayakan suplai oksigen adekuat dengan melakukan intubasi dan atau krikotiroidotomi. Tindakan ini dilanjutkan dengan pemberian oksigen, perawatan jalan napas, dan rehabilitasi jalan napas. Resusitasi cairan bertujuan untuk mengupayakan perfusi yang adekuat dan seimbang diseluruh pembuluh kapiler regional, sehingga iskemia jaringan tidak terjadi disetiap organ sistemik. Selain itu, resusitasi cairan dapat mengoptimalkan status volume dan komposisi intravaskular, serta meminimalkan respon inflamasi dan hipermetabolik.^{4,15,16}

Kesulitan yang terjadi pada kasus luka bakar di Indonesia adalah seringnya terjadi keterlambatan penanganan pada fase awal luka bakar. Pada sistem penanganan emergensi di negara maju yang sangat baik, kasus luka bakar sudah mendapat pertolongan dalam waktu 10-15 menit pasca trauma. Di Indonesia, proses ini berjalan lebih lama (lebih dari dua jam), sehingga gangguan sirkulasi menjadi lebih berat.⁴

2.2 Radikal bebas dan ROS

Radikal bebas adalah sekelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya dan merupakan suatu kelompok bahan kimia dengan reaksi jangka pendek yang memiliki satu atau lebih elektron bebas.¹⁰ Radikal bebas dalam tubuh manusia berasal dari dua sumber yaitu endogen dan eksogen (obat-obatan, radiasi, tembakau, partikel inorganik, dan gas).⁶



Gambar 2.3. Terjadinya radikal bebas

Sumber: http://www.gmvirtual.com/images/antioxidant_diag.gif¹⁷

ROS adalah semua derivat oksigen baik yang bersifat radikal maupun nonradikal. Contoh ROS yang bersifat radikal adalah radikal hidroksil (OH^\cdot) dan radikal superoksida (O_2^\cdot) dan yang bersifat nonradikal (karena tidak memiliki elektron tidak berpasangan) adalah hidrogen peroksida (H_2O_2) dan asam hipoklorus (HOCL). Radikal superoksida adalah inisiator reaksi berantai yang kuat, sedangkan radikal hidroksil merupakan radikal bebas yang paling berbahaya

karena reaktivitasnya sangat tinggi dengan waktu paruh yang pendek. Satu molekul radikal hidroksil dapat merusak ratusan rantai asam lemak tak jenuh menjadi hidroperoksida lipid (LOOH). Radikal hidroksil dapat dihasilkan melalui reaksi hidrogen peroksida dengan Fe^{2+} atau Cu^+ (reaksi fenton) dan reaksi hidrogen peroksida dengan radikal superoksida (reaksi Haber-Weis). Hidrogen peroksida larut dalam lemak dan dapat menimbulkan kerusakan di membran lokal yang mengandung Fe^{2+} .¹⁸

Proses metabolisme tubuh secara normal dapat menghasilkan ROS, yaitu melalui rantai transpor elektron mitokondria, reaksi enzimatik yang menggunakan oksigen, proses inflamasi, oksidasi hemoglobin, dan iskemia reperfusi.¹⁰ Pada proses reperfusi-iskemia terdapat dua keadaan, (1) meningkatnya produksi xantin dan xantin oksidase (2) tidak adanya antioksidan superoksid dismutase dan glutathion peroksidase, sehingga molekul oksigen yang disuplai selama proses reperfusi bertindak sebagai penerima elektron dan kofaktor bagi xantin oksidase. Hal ini menimbulkan pembentukan radikal superoksida dan hidrogen peroksida. Dalam keadaan normal, xantin oksidase mengkatalisis reaksi hipoxantin menjadi xantin dan selanjutnya xantin diubah menjadi asam urat. Reaksi ini membutuhkan penerima elektron sebagai kofaktor.¹⁴

Keadaan stres oksidatif terjadi bila kadar radikal bebas dalam tubuh melebihi pertahanan antioksidan endogen. Pada keadaan ini kelebihan radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan lokal bahkan dapat terjadi disfungsi organ.¹⁹

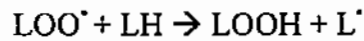
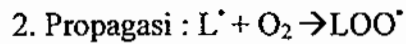
2.3 Reaksi perusakan oleh radikal bebas di dalam tubuh

2.3.1 Peroksidasi lipid

Membran sel mengandung banyak *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) yang mudah dirusak oleh radikal bebas sehingga mengakibatkan hilangnya fungsi dan integritas membran. Proses tersebut dinamakan peroksidasi lipid yang merupakan reaksi rantai sebagai berikut:¹⁸

1. Inisiasi : $\text{LH} \rightarrow \text{L}^{\cdot}$

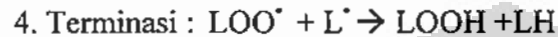
Reaksi peroksidasi lipid dimulai oleh sebuah senyawa radikal bebas, misalnya radikal hidroksil, yang menarik atom hidrogen dari lipid tak jenuh ganda atau PUFA (LH) dan akan menghasilkan radikal lipid (L^{\cdot}).



Radikal lipid akan bereaksi dengan molekul oksigen membentuk radikal peroksil (LOO^{\cdot}). Radikal ini kemudian akan bereaksi lagi dengan PUFA lain membentuk peroksida lipid ($LOOH$) dan ion radikal.

3. Degradasi :

Selanjutnya akan terjadi degradasi lipid yang menghasilkan antara lain MDA.



Antioksidan yang dapat memutus reaksi rantai peroksidasi lipid antara lain GSH, vitamin E (α -tokoferol), dan asam askorbat.¹⁹

2.3.2 Kerusakan protein

Protein dan asam nukleat lebih tahan terhadap radikal bebas daripada PUFA, sehingga kecil kemungkinan terjadi reaksi berantai yang cepat. Serangan radikal bebas terhadap protein sangat jarang terjadi kecuali radikal tersebut mampu berakumulasi (jarang pada sel normal), atau bila kerusakannya terfokus pada daerah tertentu dalam protein.^{20,21}

2.3.3 Kerusakan DNA

Kerusakan pada DNA terjadi bila ada lesi pada susunan molekul. Apabila tidak dapat diatasi, dan terjadi sebelum proses replikasi maka akan terjadi mutasi. Radikal oksigen dapat menyerang DNA jika terbentuk disekitar DNA seperti pada radiasi biologis.^{20,21}

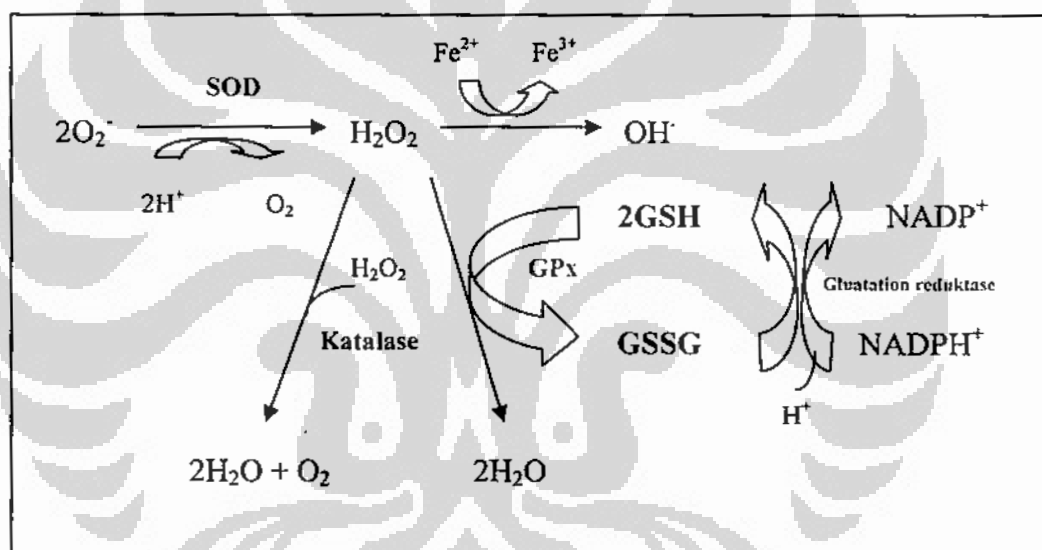
2.4 Pertahanan tubuh terhadap radikal bebas.

Secara alamiah terdapat berbagai sistem pertahanan terhadap radikal bebas yang dikenal dengan antioksidan. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang terdapat dalam kadar rendah bila dibandingkan dengan substratnya dan dapat mencegah atau menghambat oksidasi substrat tersebut.^{6,10}

Secara umum, antioksidan dikelompokkan menjadi dua yaitu antioksidan enzimatik dan non-enzimatik. Antioksidan enzimatik misalnya superoksida

dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GPx). Antioksidan nonezimatis misalnya GSH, vitamin E, dan vitamin C.⁶

Antioksidan enzimatik bekerja dengan mengkatalisis pembersihan radikal superoksida dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida yang terbentuk harus dikeluarkan untuk mencegah pembentukan radikal hidroksil. Pemecahan hidrogen peroksida menjadi H_2O dikatalisis oleh katalase dan glutathion peroksidase. Reaksi yang dikatalisis oleh glutathion peroksidase adalah reduksi hidrogen peroksida oleh GSH dan menghasilkan glutathion teroksidasi (GSSG). GSSG harus direduksi kembali menjadi GSH oleh glutathion reduktase dengan menggunakan NADPH sebagai donor elektron (gambar 2.4).¹⁸



Gambar 2.4. Pertahanan enzimatik terhadap cedera radikal bebas

Sumber: Marks¹⁸

2.5 Pemberian nutrisi pada luka bakar

Terapi nutrisi pada kasus luka bakar memerlukan penilaian dan monitoring yang baik terhadap kebutuhan tiap individu.²²

Perubahan metabolik basal dan respon metabolisme pada luka bakar menyebabkan kebutuhan makronutrien dan mikronutrien perlu diperhitungkan dengan baik. Kasus luka bakar lebih dari 20% harus mendapatkan dukungan nutrisi dengan beberapa faktor yang mempengaruhi kebutuhan antara lain usia,

kehamilan, menyusui, status nutrisi, penyakit penyerta, gangguan elektrolit, gagal ginjal, diabetes, demam, infeksi, dan sepsis.^{23,24}

Tujuan terapi nutrisi pada fase awal luka bakar adalah untuk *gut feeding* sehingga dapat mencegah atrofi vili-vili mukosa. Pada tahap lanjut, pemberian nutrisi untuk mempertahankan massa tubuh, mengatasi hipermetabolisme, meningkatkan integritas usus, mencegah starvasi dan defisiensi nutrisi spesifik, membantu penyembuhan luka, mengatasi infeksi, mengganti kehilangan protein visera dan somatik, mencegah atau meminimalkan komplikasi akibat jalur pemberian nutrisi, menyediakan jumlah dan komposisi nutrisi yang sesuai untuk memodulasi respon stres dan komplikasi.^{23,25} Pemberian nutrisi yang sesuai kondisi metabolisme akan memperpendek hari rawat, dapat mencegah *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS) dan MODS serta menurunkan angka mortalitas.²³ Hasil penelitian Oetoro mendapatkan bahwa pemberian nutrisi enteral dini kurang dari delapan jam pasca trauma pada kasus luka bakar terbukti dapat ditolerir dan lebih cepat ditoleransi dibandingkan pemberian nutrisi tidak dini.²⁶

Penentuan kebutuhan energi selain dipengaruhi hal di atas, juga dipengaruhi komposisi tubuh pasien dan faktor koreksinya. Alat yang cukup akurat dalam menentukan kebutuhan energi adalah kalorimeter indirek, tetapi tidak semua unit perawatan luka bakar menyediakan alat ini. Beberapa rumus untuk memudahkan menghitung total kebutuhan penderita telah digunakan, namun sampai saat ini belum ada rekomendasi yang paling tepat untuk penentuan kebutuhan energi.^{4,22,23}

Pada kasus luka bakar, kebutuhan energi dapat bertambah sampai 100% dari kebutuhan energi basal (KEB), tergantung luas dan dalamnya luka bakar. Perhitungan KEB pada umumnya ditentukan dengan rumus Harris Benedict. Rumus ini menghitung KEB berdasarkan jenis kelamin, berat badan (BB, dalam kg), tinggi badan (TB, dalam cm) dan umur (dalam tahun). Rumus *Harris Benedict* adalah :²⁵

$$\text{Pria} \quad : 66,5 + (13,7 \times \text{BB}) + (5 \times \text{TB}) - (6,8 \times \text{Usia})$$

$$\text{Perempuan} \quad : 665 + (9,6 \times \text{BB}) + (1,7 \times \text{TB}) - (4,7 \times \text{Usia})$$

Hasil KKB tersebut dikalikan faktor aktivitas fisik dan faktor stres akibat luasnya luka bakar (tabel 2.1).

Tabel 2.1. Perhitungan Faktor Stres Kasus luka bakar

% Luas Luka Bakar	Faktor Stres
10	1,25
20	1,50
30	1,70
40	1,85
50	2,00
≥60	2,10

Sumber : Prins A²³

Cara pemberian nutrisi dapat dilakukan melalui oral, enteral, dan parenteral. Prinsip yang dianut saat ini adalah pemberian nutrisi melalui oral atau enteral karena bersifat lebih fisiologik dan mengacu pada disfungsi saluran cerna yang berperan sebagai motor MODS.⁴ Kebutuhan protein diberikan 1,5-2,15 g/kgBB/hari. Kebutuhan lemak diberikan 25-30% dari kebutuhan kalori total, sedangkan kebutuhan karbohidrat diberikan 50-60% dari kebutuhan kalori total.^{1,2}

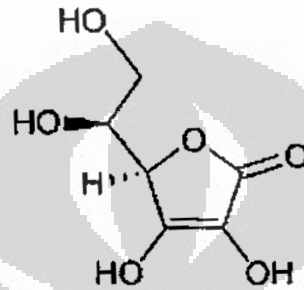
Selain rumus Harris Benedict, juga dapat digunakan metode perhitungan yang praktis yaitu dengan *rule of Thumb* (25-30 kkal/kgBB). Kelebihan dari rumus Thumb adalah lebih praktis dan dapat mencegah terjadinya *overfeeding*,⁴ tetapi rumus ini tidak memperhitungkan faktor stres dan faktor aktivitas fisik. Perhitungan kebutuhan energi menggunakan rumus *Harris Benedict* ditambahkan dengan aktivitas fisik dan faktor stres, tetapi berisiko terjadi *overfeeding*. Hal ini dapat diatasi dengan pemberian nutrisi secara perlahan dan bertahap sesuai kondisi metabolisme pasien sampai memenuhi kebutuhan energi perhari.^{4,26}

2.6 Vitamin C

2.6.1 Definisi, sifat fisik dan struktur kimia

Vitamin C (asam askorbat, askorbat) merupakan salah satu vitamin larut air yang memiliki struktur 6-karbon lakton. Pada beberapa mamalia, vitamin C dapat disintesis dari glukosa oleh enzim gulonolakton oksidase. Manusia tidak memiliki enzim ini sehingga harus mengonsumsi vitamin C dari luar.²⁷

Terdapat dua pasangan enantiomeric askorbat yaitu L- dan D- asam askorbat, serta L- dan D- asam isoaskorbat. Senyawa alamiah yang memiliki aktivitas vitamin C adalah L-askorbat dengan struktur $C_6H_8O_6$, berat molekul (BM)=176,1, berbentuk kristal padat berwarna putih, tidak berbau, stabil, dan mudah larut dalam air (gambar 2.5).²⁸



Gambar 2.5. Struktur vitamin C

Sumber : Biesalski²⁹

2.6.2 Metabolisme

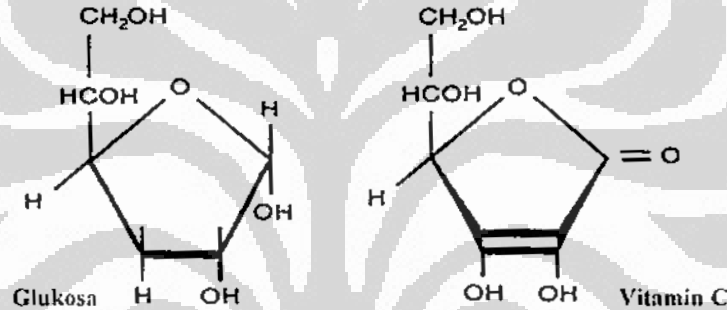
2.6.2.1 Absorpsi

Absorpsi askorbat terjadi di ileum dan jejunum oleh sistem transpor karier yaitu melalui *sodium-dependent vitamin C transporter* (SVCT) 1 dan 2. SVCT1 terdapat di intestinal, hati, dan ginjal, sedangkan SVCT2 tersebar di jaringan lain. Dehidroaskorbat diabsorpsi melalui mekanisme difusi pasif oleh tranporter glukosa (GLUT) sebab SVCT tidak dapat mentranpor asam dehidroaskorbat.^{27,30} Di dalam *brush border*, askorbat akan dioksidasi membentuk dehidroaskorbat, kemudian dehidroaskorbat akan direduksi kembali menjadi askorbat oleh enzim dehidroaskorbat reduktase dan protein glutaredoksin.²⁷

Kemampuan absorpsi vitamin C akan menurun jika kadar vitamin C dalam intestinal sangat banyak sebab pada keadaan ini proses absorpsi vitamin C terjadi secara difusi pasif. Absorpsi vitamin C bervariasi dari 16% pada asupan tinggi (mencapai 12 gr) sampai 98% pada asupan rendah (<20 mg). Absorpsi rata-rata dari makanan sehari-hari (30-180 mg/hari) sekitar 70-95%. Vitamin C yang tidak diabsorpsi akan dimetabolisme oleh flora normal intestinal.³⁰

2.6.2.2 Transpor dan ekskresi

Asam askorbat dalam plasma terdapat dalam keadaan bebas dan jumlah yang lebih banyak daripada asam dehidroaskorbat. Selain melalui SVCT, *uptake* askorbat dapat terjadi melalui mekanisme transpor yang lain yaitu melalui *recycling* askorbat, terutama untuk sel netrofil. Pada mekanisme ini, askorbat di luar sel mengalami oksidasi menjadi asam dehidroaskorbat, lalu masuk ke dalam sel melalui glukosa transporter (GLUT). Setelah masuk ke dalam sel, asam dehidroaskorbat segera direduksi menjadi askorbat. GLUT 1,3, dan 4 mentranspor asam dehidroaskorbat dengan afinitas yang tinggi setara dengan glukosa sebab strukturnya hampir sama (gambar 2.6).²⁷



Gambar 2.6. Struktur vitamin C dan glukosa

Sumber: http://www.bcrionline.org/research/vitaminc/ivc_cancer_fig1.jpg³¹

Di dalam sel, askorbat dioksidasi membentuk dehidroaskorbat dengan hasil transisi yaitu semidehidroaskorbat yang bersifat radikal. Semidehidroaskorbat radikal mempunyai waktu paruh yang pendek dan dapat bereaksi lemah dengan oksigen tanpa membentuk ROS. Selain membentuk dehidroaskorbat, semidehidroaskorbat juga dapat bereaksi dengan semidehidroaskorbat lain membentuk askorbat dan dehidroaskorbat (2semidehidroaskorbat radikal → askorbat + dehidroaskorbat).³⁰

Oksidasi dehidroaskorbat dimulai dengan reaksi hidrolisis pada struktur cincin 2,3-asam diketogulonik yang tidak memiliki aktivitas vitamin C dan dapat di ekskresi melalui urin. Selanjutnya diketogulonik mengalami hidrolisis membentuk berbagai senyawa antara lain asam oksalat yang diekskresikan lewat urin. Asam oksalat ditemukan di urin pada konsumsi vitamin C sekitar 200 mg.

Senyawa lain seperti xilose, xilonat dan lixonat dapat dioksidasi dan diekskresi sebagai CO_2 dan H_2O . Metabolit vitamin C lain yang ditemukan di urin adalah 2-O-metil askorbat, askorbat 2-sulfat, dan 2-ketoaskorbitol.³⁰

Reabsorpsi di ginjal terjadi bila konsentrasi vitamin C di plasma sekitar 1,2 mg/dL.³⁰

2.6.3 Distribusi vitamin C

Konsentrasi normal askorbat dalam plasma sekitar 0,4-1,7 mg/dL. Akumulasi askorbat di jaringan lain lebih besar 5-100 kali daripada di plasma yang terdapat pada korteks adrenal, medula adrenal, pituitari, sel darah putih, sel endotel, dan lain-lain.²⁹ Konsentrasi paling banyak terdapat pada hati, sedangkan konsentrasi terendah terdapat dalam otot dan sel darah merah. Total simpanan vitamin C dalam tubuh manusia mencapai 1.500 mg.³⁰

Menurut kategori *National Health And Nutrition Examination Survey* (NHANES) III, kadar vitamin C dalam serum atau plasma kurang dari 11,4 $\mu\text{mol/L}$ adalah defisiensi, 11,4 $\mu\text{mol/L}$ sampai 23 $\mu\text{mol/L}$ adalah rendah, sedangkan lebih dari 23 $\mu\text{mol/L}$ adalah adekuat.³²

Bioavailabilitas vitamin C tergantung dari jumlah dan cara pemberian yaitu secara oral atau diberikan secara intravena. Pemberian vitamin C secara oral sebanyak 15-100 mg bioavailabilitasnya sebesar 80%, sedangkan pemberian vitamin C secara oral sebanyak 1.250 mg bioavailabilitasnya kurang dari 50%.²⁷

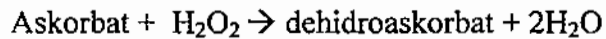
Konsumsi vitamin C sebanyak 100 mg per oral per hari dapat menghasilkan konsentrasi plasma sebesar 1,0 mg/dL.³⁰

2.6.4 Fungsi vitamin C sebagai antioksidan

Asam askorbat berperan sebagai pelindung awal sebelum oksidan pada cairan ekstrasel memulai inisiasi terutama terhadap membran sel.³⁰ ROS yang dapat direduksi oleh vitamin C adalah radikal hidroksil, radikal hidroperoksil, radikal superoksida, radikal alkoksil, dan radikal peroksil.²⁸

Reaksi-reaksi askorbat sebagai antioksidan :³⁰





Vitamin C dapat mereduksi peroksida lipid dengan dikatalisis oleh askorbat peroksidase menghasilkan dehidroaskorbat. Dehidroaskorbat dikembalikan menjadi askorbat oleh GSH dengan dikatalisis oleh dehidroaskorbat reduktase.¹⁰

Vitamin C juga dapat bereaksi dengan besi dan tembaga bentuk teroksidasi (Fe^{3+} dan Cu^{3+}) menghasilkan bentuk tereduksi (Fe^{2+} dan Cu^{2+}) dan radikal askorbil. Ion bentuk tereduksi tersebut kemudian dapat bereaksi dengan H_2O_2 membentuk ion teroksidasi kembali dan OH^- . Oleh sebab itu, vitamin C diduga dapat berperan sebagai pro oksidan.³⁰

2.6.5 Kebutuhan vitamin C

Angka Kecukupan Gizi (AKG) 2004 untuk vitamin C sama dengan *Recommended Dietary Allowances* (RDA) yaitu 90 mg untuk laki-laki dewasa dan 75 mg untuk perempuan dewasa.³³ *Upper limit* (UL) untuk usia lebih dari 18 tahun adalah 2000 mg.

Pada kondisi stres oksidatif yang sangat meningkat seperti pada luka bakar, kebutuhan vitamin C bagi tubuh meningkat sedangkan asupan menurun, sehingga dapat terjadi defisiensi vitamin C.²³ Pada kasus luka bakar, dosis pemberian vitamin C dianjurkan sebanyak lima sampai sepuluh kali RDA, sedangkan berdasarkan rekomendasi Demling dosis vitamin C adalah 2000 mg/hari baik secara enteral maupun parenteral.^{23,34}

Menurut Tanaka, pemberian vitamin C dosis tinggi untuk resusitasi pada kasus luka bakar bisa mencapai 66 mg/kgBB/jam selama 24 jam pertama pasca luka bakar. Penelitian ini dilakukan pada subyek usia lebih dari 16 tahun dengan luas luka bakar 63 ± 26 % yang masuk ke RS kurang dari dua jam. Hasil penelitian ini mendapatkan bahwa dosis tinggi vitamin C pada resusitasi dapat menurunkan kebutuhan resusitasi cairan, mengurangi udem, dan mengatasi gangguan mikrovaskular dibandingkan kelompok kontrol.³⁵

2.6.6 Bahan Makanan Sumber vitamin C

Kandungan askorbat dan asam dehidroaskorbat dalam bahan makanan yaitu 80-90% terdiri dari askorbat dan 10-20% terdiri dari asam dehidroaskorbat.²⁷

Askorbat banyak ditemukan di sayuran dan makanan yaitu semangka, kiwi, strawberi, lemon, jeruk, brokoli, bayam, tomat (tabel 2.2). Sumber vitamin C yang kurang baik adalah daging, unggas, telur, susu dan produknya. Beberapa jenis makanan kemasan telah mendapat fortifikasi vitamin C.²³

Tabel 2.2. Kandungan Vitamin C dalam Beberapa Bahan Makanan Sumber

Bahan Makanan Sumber	Kandungan vitamin C (mg)
Buah:	
• Strawberi (1 cangkir)	95
• Pepaya (1 cangkir, berupa potongan)	85
• Kiwi (1 buah sedang)	75
• Jeruk (1 buah sedang)	70
• Semangka (1 cangkir, berupa potongan)	15
Sayur:	
• Cabai, hijau atau merah	65
– Mentah (1/2 cangkir)	50
– Matang (1/2 cangkir)	25
• Brokoli, matang (1/2 cangkir)	15
• Tomat	35
– Mentah (1/2 cangkir)	30
– Kemasan kaleng (1/2 cangkir)	20
• Ubi jalar	25
– Panggang (1 buah sedang)	10
– Kemasan kaleng (1 cangkir)	15
• Bunga kol, mentah/ matang (1/2 cangkir)	10
• Kol/ kubis	15
– Mentah (1/2 cangkir)	10
– Matang (1/2 cangkir)	15

Sumber: Modern Nutrition³⁶

2.6.7 Defisiensi dan Toksisitas

Defisiensi vitamin C akan mengakibatkan *scurvy* yang menimbulkan gejala bila simpanan vitamin C dalam tubuh kurang dari 300 mg atau konsentrasi dalam plasma kurang dari 0,2 mg/dL. *Scurvy* terjadi akibat gagalnya sintesis hidroksiprolin dan hidroksilisin yang diperlukan untuk pembentukan kolagen. Gejala yang timbul antara lain perdarahan pada gusi, *petechie*, perdarahan sublingual, *echimosis*, dan purpura.³⁰

Konsumsi vitamin C lebih dari 2 gr perhari secara oral dapat menimbulkan nyeri abdominal dan diare. Selain itu penggunaan vitamin C berlebih dapat menyebabkan batu ginjal sebab dalam proses metabolisme vitamin C terbentuk oksalat yang sering menyebabkan pembentukan batu di ginjal.³⁰

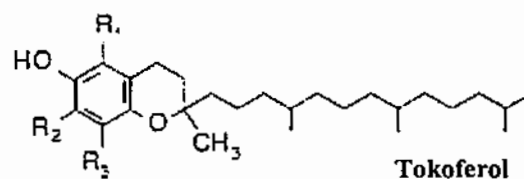
2.6.8 Penilaian status vitamin C

Penilaian status vitamin C dapat dilakukan dengan mengukur kadar dalam serum atau plasma, leukosit, limfosit, monosit, eritrosit, urin, mukosa bukal, dan saliva. Penilaian yang paling sensitif adalah pengukuran pada leukosit, limfosit, dan monosit, tetapi teknik pemeriksaan sulit sehingga jarang dilakukan. Pemeriksaan yang sering dilakukan adalah kadar vitamin C serum atau plasma.³²

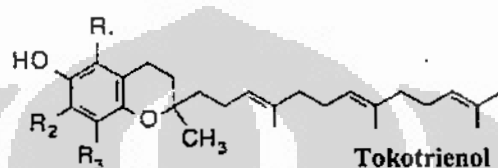
2.7 Vitamin E

2.7.1 Sifat biokimia

Secara alami terdapat delapan vitamer vitamin E yang semuanya memiliki cincin kromanol dan rantai fitil. Delapan vitamer tersebut dibagi dalam dua kelas yaitu tokoferol yang memiliki rantai 16 karbon jenuh dan tokotrienol yang memiliki rantai 16 karbon tidak jenuh. Setiap kelas mempunyai empat vitamer yaitu α -, β -, γ -, dan δ -. Perbedaan tiap vitamer terletak pada jumlah dan posisi metil pada cincin fenol di cincin kromanol, sedangkan perbedaan antara tokoferol dan tokotrienol terletak pada rantai fitil hidrofobik. Tokotrienol memiliki ikatan rangkap pada posisi 3', 7', dan 11', sedangkan tokoferol tidak memiliki ikatan rangkap (gambar 2.7).^{37,38}



R ₁	R ₂	
CH ₃	CH ₃	α-tokoferol
CH ₃	H	β-tokoferol
H	CH ₃	γ-tokoferol
H	H	δ-tokoferol



R ₁	R ₂	
CH ₃	CH ₃	α-tokotrienol
CH ₃	H	β-tokotrienol
H	CH ₃	γ-tokotrienol
H	H	δ-tokotrienol

Gambar 2.7. Struktur vitamin E

Sumber: Harper³⁹ (telah diolah kembali)

Hanya α-tokoferol yang memiliki aktivitas biologi dalam tubuh manusia.^{37,38} Istilah vitamin E digunakan untuk menggambarkan tokoferol dan derivatnya yang mempunyai aktivitas biologi seperti α-tokoferol.⁴⁰ Selain terdapat dalam bentuk alami (dikenal dengan d-α-tokoferol atau *RRR*-α-tokoferol) vitamin E juga terdapat dalam bentuk sintesis yang dikenal dengan all-rac-α-tokoferol atau d,l-α-tokoferol. Aktivitas biologi all-rac-α-tokoferol setengah dari *RRR*-α-tokoferol.^{37,40}

Tokoferol dan tokotrienol dalam bentuk murni berwarna kuning pucat, hampir tidak berbau, bening, akan berubah menjadi lebih gelap jika kontak dengan udara, dan mudah rusak oleh cahaya matahari. Reaksi oksidasi mudah terjadi bila kontak dengan cahaya, panas, suasana basa, dan beberapa komponen *trace* mineral. Oksidasi vitamin E dapat dicegah oleh asam askorbat.⁴⁰

2.7.2 Metabolisme

2.7.2.1 Absorpsi

Vitamin E bersama komponen lipid yang lain dan garam empedu membentuk misel dan diabsorpsi ke enterosit usus halus secara difusi pasif. Vitamin E kemudian bergabung dengan kilomikron dan disekresikan ke sirkulasi melalui pembuluh limfa. Jika terdapat ester tokoferol (α -tokoferol asetat atau suksinat), maka sebelum diabsorpsi akan dihidrolisis menjadi tokoferol bebas oleh enzim esterase pada proksimal usus halus.^{37,40}

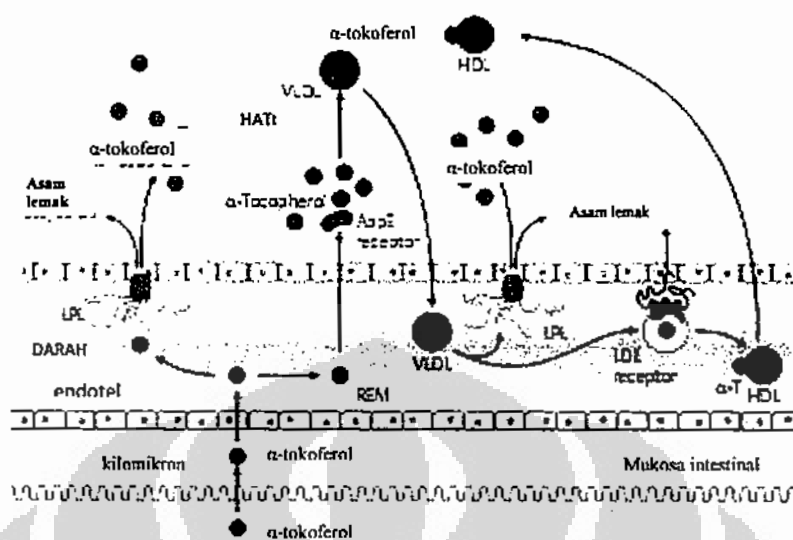
Jumlah vitamin E yang diabsorpsi diperkirakan separuh dari asupan dan sisanya dikeluarkan bersama feses.³⁷ Absorpsi vitamin E tidak ditentukan oleh keadaan defisiensi atau jumlah yang dikonsumsi. Meskipun asupan mencapai 100 kali lipat kebutuhan sehari, namun konsentrasi plasma hanya meningkat 2-4 kali.⁴⁰

Hal lain yang mempengaruhi absorpsi vitamin E adalah adanya *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) dan serat. PUFA akan meningkatkan kemampuan absorpsi vitamin E, sedangkan serat dapat menurunkan absorpsi vitamin E.⁴⁰

2.7.2.2 Transpor, distribusi, dan ekskresi

Dalam sirkulasi, trigliserida dalam kilomikron dihidrolisis oleh lipoprotein lipase di dinding pembuluh darah membentuk kilomikron remnan. Kilomikron remnan yang mengandung banyak vitamin E ditangkap oleh sel parenkim hati lalu disekresikan ke dalam plasma bersama *Very-low-density lipoprotein* (VLDL).⁴⁰

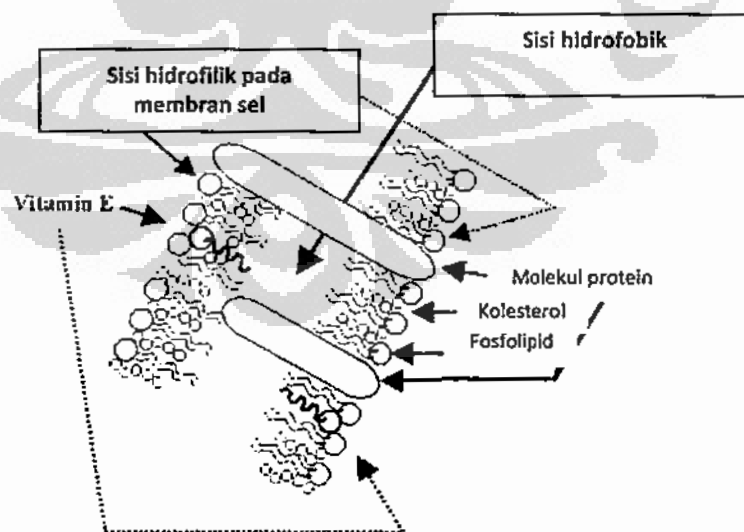
Vitamin E yang paling banyak disekresikan adalah α -tokoferol, sebab di dalam hati banyak terdapat *α -tokoferol transfer protein* (α -TTP). α -TTP berfungsi menstimulasi sekresi α -tokoferol ke sinusoid untuk bergabung dengan VLDL nascent. α -TTP juga berfungsi menangkap kembali α -tokoferol hasil dari pemecahan VLDL di sirkulasi (gambar 2.8).⁴⁰



Gambar 2.8. Absorpsi dan distribusi vitamin E

Sumber: Biesalski²⁹

Transfer vitamin E dari lipoprotein ke membran sel difasilitasi oleh fosfolipid transfer protein. Di dalam sitoplasma sel, vitamin E berikatan dengan *tocopherol-binding protein* dan berada dekat dengan membran terutama membran plasma, mitokondria, dan mikrosom. Posisi cincin kromanol vitamin E berada paling dekat dengan komponen fosfat dari fosfolipid membran (gambar 2.10).³⁸



Gambar 2.9. Posisi tokoferol dalam membran sel

Sumber: http://www.nutrition4health.org/nohaneews/Images/Vit_E_Working.jpg⁴¹

Tokoferol dan tokotrienol yang berada di sirkulasi akan diekskresikan melalui urin dengan cara memotong rantai fitil hidrofobik sehingga mengubah sifat larut lemak vitamin E.³⁷

2.7.3 Konsentrasi dalam plasma

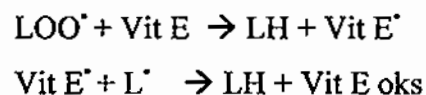
Tokoferol dalam plasma lebih banyak berupa α -tokoferol. Konsentrasi γ -tokoferol sekitar sepersepuluh α -tokoferol, sedangkan δ -tokoferol jauh lebih sedikit. Hal ini berhubungan dengan α -TTP. Konsentrasi α -tokoferol dalam plasma berkisar 20-30 $\mu\text{mol/L}$ atau sekitar 5-8 mmol/mol kolesterol atau sekitar 5-20 $\mu\text{g/mL}$ pada orang dewasa.³⁸

α -tokoferol dapat ditemukan dalam plasma setelah mengonsumsi vitamin E sekitar 20 mg/hari. Suplementasi α -tokoferol sebanyak 400 mg/hari akan menghasilkan konsentrasi di plasma sebesar 40-50 $\mu\text{mol/L}$. Tokoferol diangkut oleh lipoprotein, sehingga jika kadar kolesterol plasma meningkat maka kadar tokoferol juga meningkat.³⁷

Menurut kategori NHANES III, kadar vitamin E dalam serum atau plasma kurang dari 11,6 $\mu\text{mol/L}$ adalah defisiensi, 11,6 $\mu\text{mol/L}$ sampai 20 $\mu\text{mol/L}$ adalah rendah, sedangkan lebih dari 20 $\mu\text{mol/L}$ adalah adekuat.³²

2.7.4 Fungsi vitamin E

Fungsi utama vitamin E adalah menjaga integritas membran sel yaitu dengan mencegah oksidasi PUFA yang terdapat pada fosfolipid membran, sehingga dikatakan vitamin E berfungsi sebagai antioksidan karena dapat memutus rantai radikal bebas yang terjadi pada membran sel.^{37,38} Vitamin E bekerja pada tahap terminasi dalam proses peroksidasi lipid dalam dua reaksi berurutan untuk membentuk senyawa teroksidasi yang stabil:



Proses α -tokoferol dalam meredam radikal peroksil lipid (LOO^\bullet) yaitu dengan mendonorkan atom hidrogen pada gugus 6-hidroksil dalam cincin kromanol, sehingga dapat meredam radikal bebas dan membentuk radikal

tokoferol. Reaksi tokoferol terhadap $\text{LOO}\cdot$ cenderung lebih cepat daripada reaksi $\text{LOO}\cdot$ dengan PUFA dan radikal tokoferol yang terbentuk bersifat kurang reaktif.³⁶ Radikal tokoferol diubah kembali menjadi α -tokoferol oleh asam askorbat, menghasilkan dehidroaskorbat.¹⁰

2.7.5 Kebutuhan vitamin E

AKG dan RDA untuk laki-laki dan perempuan dewasa serta wanita hamil adalah 15 mg α -tokoferol. Selama masa menyusui adalah 19 mg α -tokoferol. Rekomendasi untuk anak-anak usia 1-3 tahun adalah 6 mg, 4-8 tahun adalah 7 mg, 9-13 tahun adalah 11 mg, dan usia 14-18 tahun adalah 15 mg.³⁸ Pemberian vitamin E pada kasus luka bakar berdasarkan rekomendasi Demling adalah 400-1000 mg.³⁴

Institute of medicine (IOM) tahun 2000 merekomendasikan *upper limit* (UL) untuk vitamin E adalah 1000 mg/hari berdasarkan risiko perdarahan yang dapat timbul akibat mengonsumsi vitamin E dosis tinggi.³⁷

2.7.6 Konversi dan potensi biologi vitamin E

Aktivitas biologi vitamin E dinyatakan dalam unit atau mg. Menurut *The Food and Nutrition Board* (FNB), satu IU d,l, α -tokoferol atau esternya = 0,45 mg d- α -tokoferol dan satu IU d- α -tokoferol atau esternya = 0,67 mg d- α -tokoferol. Suplemen vitamin E biasanya berupa ester seperti α -tokoferol asetat, suksinat atau nikotinamid. Hal ini bertujuan untuk mencegah oksidasi vitamin E dan memperpanjang masa ketahanan vitamin E.⁴²

2.7.7 Status vitamin E

Penilaian status vitamin E dapat dilakukan dengan mengukur kadar tokoferol dalam serum atau plasma, eritrosit, limfosit, platelet, lipoprotein jaringan lemak ataupun sel-sel mukosa bukal. Indikator paling sensitif adalah pengukuran kadar vitamin E pada eritrosit dan trombosit, tetapi jarang dilakukan karena prosedur pemeriksaannya sulit.³²

Pemeriksaan yang sering dilakukan adalah pengukuran kadar pada tokoferol dalam serum atau plasma dengan metode pemeriksaan *high performance liquid chromatography* (HPLC).³²

2.7.8 Bahan Makanan Sumber vitamin E

Bahan makanan sumber vitamin E paling banyak terdapat pada ekstrak minyak sayur seperti kanola, zaitun, bunga matahari, *safflower*, dan *cottonseed*.^{37,38} Selain itu juga terdapat pada sereal, kacang-kacangan, biji-bijian, ikan, daging, telur, susu dan produknya. Pada beberapa makanan kemasan juga diberi fortifikasi vitamin E.⁴⁰

2.7.9 Defisiensi dan Toksisitas

Gejala defisiensi pada manusia biasanya tampak bila kadar vitamin E plasma atau serum kurang dari 12 $\mu\text{mol/L}$ atau kurang dari 5 $\mu\text{g/mL}$ atau kurang dari 0,8 mg/g.³⁸ Gejala berupa anemia hemolisis terjadi karena pemendekan usia sel darah merah dan kecenderungan terjadi hemolisis.³⁷ Selain itu terdapat gejala lain yaitu miopati, akumulasi pigmen seroid, gangguan fungsi saraf seperti ataksia serebral, dan menurunnya fungsi koordinasi ekstremitas.³⁸ Tokoferol terakumulasi dalam sel lemak dan mobilisasinya lambat sehingga tidak cukup untuk mencegah defisiensi vitamin E.³⁷

Defisiensi jarang terjadi pada orang dewasa. Jika terjadi, biasanya akibat defisiensi lipoprotein atau sindroma malabsorpsi lemak. Pada beberapa kasus defisiensi vitamin E adalah akibat tidak terdapat α -TTP yang bersifat familial.³⁷

Di dalam tubuh tidak terdapat simpanan vitamin E sehingga relatif tidak toksik. Gejala yang umum terjadi apabila mengkonsumsi vitamin E dosis tinggi lebih dari 1000 mg/hari adalah peningkatan waktu koagulasi darah sehingga risiko perdarahan meningkat, gangguan gastrointestinal seperti diare, mual, dan flatulen, kelelahan, penglihatan ganda.^{37,38,43} Vitamin E juga dapat menghambat absorpsi β -karoten dan konversi menjadi retinol di intestinal. Selain itu, vitamin E juga dapat menghambat absorpsi vitamin K.³⁸

2.8 GSH

γ -glutamilsisteinglisin atau glutation (GSH) merupakan molekul yang relatif kecil dan tersebar di seluruh tubuh.⁴⁴

GSH tersusun dari tripeptida yaitu glutamat, sistein, dan glisin. Sintesis GSH terjadi di sitosol dan melibatkan dua reaksi. Pertama yaitu pembentukan ikatan peptida antara gugus γ -karboksil pada glutamat dengan gugus amino pada sistein yang dikatalisis oleh enzim γ -glutamyl sistein sintetase membentuk γ -glutamilsistein. Kedua yaitu pembentukan ikatan peptida antara gugus karboksil pada γ -glutamilsistein dengan gugus amino pada glisin yang dikatalisis oleh glutation sintetase, membentuk GSH.^{44,45}

Terminal karboksil pada glisin yang membentuk GSH berfungsi melindungi pemecahan GSH oleh γ -glutamilsiklotransferase intraseluler. Karena GSH terlindungi dari degradasi intrasel, maka GSH hanya dapat terdegradasi ekstrasel oleh γ -glutamyltranspeptidase.⁴⁵

Di dalam tubuh, GSH terdapat di hati, ginjal, dan eritrosit dengan kadar yang bervariasi (tabel 2.3)⁴⁴

Tabel 2.3. Kadar GSH pada jaringan manusia

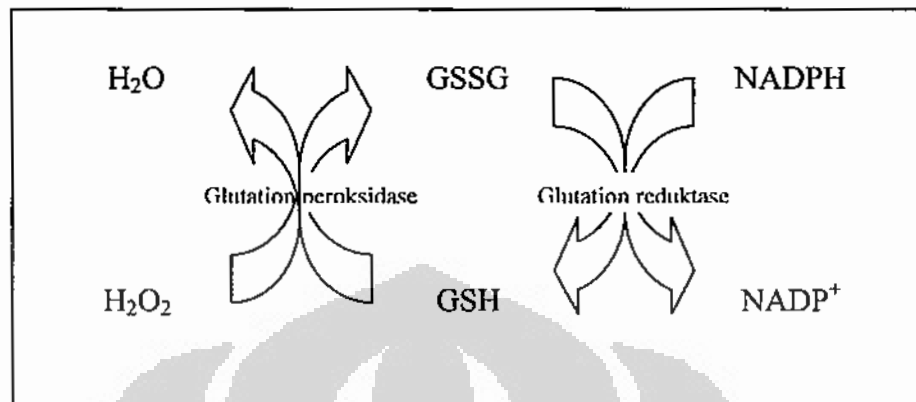
Jaringan tubuh	Konsentrasi GSH
Hati	4 mmol/g berat basah
Ginjal	2 μ mol/g
Lensa	6-10 mM
Eritrosit	240 μ g.ml darah
Whole blood	~1 mM
Plasma	1-3 μ M
Alveolar lining fluid	40-200 μ M

Sumber: Halliwell⁴⁴

GSH plasma darah sebagian besar berasal dari hati karena hati memiliki aktivitas transpeptidase yang rendah. Konsentrasi GSH plasma rendah karena mengalami pergantian yang cepat dan lebih dari 80% GSH dipindahkan ke ginjal.⁴⁵

Sebagai antioksidan, GSH mereduksi hidrogen peroksida dengan dikatalisis oleh glutation peroksidase menyebabkan GSH teroksidasi menjadi

GSSG. GSSG akan direduksi kembali menjadi GSH oleh glutathion reduktase dengan menggunakan NADPH sebagai donor elektron (gambar 2.10).⁴⁵



Gambar 2.10. Mekanisme kerja GSH mereduksi H₂O₂

Selain sebagai antioksidan, GSH juga berfungsi mengeluarkan xenobiotik,²¹ sebagai penyimpan sistein dan transpor asam amino melalui siklus γ -glutamil.⁴⁶

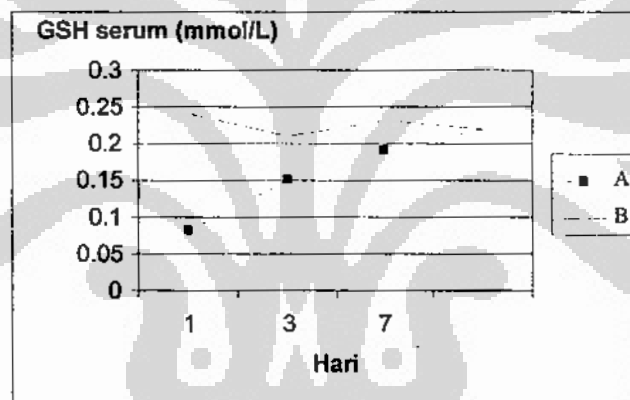
Stres oksidatif dapat menurunkan kadar GSH dan dapat menurunkan kemampuan sel untuk mereduksi GSSG menjadi GSH. Hal ini dibuktikan oleh penelitian Jawad dkk pada 180 kasus luka bakar 15-40% yaitu kadar GSH serum menurun signifikan pada hari ke-10 pada kasus luka bakar dibandingkan kelompok kontrol yaitu subyek yang sehat.⁹ Selain itu, perubahan metabolisme pada kasus luka bakar berat dapat menurunkan ketersediaan asam amino pembentuk GSH.⁴⁵

2.9 Pengaruh vitamin C dan vitamin E terhadap kadar GSH pada kasus luka bakar

Vitamin C dan vitamin E merupakan antioksidan yang bisa didapatkan dari luar tubuh. Pada kondisi stres metabolisme seperti pada luka bakar, kadar vitamin C dan E didapatkan menurun.^{8,43}

Penelitian Maghit didapatkan penurunan vitamin C dan vitamin E dalam darah secara bermakna sejak hari pertama pasca luka bakar sampai hari terakhir pengamatan (hari ke lima).⁸ Penelitian Al-Kaisy dkk pada 13 kasus luka bakar 10-80% terhadap kadar GSH yang diberikan povidone iodine topikal, vitamin C 500

mg, dan vitamin E 400 mg didapatkan hasil kadar GSH meningkat 0.098 ± 0.04 mmol/L ($p < 0,05$) setelah hari kelima dibandingkan dengan hari pertama yaitu 0.05 ± 0.03 mmol/L.¹¹ Penelitian serupa dilakukan oleh Al-Jawad dkk terhadap 30 orang kasus luka bakar 14-40% dengan memberikan vitamin E 400 mg per hari dan vitamin C 500 mg perhari secara oral (kelompok A). Sebagai kelompok kontrol (B) adalah 30 orang sehat. Hasil penelitian ini didapatkan bahwa GSH hari pertama ($0,08 \pm 0,01$ mmol/L) sebelum perlakuan pada kasus luka bakar menurun signifikan dibandingkan orang sehat, dan terjadi peningkatan GSH secara signifikan pada hari ketiga ($0,15 \pm 0,04$ mmol/L), hari ke tujuh ($0,19 \pm 0,03$ mmol/L), dan hari terakhir perawatan dibandingkan hari pertama sebelum perlakuan (gambar 2.11).⁹



Gambar 2.11. Kadar GSH serum

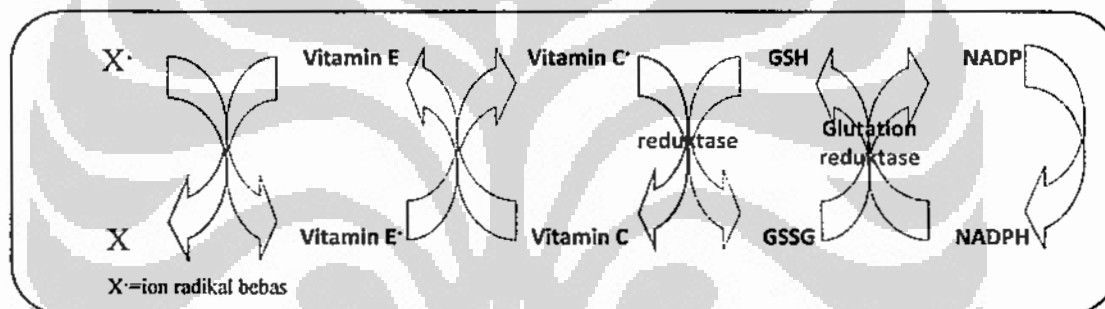
Sumber : Jawad⁹ (telah diolah kembali)

Penelitian Tanaka dkk mendapatkan bahwa pemberian vitamin C secara kontinyu dapat menurunkan peroksidasi lipid, meningkatkan permeabilitas vaskuler, sehingga dapat mengurangi udem dan menurunkan kebutuhan cairan resusitasi. Penelitian ini dibuktikan dengan memberikan vitamin C 66 mg/kgBB/jam dalam 24 jam pertama pasca terjadi luka bakar. Subyek penelitian adalah 37 kasus luka bakar lebih dari 30% (19 subyek sebagai kelompok perlakuan, 18 subyek sebagai kelompok kontrol), usia lebih dari 16 tahun, dan masuk RS kurang dari dua jam setelah kejadian luka bakar. Resusitasi cairan diberikan berdasarkan formula Parkland. Hasilnya, kebutuhan resusitasi cairan dalam 24 jam pertama pada kelompok perlakuan lebih rendah secara signifikan,

retensi cairan berkurang, dan serum vitamin C meningkat progresif dalam 12 jam pertama.³⁵

Vitamin E dan vitamin C bekerja sinergis dalam menghambat oksidasi. Vitamin E dapat mengalami regenerasi oleh GSH dan vitamin C yaitu radikal vitamin E yang kurang reaktif akan dieliminasi oleh askorbat menghasilkan askorbat bentuk tereduksi (dehidroaskorbat atau monodehidroaskorbat) dan vitamin E.^{10,28}

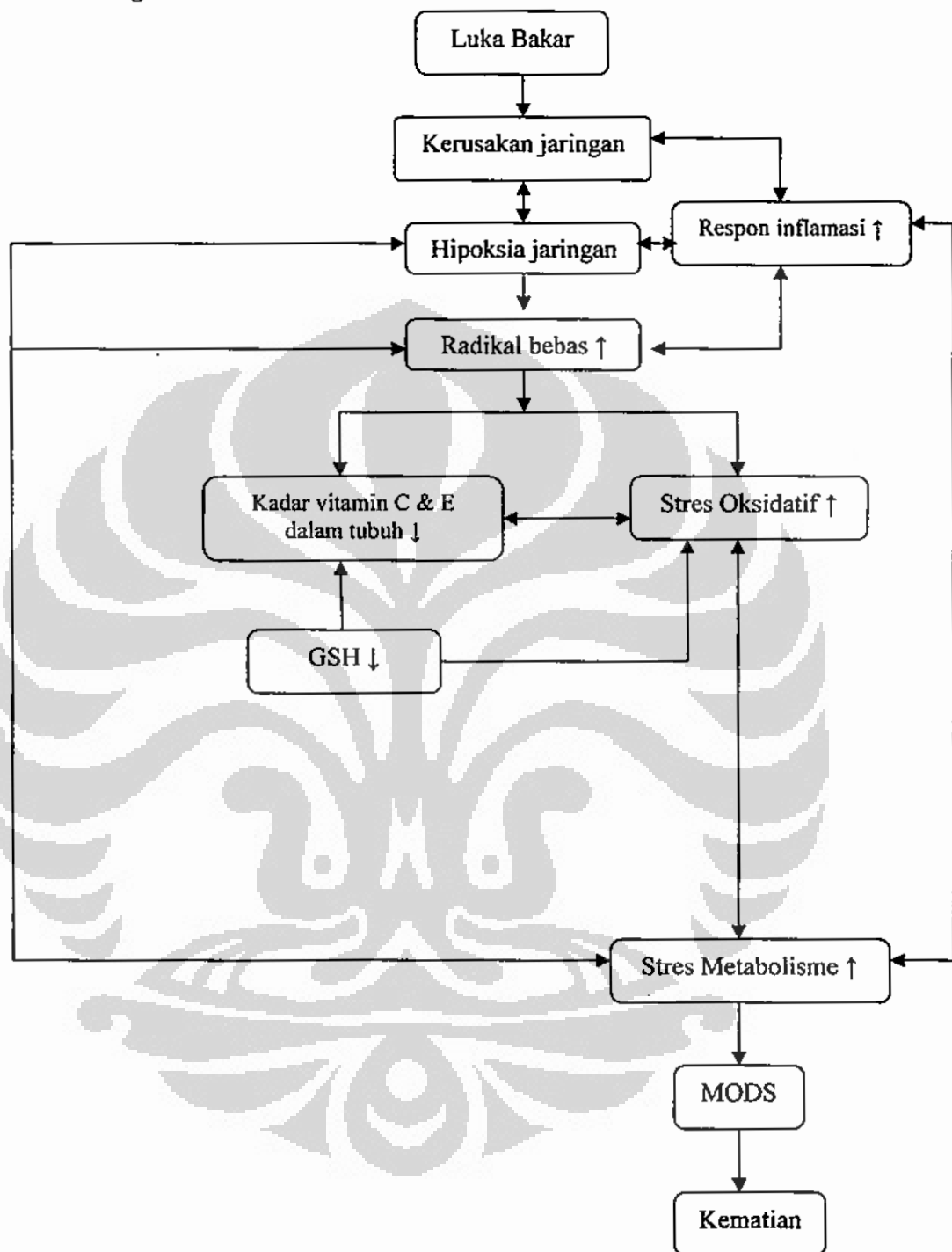
Monodehidroaskorbat secara spontan dapat menjadi askorbat dan dehidroaskorbat atau direduksi kembali oleh NAD(P)H menjadi askorbat dan NAD(P). Dehidroaskorbat dapat mengalami reduksi dengan menggunakan GSH menghasilkan GSSG dan askorbat.^{10,28}



Gambar 2.12. Regenerasi vitamin C, vitamin E, dan GSH

Dosis letal vitamin C belum diketahui, namun pemberian vitamin C sebesar 5 gr/kgBB/hari terhadap orang sehat dianggap aman dan pemberian 33 mg/kgBB/jam selama tujuh hari tidak menimbulkan gangguan hematologi, hepar, atau ginjal.³⁵

2.10 Kerangka Teori

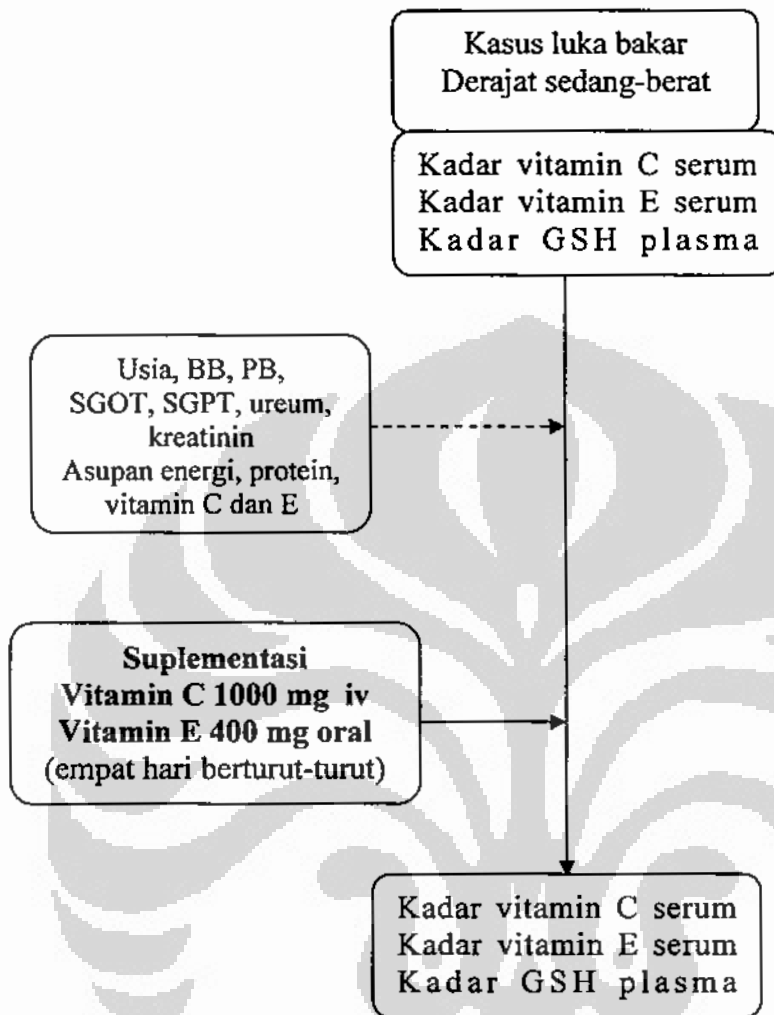


Keterangan :

GSH : Glutation

MODS: *Multiple organ disfunctions*

2.11 Kerangka Konsep



Keterangan:

- = dicari hubungannya
- - - - - = tidak dicari hubungannya
- = diteliti

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan rancangan studi *one group pre-post test* untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin C 1000 mg iv dan vitamin E 400 mg oral perhari selama empat hari berturut-turut pada kasus luka bakar sedang berat terhadap kadar GSH plasma.

3.2 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di UPKLB RSCM Jakarta. Pengumpulan data dilakukan mulai minggu terakhir bulan Juli 2009 sampai bulan September 2009, dilanjutkan pengolahan dan analisis data sampai bulan November 2009.

3.3 Bahan Penelitian

3.3.1 Populasi dan Sampel

Populasi target adalah seluruh kasus luka bakar sedang berat usia 18-59 tahun. Populasi terjangkau adalah seluruh kasus luka bakar sedang berat usia 18-59 tahun yang dirawat di UPKLB RSCM Jakarta dari bulan Juli sampai bulan September 2009.

Subyek penelitian diambil dari populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian dan secara tertulis menyatakan persetujuannya untuk mengikuti penelitian ini dengan menandatangani formulir persetujuan.

3.3.2 Kriteria sampel

Kriteria penerimaan

1. Laki-laki dan perempuan berusia 18 – 59 tahun.
2. Secara klinis dinyatakan menderita luka bakar sedang sampai berat < 60%.
3. Penderita masuk RS dalam waktu ≤ 24 jam setelah luka bakar terjadi.
4. Penderita telah mendapatkan resusitasi adekuat.
5. Bersedia secara tertulis untuk mengikuti penelitian ini dan menandatangani formulir persetujuan, yang dapat diwakilkan oleh keluarga terdekat pasien.

Kriteria penolakan

1. Perempuan hamil
2. Tidak kooperatif
3. Menerima suplementasi antioksidan lain selama masa perlakuan

Kriteria pengeluaran

Apabila subyek meninggal dunia selama penelitian atau menolak melanjutkan penelitian.

3.3.4 Besar Sampel

Besar sampel ditentukan dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:⁴⁷

$$n = \left[\frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})s}{(x_1 - x_2)} \right]^2$$

Dengan ketentuan:

- n : besar sampel minimal
- Z_{α} : deviasi relatif yang menggambarkan derajat kepercayaan kesalahan tipe I dalam pengambilan kesimpulan statistik ($\alpha = 0,05$ maka $Z_{\alpha} = 1,96$)
- Z_{β} : deviasi relatif yang menggambarkan tingkat kekuatan uji statistik dalam menetapkan kemaknaan ($\beta = 0,20$ maka $Z_{\beta} = 0,842$)
- s : simpang baku kadar GSH plasma pada kasus luka bakar (0,03 mmol/L).⁹
- $x_1 - x_2$: perbedaan bermakna nilai rata-rata kadar GSH plasma kelompok perlakuan dan kelompok kontrol yang secara klinis bermakna (0,024 mmol/L).

Dari perhitungan besar sampel di atas diperoleh besar sampel adalah 12.

3.4 Instrumen Pengumpulan Data

3.4.1 Formulir

Formulir A1 : Lembar informasi penelitian.

Formulir A2 : Lembar persetujuan responden penelitian.

Formulir A3 : Formulir seleksi berdasarkan kriteria penerimaan dan penolakan.

Formulir A4 : Formulir identitas responden.

Formulir B : Formulir data antropometri.

Formulir C : Formulir data laboratorium yaitu SGOT, SGPT, ureum, kreatinin, kadar vitamin C serum, kadar vitamin E serum dan GSH plasma.

Formulir D : Formulir penilaian asupan.

3.4.2 Peralatan

- Timbangan tidur (*bed scale*) digital merk Seca 984 dengan ketelitian 0,1 kg.
- Alat ukur panjang badan merk Seca modifikasi 222 dengan ketelitian 0,1 cm.
- Sarung tangan
- *Torniquet* dan kapas alkohol 70%.
- *Vacuject* dan *dysposable syringe needle* 5 mL.
- *Vacutainer plain*.
- *Vacutainer* berisi heparin.
- Kotak untuk menyimpan dan transfer spesimen ke laboratorium.
- Sentrifugator dan tabung sentrifugator.
- Spektrofotometer.
- *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

3.4.3 Spesimen

Darah sebanyak 5 mL, dibagi untuk dua tabung yaitu 3 mL dalam *vacutainer plain* untuk pemeriksaan kadar vitamin C serum dan vitamin E serum, dan 2 mL dalam *vacutainer* berisi heparin untuk pemeriksaan GSH plasma sebelum dan sesudah perlakuan.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Cara memperoleh subyek penelitian

Sampel penelitian didapatkan dari pasien yang dirawat di UPKLB RSCM Jakarta. Seleksi terhadap populasi dengan menggunakan formulir skrining. Jika memenuhi kriteria penelitian dan bersedia menandatangani formulir persetujuan, diikutsertakan dalam penelitian.

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *consecutive sampling*, yaitu populasi yang memenuhi syarat penelitian diambil menjadi subyek penelitian, sehingga tercapai jumlah sampel yang diperlukan sesuai dengan perhitungan.

3.5.2 Pelaksanaan penelitian

3.5.2.1 Wawancara dan pencatatan rekam medik

Wawancara dilakukan pada penderita atau keluarga untuk memperoleh data usia dan waktu MRS. Data karakteristik berdasarkan hasil laboratorium SGOT, SGPT, ureum, dan kreatinin diperoleh dari data rekam medik.

3.5.2.2 Pengukuran Antropometri

Pengukuran antropometri yang dilakukan meliputi berat badan (BB) dan panjang badan (PB). Setiap pengukuran dilakukan dua kali dan data diambil dari rerata hasil pengukuran tersebut. Hasil pengukuran hari pertama digunakan untuk menentukan Indeks Masa Tubuh (IMT) dan menghitung kebutuhan asupan energi dan protein, sedangkan hasil pengukuran BB hari ke lima digunakan untuk menghitung kebutuhan asupan energi dan protein.

- Prosedur pengukuran BB

Pengukuran BB dilakukan pada hari pertama dan hari ke lima. Sebelum dilakukan penimbangan BB pasien, troli dipasang pada masing-masing roda tempat tidur untuk mendapatkan berat tempat tidur. Kemudian dalam posisi yang sama, skala timbangan harus pada angka 0,0 dan pasien dengan pakaian seringan mungkin ditimbang di atas tempat tidur. Angka yang tertera di layar menunjukkan berat badan pasien sebenarnya.

- Prosedur pengukuran PB

Pengukuran PB dilakukan pada hari pertama dengan cara penderita ditidurkan di tempat tidur dengan alas rata dan posisi datar. Pengukuran dengan cara meletakkan batas atas alat ukur pada puncak kepala dan batas bawah pada telapak kaki dalam keadaan tegak.

3.5.2.3 Pemberian suplementasi

Subyek penelitian diberikan suplementasi vitamin C 1000 mg berupa asam askorbat 1000 mg dalam kemasan ampul dan vitamin E 400 mg berupa kapsul lunak yang berisi d- α -tokoferol sebanyak 600 IU setara dengan 400 mg α -tokoferol, selama empat hari berturut-turut. Suplementasi vitamin C diberikan secara bolus *intra vena* dan vitamin E per oral atau enteral. Suplementasi diberikan pada pagi hari setelah makan pagi dan sebelum dilakukan perawatan luka.

3.5.2.4 Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan darah dilakukan sebanyak dua kali, yaitu pada hari pertama dan ke lima sebelum perawatan luka. Pengambilan darah dilakukan di daerah *fossa cubiti* atau *fossa inguinal*. Pemeriksaan kadar GSH plasma menggunakan metode Ellman,⁴⁹ vitamin C dilakukan dengan metode fotometri, sedangkan untuk pemeriksaan kadar vitamin E serum dilakukan dengan metode kromatograf (lampiran 9,10, dan 11).⁵⁰

3.5.2.4 Pemeriksaan asupan energi, vitamin C dan E

Penilaian asupan energi, protein, vitamin C dan E diperoleh dengan menggunakan metode *food record* selama empat hari berturut-turut kemudian dianalisis dengan menggunakan program *software nutrisurvey 2005*.

Pengukuran dengan metode *food record* dilakukan oleh dietisien. Asupan makanan langsung dicatat segera setelah dikonsumsi oleh subyek dalam formulir penilaian asupan (lampiran 8). Program *software nutrisurvey 2005* digunakan untuk menganalisis kandungan nutrisi asupan makanan.

3.6 Variabel yang digunakan

3.6.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian vitamin C iv dan vitamin E oral.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar GSH plasma.

3.7 Manajemen Data

3.7.1 Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari seluruh pemeriksaan (wawancara, pemeriksaan fisik, pemeriksaan antropometri, dan laboratorium) dikumpulkan, diedit, dan dikoding, kemudian dimasukkan ke dalam komputer dan diolah dengan menggunakan perangkat lunak *Statistical Program for Social Science (SPSS) for Windows* versi 11.5.

3.7.2 Analisis data

Data yang ada ditabulasi dan diolah secara statistik dengan menggunakan program lunak *Statistical Program for Social Science (SPSS) for Windows* versi 11.5.

Analisis normalitas data dilakukan dengan uji Saphiro-Wilk untuk menentukan distribusi data. Variabel IMT, ureum, kreatinin, asupan energi hari ke empat, asupan protein hari ke empat, kadar GSH sebelum perlakuan, dan perubahan GSH menunjukkan distribusi normal, karena itu disajikan dalam nilai rerata dan simpang baku; variabel usia, SGOT, SGPT, MRS, asupan energi hari pertama, asupan protein hari pertama asupan vitamin C, asupan vitamin E, kadar vitamin C, kadar vitamin E, dan kadar GSH sesudah perlakuan menunjukkan data tidak berdistribusi normal sehingga digunakan nilai median dan rentang minimum maksimum.

Uji statistik yang digunakan adalah

- Untuk menganalisis data hasil sebelum dan sesudah perlakuan yang berdistribusi normal dilakukan uji t berpasangan.

- Untuk menganalisis data hasil sebelum dan sesudah perlakuan yang tidak berdistribusi normal dilakukan uji Wilcoxon.
- Untuk menganalisis data perubahan kadar sebelum dan sesudah perlakuan yang berdistribusi normal dilakukan uji t.
- Untuk menganalisis data perubahan kadar sebelum dan sesudah perlakuan yang tidak berdistribusi normal dilakukan uji Mann Whitney.
- Batas kemaknaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebesar 5% dengan ketentuan:

Bermakna : bila $p < 0,05$

Tidak bermakna : bila $p \geq 0,05$

3.7.3 Penyajian Data

Penyajian data disajikan dalam bentuk tekstular, tabular, dan grafikal, serta disajikan dalam bentuk tesis dan diuji di hadapan para penguji.

3.8 Batasan Operasional

1. Subyek Penelitian

Definisi : Subyek penelitian adalah kasus luka bakar sedang-berat yang dirawat di UPKLB RSCM Jakarta, dan memenuhi kriteria penelitian.

Alat ukur : Wawancara, rekam medik.

2. Usia

Definisi : Usia ditentukan berdasarkan tanggal lahir yang tertera pada kartu tanda penduduk (KTP).

Alat ukur : KTP

Cara ukur : Berdasarkan hari ulang tahun terakhir.

Hasil ukur : Dalam satuan tahun

3. Hasil laboratorium

Definisi : Hasil laboratorium SGOT, SGPT, ureum, dan kreatinin pada hari pertama perawatan subyek penelitian.

Alat ukur : Rekam medik

Hasil ukur : SGOT dan SGPT dalam satuan U/L, ureum dan kreatinin dalam satuan mg/dL.

4. Kriteria luka bakar

Definisi : Kriteria luka bakar sedang atau berat, dinilai berdasarkan luas dan derajat luka bakar, sesuai ketentuan *American Burn Association (ABA)* tahun 2000. Luas luka bakar dihitung dengan metode "rule of nine" dari Wallace, sedangkan kedalaman luka bakar dinilai dengan membagi menjadi luka bakar derajat 1, 2 dan 3.¹²

Alat ukur : sesuai ketentuan ABA

Cara ukur : Luka bakar berat :

- Luka bakar derajat dua dan tiga, dengan luas luka bakar lebih dari 10% luas permukaan tubuh atau *total body surface area (TBSA)*, pada pasien dengan usia di bawah 10 tahun atau lebih dari 50 tahun.
- Luka bakar derajat dua dan tiga, dengan luas luka bakar lebih dari 20% TBSA, pada semua usia.
- Luka bakar derajat tiga lebih dari 5%, pada semua usia.
- Luka bakar derajat dua dan tiga yang mempunyai predileksi pada muka, tangan, kaki, genitalia, perineum dan sendi yang penting.
- Luka bakar listrik
- Luka bakar kimiawi yang menyebabkan gangguan fungsi atau gangguan kosmetik.
- Trauma inhalasi
- Adanya penyulit khusus, yang membutuhkan manajemen terapi yang baik.
- Kombinasi antara luka bakar mekanik dan termal, yang mempunyai resiko perburukan.

Luka bakar sedang :

- Luka bakar dengan luas 15-25% pada dewasa, dengan luas luka bakar derajat tiga kurang dari 10%.

- Luas luka bakar dengan luas 10-20% pada anak kurang dari 10 tahun atau dewasa > 40 tahun, dengan luas luka bakar derajat tiga kurang dari 10%.
- Luas luka bakar dengan derajat tiga kurang dari 10% pada anak dan dewasa yang tidak mengenai muka, tangan, kaki, dan perineum.

Hasil ukur : Luka bakar sedang dan berat

5. Status gizi

Definisi : Status gizi diketahui berdasarkan Indeks Massa Tubuh (IMT) subyek penelitian.

Alat ukur : *Bed scale* dan alat pengukur tinggi badan merk Secca.

Cara ukur : IMT dihitung dengan cara membagi BB dalam satuan kilogram (kg) dengan TB dalam satuan meter kuadrat.

Hasil ukur : Untuk menetapkan status gizi digunakan kriteria WHO untuk Asia Pasifik.⁴⁸

Tabel 3.1. Klasifikasi Indeks Massa Tubuh (IMT) Untuk Asia Pasifik

IMT	Klasifikasi
<18,5	Berat badan kurang
18,5-22,9	Normal
≥ 23	Berat badan lebih

Sumber : WHO/IASO/IOTF.⁴⁸

6. Jumlah asupan energi

Definisi : Asupan energi ditentukan berdasarkan jumlah energi dari nutrisi yang dapat diterima oleh subyek penelitian dan dibandingkan dengan kebutuhan energinya.

Alat ukur : Jumlah asupan energi dinilai dengan metode *food record* dan dihitung dengan menggunakan program *software nutrisurvey*.

Cara ukur : Pemenuhan kebutuhan energi menggunakan persamaan *Harris-Benedict* dikalikan dengan faktor stres sesuai dengan luas luka bakar dan dikalikan dengan aktifitas fisik.²⁵

$$* \text{ Laki-laki} = 66,5 + (13,7 \times \text{BB}) + (5 \times \text{TB}) - (6,8 \times \text{umur})$$

$$* \text{ Perempuan} = 655 + (9,6 \times \text{BB}) + (1,8 \times \text{TB}) - (4,7 \times \text{umur})$$

Faktor stres:²³

- Luka bakar 10%	1,25
- Luka bakar 20%	1,50
- Luka bakar 30%	1,70
- Luka bakar 40%	1,85
- Luka bakar 50%	2,00
- Luka bakar \geq 60%	2,10

Faktor aktivitas:²³

- Tirah baring/duduk	20%
- Aktivitas ringan	30%
- Aktivitas sedang	40-50%
- Aktivitas berat	75%

Hasil ukur : Dalam satuan kilokalori (kcal).

7. Jumlah asupan protein

Definisi : Asupan protein ditentukan berdasarkan jumlah energi dari nutrisi yang dapat diterima oleh subyek penelitian dan dibandingkan dengan kebutuhan protein dan energi.

Cara ukur : Jumlah asupan protein dinilai dengan metode *food record* dan dihitung dengan menggunakan program *software nutrisurvey*.

Hasil ukur : Jumlah asupan protein dinilai berdasarkan persentase (%) terhadap kebutuhan energi total :

Tabel 3.2. Interpretasi asupan protein terhadap kebutuhan kalori total

Asupan	Hasil penilaian	Interpretasi
Protein	< 10% KET	Kurang
	10-20% KET	Cukup
	>20% KET	Lebih

Sumber : Kudsk⁵⁰

8. Jumlah asupan vitamin C

Definisi : Asupan vitamin C didapatkan dari makanan sumber dan suplementasi.

Cara ukur : Jumlah asupan vitamin C dinilai dengan metode *food record* dan dihitung dengan menggunakan program *software nutrisurvey*.

Hasil ukur : Jumlah asupan dalam satuan mg dihitung per kebutuhan vitamin E berdasarkan rekomendasi Demling yaitu 2000 mg per hari.³⁴

9. Jumlah asupan vitamin E

Definisi : Asupan vitamin E didapatkan dari makanan sumber dan suplementasi.

Cara ukur : Jumlah asupan vitamin E dinilai dengan metode *food record* dan dihitung dengan menggunakan program *software nutrisurvey*.

Hasil ukur : Jumlah asupan dalam satuan mg dihitung per kebutuhan vitamin E berdasarkan rekomendasi Demling yaitu 400 mg per hari.³⁴

10. Kadar vitamin C serum

Definisi : Nilai yang didapatkan dari pemeriksaan kadar vitamin C serum sebelum dan sesudah perlakuan.

Alat ukur : Metode fotometri

Cara ukur : Sampel darah diambil pada hari pertama dan hari ke lima sebelum perawatan luka.

Hasil ukur : Kadar vitamin C diklasifikasikan sesuai NHANES III:³²

- < 11,4 $\mu\text{mol/L}$: defisiensi
- 11,4 – 23 $\mu\text{mol/L}$: rendah
- > 23 $\mu\text{mol/L}$: adekuat

11. Kadar vitamin E serum

Definisi : Nilai yang didapatkan dari pemeriksaan kadar vitamin E serum sebelum dan sesudah perlakuan.

Alat ukur : Metode kromatograf

Cara ukur : Sampel darah diambil pada hari pertama dan hari ke lima sebelum perawatan luka.

Hasil ukur : Kadar vitamin C diklasifikasikan sesuai NHANES III:³²

- < 11,6 $\mu\text{mol/L}$: defisiensi
- 11,6 – 20 $\mu\text{mol/L}$: rendah
- > 20 $\mu\text{mol/L}$: adekuat

12. Kadar GSH plasma

Definisi : Nilai yang didapatkan dari pemeriksaan kadar GSH plasma pada awal dan akhir penelitian.

Alat ukur : Metode Ellman⁴⁹

Cara ukur : Sampel darah diambil pada hari pertama dan hari ke lima sebelum perawatan luka.

Hasil ukur : Dalam satuan mmol/L.

3.9 Matriks identifikasi variabel

Tabel 3.3. Tabel matriks identifikasi variabel

Variabel	Indikator	Skala	Metode	Referensi
Karakteristik subyek	Jenis kelamin	Nominal	Wawancara	
	Usia	Rasio		
	Derajat luka bakar	Ordinal		
	IMT	Ordinal, rasio		
	Penyebab luka bakar	Nominal		
	SGOT, SGPT	Rasio		
	Ureum, kreatinin	Rasio		
	waktu MRS	Ordinal, rasio		
Asupan makanan	Asupan energi	Rasio	Food record	Gibson ³²
	Asupan protein	Rasio		
	Asupan vitamin C	Rasio		
	Asupan vitamin E	Rasio		
Kadar antioksidan tubuh	Kadar GSH plasma	Rasio	Spektrofotometri	Elman ⁴⁹
	Kadar Vitamin C serum	Rasio, ordinal	Spektrofotometri	Gibson ³²
	Kadar vitamin E serum	Rasio, ordinal	HPLC	Gibson ³²

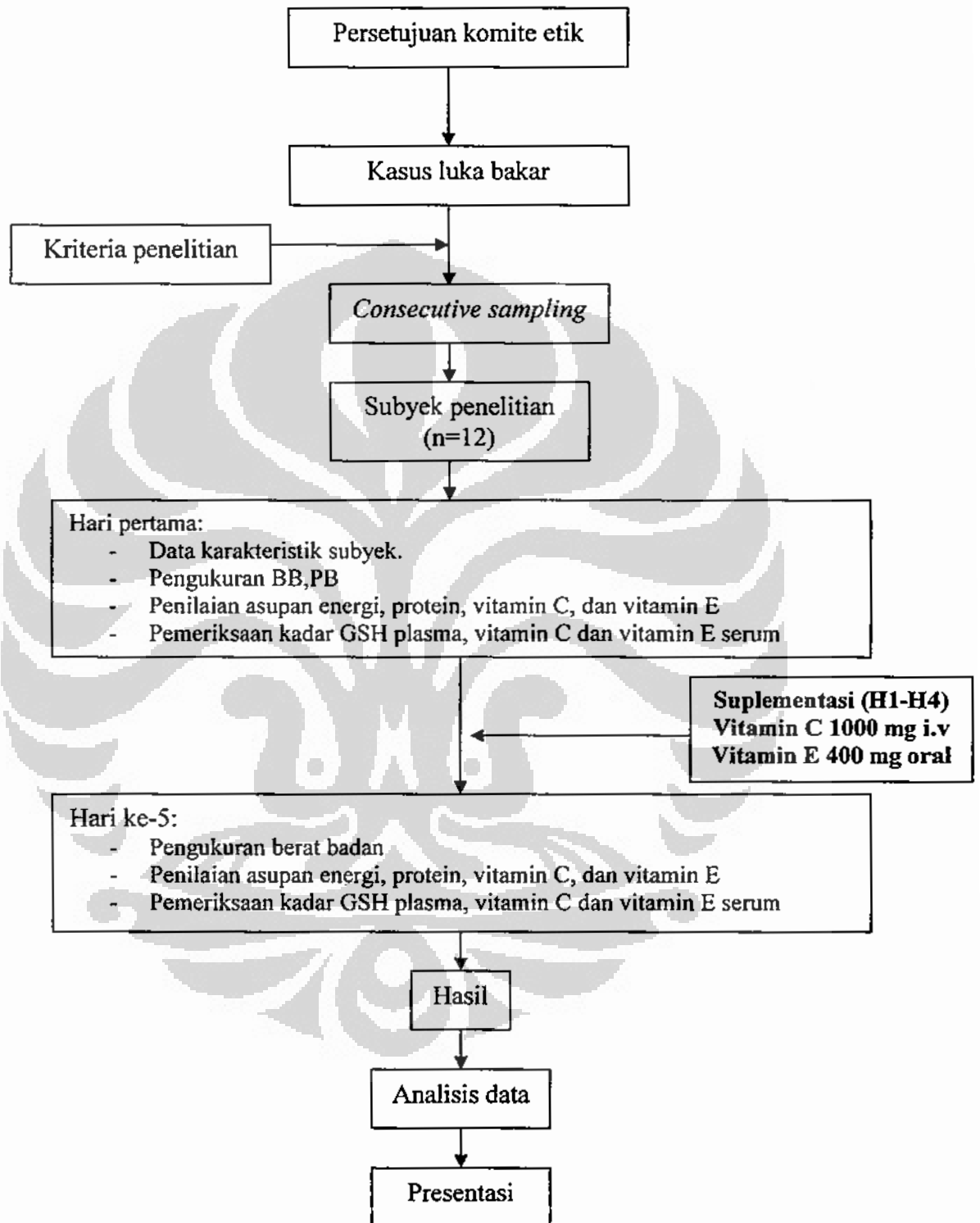
3.10 Organisasi Penelitian

Peneliti utama : dr. Marya Warascesaria Haryono

Pembimbing I : dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK

Pembimbing II : dr. Yefta Moenadjat, SpBP(K)

3.11. Alur Penelitian



Keterangan:
 BB = Berat badan
 PB = Panjang badan
 GSH=Glutation

BAB 4

HASIL PENELITIAN

4.1 Seleksi Subyek Penelitian

Pengumpulan data penelitian dilakukan di UPKLB RSCM mulai bulan Juli 2009 sampai bulan September 2009. Perekrutan subyek dilakukan secara *consecutive sampling* pada seluruh kasus luka bakar yang dirawat dan memenuhi kriteria penelitian. Selanjutnya subyek penelitian diberikan suplementasi vitamin C sebanyak 1000 mg secara iv dan vitamin E 400 mg secara oral atau enteral selama empat hari berturut-turut. Bila terdapat kasus yang *drop out* maka diambil lagi kasus lain yang memenuhi kriteria penelitian sampai jumlah sampel terpenuhi.

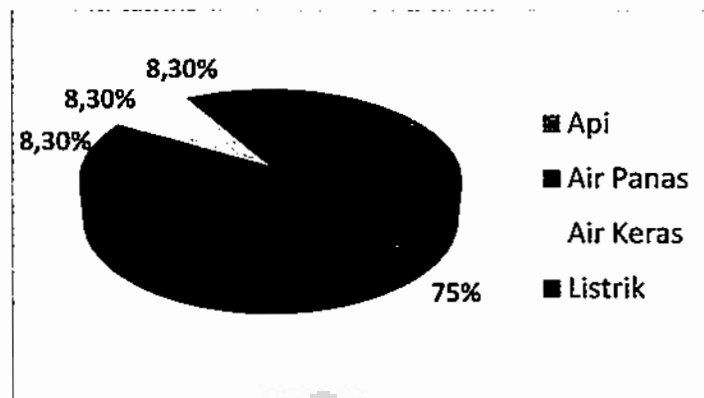
Dari 22 kasus yang dirawat terdapat 16 kasus yang memenuhi kriteria penelitian. Empat diantaranya *drop out* dengan penyebab meninggal, sampel darah lisis, atau menerima suplementasi antioksidan lain. Pada akhir penelitian terdapat 12 kasus sebagai subyek penelitian sesuai dengan besar sampel yang diharapkan.

4.2 Karakteristik Subyek Penelitian

4.2.1 Sebaran subyek penelitian berdasarkan jenis kelamin, usia, derajat luka bakar, status gizi, dan penyebab luka bakar.

Dari 12 subyek penelitian, 50% berjenis kelamin laki-laki dan 50% berjenis kelamin perempuan, dengan median usia 33,50 (18-55) tahun. Berdasarkan kriteria ABA 50% subyek termasuk luka bakar derajat berat dan 50% derajat sedang. Berdasarkan IMT sebagian besar subyek (67%) termasuk kategori status gizi normal yaitu $22,04 \pm 1,89 \text{ kg/m}^2$, 8% status gizi kurang, dan 25% status gizi lebih.

Penyebab luka bakar pada subyek penelitian ini 75% akibat api, sedangkan sisanya oleh air panas, listrik, dan air keras (gambar 4.1).



Gambar 4.1. Penyebab luka bakar

4.2.2 Karakteristik subyek berdasarkan pemeriksaan laboratorium dan waktu masuk rumah sakit

Tabel 4.1 memperlihatkan karakteristik subyek penelitian berdasarkan pemeriksaan laboratorium SGOT, SGPT, ureum, kreatinin, dan waktu masuk rumah sakit.

Tabel 4.1. Karakteristik subyek penelitian berdasarkan kadar SGOT, SGPT, ureum, kreatinin, dan waktu masuk rumah sakit

Variabel	
SGOT (U/L)	24,50 (9,00-63,00) ^b
SGPT (U/L)	16,50 (7,00-50,00) ^b
Ureum (mg/dL)	25,09±7,48 ^a
Kreatinin (mg/dL)	0,74±0,18 ^a
Waktu MRS pasca kejadian (jam)	11,50(1,00-24,00) ^b

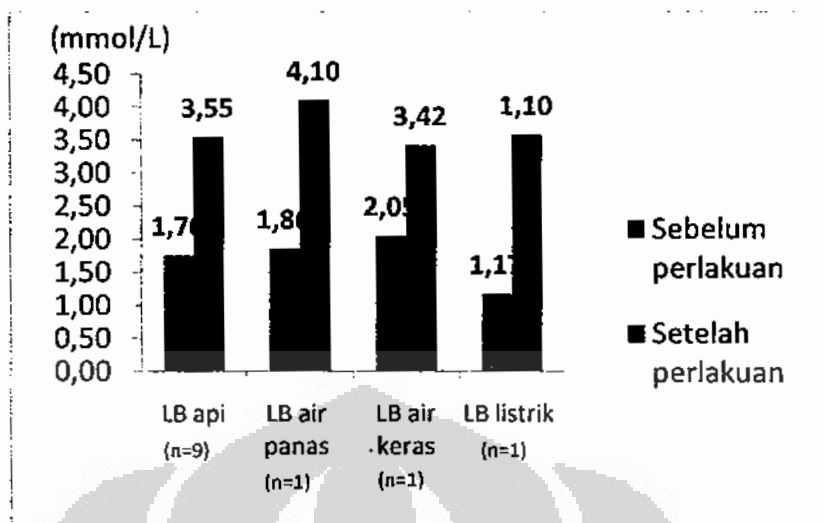
Keterangan:

SGOT= *serum glutamic oxaloacetic transaminase*; SGPT= *serum glutamic piruvic transaminase*;
MRS=masuk rumah sakit

^a=dalam rerata ± simpang baku; ^b= dalam median (rentang)

4.2.3 Karakteristik subyek penelitian berdasarkan kadar GSH menurut penyebab luka bakar

Gambar 4.2 memperlihatkan kadar GSH sebelum dan sesudah perlakuan pada subyek menurut penyebab luka bakar.



Gambar 4.2. Kadar GSH menurut penyebab luka bakar

4.3 Analisis Asupan

Tabel 4.2 memperlihatkan kebutuhan, asupan energi, dan persentase energi dibandingkan kebutuhan energi total.

Tabel 4.2. Kebutuhan, asupan, dan persentase asupan per kebutuhan energi, protein, vitamin C, dan vitamin E

Variabel	Hari I	Hari IV	p
Energi			
Kebutuhan (kcal)	2509,00±584,04 ^a	2527,82±577,25 ^a	0,369 ^t
Asupan (kcal)	1501,50 (451,70-2192,60) ^b	1832,09±527,05 ^a	0,158 ^w
Asupan/kebutuhan(%)	62,34±26,39 ^a	74,79±26,93 ^a	0,210 ^t
Protein			
Kebutuhan (g)	112,97±16,08 ^a	109,98±16,05 ^a	0,000 ^t
Asupan (g)	70,00 (17,90-92,00) ^b	72,95±18,48 ^a	0,248 ^w
Asupan/kebutuhan protein(%)	60,68 (14,92-79,31) ^b	67,64±19,43 ^a	0,209 ^w
Asupan protein/kebutuhan energi total(%)	10,52 (3,26-18,58) ^b	11,13 (6,37-19,30) ^b	0,328 ^w
Vitamin C			
Kebutuhan (mg)	2000	2000	
Asupan (mg)	1023,20 (1000,00-1064,00) ^b	1019,90 (1000,00-1124,00) ^b	0,002 ^w
Asupan/kebutuhan(%)	51,16 (50,00-53,20) ^b	50,99 (50,00-56,20) ^b	0,929 ^w
Vitamin E			
Kebutuhan (mg)	400	400	
Asupan (mg)	400,05 (400,00-401,00) ^b	400,00 (400,00-404,40) ^b	0,619 ^w
Asupan/kebutuhan(%)	100,01 (100,00-100,25) ^b	100,00 (100,00-101,10) ^b	0,619 ^w

Keterangan:

^a= dalam rerata ± simpang baku; ^b= dalam median (rentang)

^t= bermakna; [!]= uji t-tes berpasangan; ^w= uji wilcoxon

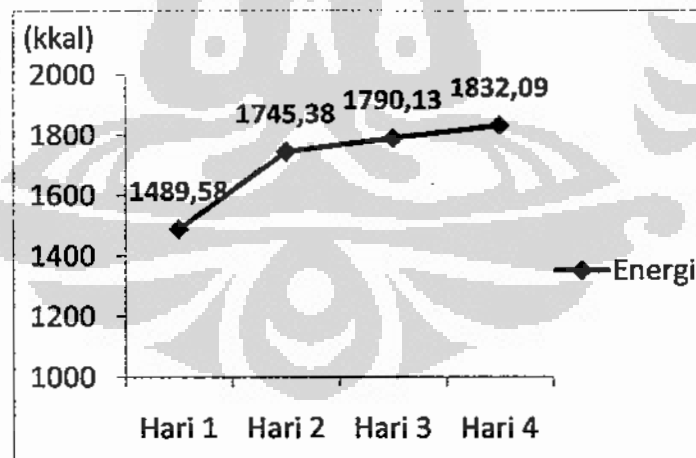
Tabel 4.2 memperlihatkan kebutuhan energi tidak berbeda bermakna antara hari pertama dan ke empat. Persentase asupan per kebutuhan energi meningkat tidak bermakna pada hari ke empat.

Penilaian kebutuhan protein digunakan 2 g/kgBB/hari. Kebutuhan hari pertama dan ke empat menurun bermakna, sedangkan asupan, persentase asupan per kebutuhan protein, dan persentase asupan per kebutuhan energi meningkat tidak bermakna.

Kebutuhan vitamin C adalah 2000 mg perhari berdasarkan rekomendasi Demling. Asupan vitamin C menurun bermakna pada hari ke empat ($p = 0,002$) dan terdapat penurunan persentase asupan per kebutuhan vitamin C tidak bermakna pada hari ke empat ($p > 0,05$).

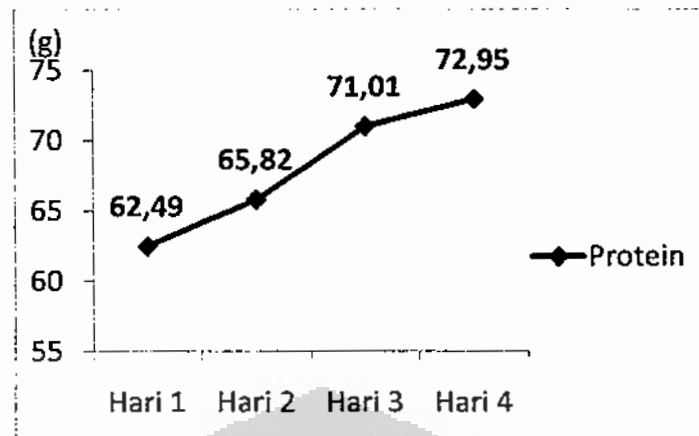
Penilaian kebutuhan vitamin E digunakan 400 mg per hari sesuai rekomendasi Demling. Asupan vitamin E menurun tidak bermakna. Persentase asupan per kebutuhan vitamin E mencapai lebih dari kebutuhan perhari dan menurun tidak bermakna pada hari ke empat.

Rata-rata asupan energi selama empat hari berturut-turut mengalami peningkatan secara bertahap (gambar 4.3)



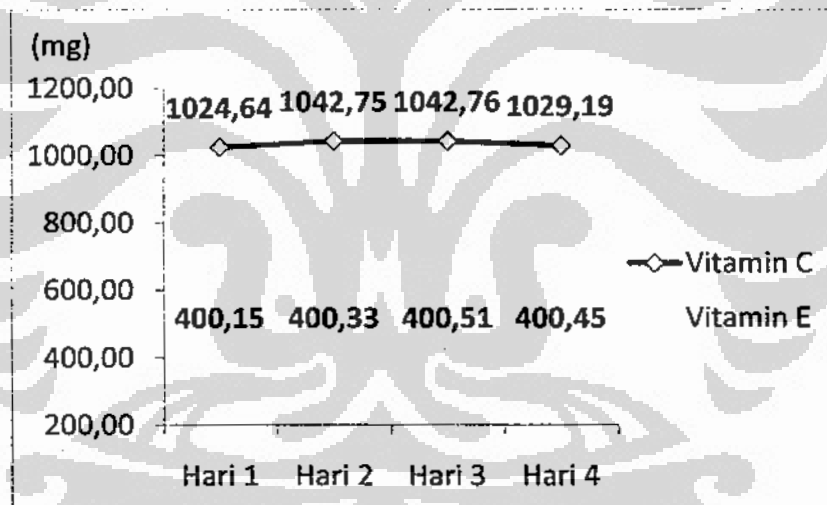
Gambar 4.3. Asupan energi selama empat hari berturut-turut

Asupan protein selama empat hari berturut-turut dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4. Asupan protein selama empat hari berturut-turut

Gambar 4.5 memperlihatkan asupan vitamin C dan E selama empat hari berturut-turut.



Gambar 4.5. Asupan vitamin C dan E selama empat hari berturut-turut

4.4 Kadar Vitamin C, Vitamin E, dan GSH

Tabel 4.3 menunjukkan kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH sebelum dan sesudah perlakuan.

Tabel 4.3. Kadar vitamin C, E, dan GSH sebelum dan sesudah perlakuan

Variabel	Sebelum perlakuan	Sesudah perlakuan	p
Vitamin C ($\mu\text{mol/L}$)	17,79 (10,16-32,88) ^b	18,33 (9,10-37,02) ^b	0,239 ^w
Vitamin E ($\mu\text{mol/L}$)	9,06 \pm 1,56 ^a	15,50 (6,28-27,17) ^b	0,019 ^{t,w}
GSH (mmol/L)	1,76 \pm 0,36 ^a	3,48 (3,06-5,47) ^b	0,002 ^{t,w}

Keterangan:

^a= dalam rerata \pm simpang baku; ^b= dalam median (rentang)^t= bermakna; ^t = uji t-tes berpasangan; ^w = uji wilcoxon

Kadar vitamin C serum meningkat sesudah perlakuan tetapi tidak bermakna secara statistik ($p > 0,05$), sedangkan kadar vitamin E serum meningkat bermakna sesudah perlakuan ($p = 0,07$).

4.5 Perubahan kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH terhadap luka bakar sedang dan berat

Tabel 4.4 memperlihatkan perubahan kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH pada subyek dengan derajat luka bakar sedang dan berat.

Tabel 4.4. Perubahan kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH terhadap luka bakar sedang dan berat

Variabel	Luka bakar sedang	Luka bakar berat	p
Δ Kadar vitamin C ($\mu\text{mol/L}$)	6,50 ((-9,30)-22,77) ^b	-0,19 ((-2)-6,82) ^b	0,423 ^m
Δ Kadar vitamin E ($\mu\text{mol/L}$)	4,63 ((-5,07)-15,58) ^b	8,66 (2,32-11,17) ^b	0,522 ^m
Δ Kadar GSH (mmol/L)	1,66 \pm 0,36 ^a	2,08 (0,85-3,78) ^b	0,378 ^m

Keterangan:

^a= dalam rerata \pm simpang baku; ^b= dalam median (rentang)^m = uji Mann-Whitney

BAB 5 PEMBAHASAN

Pengumpulan data yang dilakukan pada bulan Juli 2009 sampai dengan bulan September 2009 di UPKLB RSCM Jakarta mendapatkan 16 kasus luka bakar derajat sedang-berat yang memenuhi kriteria penelitian. Empat dari 16 kasus tersebut *drop out* (DO) dan didapatkan 12 kasus sebagai subyek penelitian.

Kriteria subyek penelitian dilakukan pada rentang usia yang luas (18-59 tahun) dan luas luka bakar kurang dari 60%. Hal ini untuk memudahkan pengambilan subyek penelitian dalam waktu singkat. Selain itu menurut Jeschke, kasus luka bakar dengan luas lebih dari 60% memiliki status inflamasi dan katabolik yang lebih tinggi bermakna dibandingkan kasus dengan luas kurang dari 60%.⁵² Dari kriteria usia, luas luka bakar dan penyebab, ditentukan kriteria derajat luka bakar yang disesuaikan dengan kriteria ABA tahun 2000.¹²

Dalam perjalanan penyakit setelah masa perlakuan penelitian pada 12 kasus luka bakar sedang berat yang menjadi subyek penelitian, terdapat empat kasus sembuh, empat kasus kematian, dan empat kasus pulang paksa. Data ini memberi gambaran bahwa angka kematian pada kasus luka bakar derajat sedang berat mencapai 33% sehingga perlu diupayakan untuk menurunkan angka kematian kasus luka bakar sedang berat dengan penatalaksanaan yang tepat.

5.1 Keterbatasan penelitian

5.1.1 Metode Penelitian

Disain yang dipilih dalam penelitian ini adalah disain *one group pre-post test* pada kasus luka bakar derajat sedang-berat, sehingga hasil penelitian ini tidak dapat membandingkan secara langsung perbedaan antara kasus luka bakar yang diberi suplementasi vitamin C dan E dengan kasus tanpa suplementasi.

Selain itu, karena keterbatasan waktu dan kasus yang ada sehingga penelitian ini tidak menggunakan kelompok kontrol.

5.1.2 Penilaian asupan

Penilaian asupan energi, vitamin C dan E dilakukan dengan metode *food record* dan dianalisis dengan program *software nutrisurvey 2005*. Metode *food record*

relatif baik dalam menilai asupan makanan subyek penelitian ini, sebab penilaian langsung dilakukan dengan mencatat makanan yang diberikan dan jumlah yang dikonsumsi. Keterbatasan metode *food record* dalam penelitian ini yaitu pencatatan yang tidak tepat dalam menerjemahkan jumlah makanan yang dikonsumsi dan menerjemahkan jumlah makanan dalam satuan ukur saat melakukan analisis dengan program *software nutrisurvey* 2005.

5.1.3 Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan kadar GSH penelitian ini menggunakan plasma darah. Keterbatasan pemeriksaan ini adalah kadar GSH plasma lebih rendah dibanding sel, namun pemeriksaan ini paling mudah dan murah dibandingkan pemeriksaan GSH di sel atau jaringan. Selain itu tidak dilakukan penilaian kadar protein, sebagai faktor yang mempengaruhi kadar GSH.

Pemeriksaan kadar vitamin C yang paling sensitif adalah menggunakan leukosit, limfosit atau monosit, sedangkan pengukuran kadar vitamin E yang paling sensitif pada eritrosit dan trombosit, tetapi pemeriksaan-pemeriksaan ini jarang dilakukan karena prosedur pemeriksaannya sulit. Selain itu, karena adanya keterbatasan biaya maka penilaian kadar vitamin E dan C penelitian ini menggunakan serum.

5.2 Karakteristik subyek penelitian

5.2.1 Karakteristik subyek berdasarkan usia, jenis kelamin, derajat luka bakar, penyebab luka bakar dan status gizi.

Median usia subyek penelitian 33,50 (18-55) tahun. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Oetoro yaitu median usia subyek 24,50 (19-53) tahun. Berdasarkan jenis kelamin subyek penelitian diperoleh proporsi yang seimbang yaitu enam subyek laki-laki (50%) dan enam subyek perempuan (50%). Demikian pula dengan derajat luka bakar yaitu enam subyek dengan luka bakar derajat sedang (50%) dan enam subyek derajat berat (50%).

Sebagian besar penyebab luka bakar adalah api (75%), dan sisanya oleh air panas, listrik, dan air keras. Hal ini sesuai dengan penelitian Al Kaisy yaitu 71,05% penyebab terbanyak adalah api.¹¹

Sebagian besar subyek penelitian (67%) memiliki IMT normal yaitu $22,04 \pm 1,89 \text{ kg/m}^2$. Status gizi merupakan salah satu faktor dari kasus luka bakar yang dapat menentukan prognosis perjalanan penyakit. Adanya gangguan metabolisme pada luka bakar menyebabkan cadangan energi tubuh tidak mencukupi kebutuhan, sehingga bila proses ini terjadi pada kasus luka bakar dengan status gizi kurang akan memperberat perjalanan penyakit.⁴ Penilaian BB dan PB untuk menghitung IMT dan menilai status gizi pada kasus luka bakar sebenarnya kurang tepat, terutama pada fase akut. Nilai pengukuran berat badan dapat dipengaruhi oleh faktor udem yang dapat mencapai nilai maksimum dalam 18 jam pasca trauma, di mana proses resorpsi dimulai dalam 24 jam dan dalam satu minggu udem dapat tersisa sampai 25%.⁴ Pada fase awal kasus luka bakar, pengukuran berat badan dan tinggi badan tetap diperlukan untuk menilai kebutuhan kalori perhari.

5.2.2 Karakteristik subyek berdasarkan pemeriksaan laboratorium dan waktu MRS

Data kadar SGOT, SGPT, ureum, dan kreatinin digunakan untuk menggambarkan fungsi hati dan fungsi ginjal pada subyek penelitian. Gangguan sirkulasi yang seringkali terjadi pada fase awal luka bakar dapat menyebabkan gangguan fungsi hati dan fungsi ginjal.⁴ Nilai median kadar SGOT (24,50 (9,00-63,00) U/L) dan SGPT (16,50 (7,00-50,00) U/L) menunjukkan kadar yang masih dalam batas normal, tetapi nilai maksimum menunjukkan adanya subyek dengan kadar SGOT dan SGPT yang tinggi. Hal ini sesuai dengan Al-Jawad yang menyatakan bahwa aktivitas enzim hepar meningkat pada *zero time*.⁹ Data dari penelitian ini masih lebih tinggi dibandingkan penelitian Al-Kaisy dkk yaitu SGOT $14,3 \pm 3,6$ U/L dan SGPT $15 \pm 2,1$ U/L.¹¹ Hepar mengalami gangguan akibat hipoksia sehingga fungsi hepar termasuk proses metabolisme, sintesis, dan detoksifikasi terganggu.⁴ Selain itu, perbedaan hasil SGOT dan SGPT kemungkinan disebabkan adanya perbedaan waktu MRS atau perbedaan populasi. Rerata kadar ureum $25,09 \pm 7,48$ mg/dL dan kadar kreatinin $0,74 \pm 0,18$ mg/dL dalam batas normal.

Subyek penelitian ini masuk ke RSCM 11,50 (1,00-24,00) jam pasca kejadian, lebih lama dari waktu MRS pada penelitian Al-Kaisy dkk yaitu $4,5 \pm 1,9$

jam pasca kejadian.¹¹ Hal ini menunjukkan adanya keterbatasan penanganan kasus emergensi untuk memperoleh pertolongan. Bila dibandingkan dengan negara maju, kasus emergensi termasuk luka bakar mendapatkan pertolongan pertama dalam waktu 10-15 menit pasca kejadian.⁴ Penelitian Maghit dkk pada subyek dengan waktu masuk rumah sakit pasca trauma kurang dari 12 jam menunjukkan terjadi penurunan kadar vitamin C dan E pada kasus luka bakar,⁸ sedangkan pada subyek penelitian ini dapat mencapai 24 jam pasca trauma sehingga kemungkinan besar akan terjadi penurunan kadar vitamin C dan E pada subyek penelitian ini bila tidak diberi suplementasi vitamin C dan dan vitamin E.

5.2.3 Karakteristik subyek penelitian berdasarkan kadar GSH menurut penyebab luka bakar

Pada gambar 4.2 memperlihatkan kadar GSH sebelum dan sesudah perlakuan pada subyek berdasarkan penyebab luka bakar. Kadar GSH sebelum perlakuan paling tinggi pada subyek dengan luka bakar akibat air keras dan paling rendah pada subyek dengan luka bakar akibat listrik. Setelah suplementasi kadar GSH paling tinggi pada subyek luka bakar akibat air panas dan paling rendah akibat air keras, sedangkan kenaikan kadar GSH paling besar pada subyek dengan luka bakar akibat listrik dan kenaikan kadar GSH paling sedikit pada subyek dengan luka bakar akibat air keras. Luka bakar akibat air keras dan listrik mempunyai pola yang berbeda, disebabkan sifat destruktif oleh penyebab yang terus berlangsung selama penyebab tersebut masih berkontak dengan kulit. Lama kontak dengan sumber penyebab luka bakar akan menentukan kerusakan jaringan yang terjadi. Semakin lama waktu kontak semakin dalam dan luas kerusakan jaringan yang terjadi.⁴

5.3 Analisis asupan

5.3.1 Asupan energi dan protein

Tabel 4.2 memperlihatkan kebutuhan energi berdasarkan rumus *Harris Benedict*. Kebutuhan energi tidak berbeda bermakna antara hari pertama ($2509,00 \pm 584,04$ kkal) dan ke empat ($2527,82 \pm 577,25$). Dari analisis asupan yang dilakukan dengan metode *food record*, didapatkan asupan energi pada hari pertama adalah

1501,50 (451,70-2192,60) kkal dan pada hari ke empat 1832,09±527,05 kkal. Tidak terdapat perbedaan bermakna asupan energi hari pertama dan hari ke empat ($p=0,158$).

Persentase asupan per kebutuhan energi meningkat tidak bermakna ($p \geq 0,05$) pada hari pertama 62,34±26,39 % dan pada hari ke empat 74,79±26,93 kkal. Hal ini sesuai dengan penelitian Oetoro²⁶ dan Witjaksono⁵³ bahwa selama tiga hari pertama asupan lebih sedikit oleh karena terjadi intoleransi saluran cerna, sehingga tujuan dalam pemberian nutrisi lebih diutamakan untuk *gut feeding*.

Perhitungan kebutuhan energi dengan rumus *Harris Benedict* ditambahkan dengan aktivitas fisik dan faktor stres berisiko terjadi *overfeeding*. Hal ini dapat diatasi dengan pemberian nutrisi secara perlahan dan bertahap sampai memenuhi kebutuhan energi perhari.⁴ Gambar 4.3 menunjukkan asupan energi pada subyek penelitian ini meningkat bertahap selama empat hari berturut-turut.

Kebutuhan protein pada subyek penelitian ini menurun bermakna pada hari ke empat, sedangkan persentase asupan terhadap kebutuhan meningkat tidak bermakna. Gambar 4.4 menunjukkan asupan protein selama empat hari meningkat namun peningkatan persentase asupan terhadap kebutuhan belum mencukupi kebutuhan protein per hari dan belum dapat dikatakan adekuat karena hanya mencapai 1,11 g/kgBB pada hari pertama dan 1,32 g/kgBB pada hari ke empat, sedangkan asupan protein pada kasus luka bakar dikatakan adekuat bila mencapai 1,5-2,15 g/kgBB/hari. Hal ini sesuai dengan penelitian Witjaksono yang dilakukan di pusat penelitian yang sama dengan disain penelitian yang berbeda, didapatkan bahwa pada kelompok perlakuan yang diberikan nutrisi enteral dini, asupan protein meningkat dari hari pertama perlakuan sampai hari ke empat dan persentase asupan terhadap kebutuhan protein masih lebih rendah dibandingkan asupan energi.⁵³ Persentase asupan protein terhadap KET termasuk kategori cukup yaitu 10,52 (3,26-18,98) % pada hari pertama dan 11,13 (6,37-19,30) % pada hari ke empat, tetapi peningkatan hari pertama dan ke empat tidak bermakna.

5.3.2 Asupan vitamin C dan vitamin E

Asupan vitamin C menurun bermakna pada hari ke empat ($p= 0,002$) dan persentase asupan per kebutuhan vitamin C menurun tidak bermakna pada hari ke

empat. Rata-rata asupan vitamin C setiap hari pada luka bakar sedang dan berat tidak didapatkan perbedaan bermakna ($p=0,181$). Asupan dan persentase asupan terhadap kebutuhan vitamin E menurun tidak bermakna, namun persentase asupan per kebutuhan vitamin E pada hari pertama dan ke empat mencapai lebih dari kebutuhan perhari.

Kebutuhan vitamin C dan E pada kasus luka bakar subyek penelitian ini menggunakan rekomendasi Demling, namun sebenarnya belum ada data yang akurat baik untuk populasi barat maupun populasi di Indonesia untuk menentukan berapa nilai kebutuhan vitamin C dan E pada kasus luka bakar. Beberapa rekomendasi yang disarankan untuk kebutuhan vitamin C dan E adalah berkisar lima sampai sepuluh kali nilai RDA.^{22,23} Bila menggunakan AKG, maka asupan vitamin C dan E pada subyek penelitian ini jauh lebih dari kebutuhan per hari, tetapi kedua nilai ini adalah kebutuhan untuk orang sehat. Nilai AKG vitamin C dan E sama dengan RDA, yaitu bila dikalikan sepuluh kali AKG maka nilai asupan subyek penelitian ini sudah memenuhi kebutuhan untuk kasus luka bakar dan masih di bawah nilai *upper limit* untuk orang sehat.³³

Gambar 4.5 memperlihatkan asupan vitamin C dan vitamin E yang hampir sama selama empat hari berturut-turut. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar asupan vitamin C dan vitamin E pada subyek penelitian selama empat hari berturut-turut berasal dari suplementasi, sedangkan asupan dari bahan makanan sumber tidak dapat memenuhi kebutuhan per hari untuk kasus luka bakar bahkan belum mencukupi kebutuhan untuk orang sehat berdasarkan AKG.

5.4 Kadar vitamin C dan E subyek penelitian

Kadar vitamin C serum sebelum perlakuan adalah 17,79 (10,16-32,88) $\mu\text{mol/L}$. Kadar ini meningkat setelah perlakuan yaitu 18,33 (9,10-37,02) $\mu\text{mol/L}$, tetapi tidak bermakna ($p= 0,239$). Data ini menunjukkan kadar vitamin C sebelum dan sesudah perlakuan termasuk dalam kategori rendah menurut NHANES III yaitu berada dalam kisaran 11,43-23 $\mu\text{mol/L}$.³²

Kadar vitamin E serum $9,06 \pm 1,56$ $\mu\text{mol/L}$ sebelum perlakuan dan 15,50 (6,28-27,17) $\mu\text{mol/L}$ setelah perlakuan. Walaupun menurut kategori NHANES masih dalam batas rendah (11,6-20 $\mu\text{mol/L}$),³² tetapi hal ini menunjukkan bahwa

suplementasi vitamin E dapat meningkatkan kadar vitamin E serum secara bermakna ($p=0,019$).

Studi Maghit dkk pada subyek dengan luas luka bakar lebih dari 30% dengan menggunakan metode HPLC untuk pemeriksaan kadar vitamin C dan vitamin E memperlihatkan kadar vitamin C plasma pada hari pertama $14,6\pm 6,8$ $\mu\text{mol/L}$ dan kadar vitamin E serum $5,7\pm 3,1$ $\mu\text{mol/L}$.⁸ Bila dibandingkan dengan hasil penelitian Maghit, kadar vitamin C dan vitamin E pada hari pertama subyek penelitian ini lebih tinggi. Hal ini selain disebabkan perbedaan sampel pemeriksaan juga dapat disebabkan rentang luas luka bakar pada penelitian Maghit dkk 32-93% sehingga kemungkinan stres oksidatif lebih besar yang mempengaruhi kadar antioksidan tubuh termasuk vitamin C dan vitamin E.

5.5 Kadar GSH subyek penelitian

Kadar GSH plasma sebelum perlakuan pada subyek penelitian ini adalah $1,76\pm 0,36$ mmol/L lebih tinggi jika dibandingkan kadar GSH plasma pada penelitian Al-Kaisy dkk ($0,05\pm 0,03$ mmol/L).¹¹ Perbedaan populasi memungkinkan adanya perbedaan kadar GSH. Penelitian terhadap kadar GSH yang pernah dilakukan pada populasi Indonesia sehat usia 18-25 tahun adalah $942,65\pm 230,98$ nmol/mL (setara dengan $3,06\pm 0,23$ mmol/L).⁵⁴ Nilai ini lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol penelitian Al-Kaisy dkk yang dilakukan pada subyek sehat yaitu $0,13\pm 0,02$ mmol/L.¹¹

Kadar GSH sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan pada penelitian ini meningkat bermakna ($p=0,002$). Penelitian yang dilakukan oleh Al-Kaisy dkk pada kasus luka bakar dengan luas 10-80% menunjukkan hasil yang sama yaitu terdapat peningkatan bermakna kadar GSH pada hari ke dua dan ke empat setelah diberikan suplementasi vitamin C sebesar 500 mg per oral dan vitamin E 400 mg iv.¹¹ Hasil serupa juga didapatkan oleh Al-Jawad dkk pada subyek dengan luas luka bakar 14-40%, yang memberikan suplementasi sama seperti penelitian Al-Kaisy dkk, yaitu terdapat peningkatan bermakna kadar GSH pada hari ke tiga dan ke tujuh setelah perlakuan.⁹

Persentase kenaikan kadar GSH (105%) pada penelitian ini lebih besar dibanding penelitian Al-Kaisy dkk (96%) dan Al-Jawad dkk (87%).^{9,11} Hal ini

mungkin disebabkan dosis pemberian vitamin C pada penelitian ini lebih besar yaitu 1000 mg dibanding dosis pada penelitian Al-Kaisy dkk dan Al-Jawad dkk yaitu 500 mg.

Gangguan sirkulasi pada fase awal luka bakar dapat menimbulkan keadaan hipoksia dan menyebabkan ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan antioksidan endogen. Untuk itu perlu suplementasi antioksidan eksogen seperti vitamin C dan E. Vitamin C merupakan antioksidan larut air dan vitamin E sebagai antioksidan larut lemak. Kombinasi keduanya sering digunakan karena bekerja sinergis. Asam askorbat dapat mereduksi peroksida lipid menghasilkan dehidroaskorbat. Vitamin E mereduksi radikal lipid atau radikal peroksil menghasilkan radikal tokoferol. Radikal tokoferol diubah kembali menjadi α -tokoferol oleh asam askorbat dan menghasilkan dehidroaskorbat. Dehidroaskorbat yang terbentuk diubah kembali menjadi askorbat oleh GSH dikatalisis oleh dehidroaskorbat reduktase.

5.6 Perubahan kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH terhadap luka bakar sedang dan berat

Perubahan rata-rata kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH antara luka bakar sedang dan berat didapatkan hasil tidak berbeda bermakna. Pada penelitian lain yang dilakukan bersama penelitian ini didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna kadar MDA plasma dan CRP serum antara luka bakar sedang dan berat.^{55,56} Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan respon tubuh terhadap stres oksidatif dan inflamasi antara luka bakar sedang sama dengan luka bakar berat.

BAB 6

RINGKASAN, SIMPULAN, DAN SARAN

6.1 Ringkasan

Luka bakar merupakan jenis trauma dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Gangguan sirkulasi pada fase awal menyebabkan hipoksia sel dan jaringan. Jika tidak teratasi dengan baik timbul keadaan stres oksidatif yang menyebabkan gangguan fungsi organ hingga kematian. Stres oksidatif berhubungan dengan kadar antioksidan tubuh yang menurun sehingga diperlukan antioksidan eksogen.

Vitamin C dan E adalah vitamin yang memiliki peran penting sebagai antioksidan dalam tubuh dimana keduanya bekerja sinergis dalam menghambat oksidasi terutama pada membran sel. Asam askorbat dapat mereduksi peroksida lipid menghasilkan dehidroaskorbat. Vitamin E mereduksi radikal lipid atau radikal peroksil menghasilkan radikal tokoferol. Radikal tokoferol diubah kembali menjadi α -tokoferol oleh asam askorbat dan menghasilkan dehidroaskorbat. Dehidroaskorbat yang terbentuk diubah kembali menjadi askorbat oleh GSH dikatalisis oleh dehidroaskorbat reduktase. GSH diperlukan untuk mereduksi hidrogen peroksida membentuk H_2O , sehingga pembentukan radikal hidroksil dapat dicegah. Selain itu, pada kondisi stres oksidatif yang sangat meningkat seperti pada kasus luka bakar, kebutuhan vitamin C dan vitamin E bagi tubuh meningkat sedangkan asupan menurun, sehingga dapat terjadi defisiensi.

Penelitian eksperimental dengan dengan *one group pre-post test* ini bertujuan untuk menilai kadar GSH setelah pemberian suplemen vitamin C 1000 mg iv dan vitamin E 400 mg oral selama empat hari berturut-turut pada kasus luka bakar derajat sedang-berat usia 18-59 tahun yang di rawat di UPKLB RSCM Jakarta. Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian FKUI.

Sebanyak 12 subyek yang memenuhi kriteria penelitian dan bersedia ikut dalam penelitian ini. Data diperoleh melalui wawancara, rekam medik, pengukuran antropometri, dan analisis asupan dengan metode *food record* selama empat hari. Selain itu juga dilakukan pemeriksaan kadar vitamin C serum, vitamin E serum, dan GSH plasma sebelum dan sesudah perlakuan.

Dari 12 subyek penelitian dengan usia 33,50 (18-55) tahun, memiliki sebaran jenis kelamin dan derajat luka bakar yang seimbang yaitu enam orang laki-laki, enam orang perempuan, dan enam orang menderita luka bakar sedang, enam orang dengan luka bakar berat. Penyebab luka bakar terbanyak adalah api (75%). Sebagian besar memiliki IMT normal yaitu 67% subyek dengan rerata $22,04 \pm 1,89 \text{ kg/m}^2$ pada hari pertama penelitian. Kadar SGOT, SGPT, ureum, dan kreatinin pada subyek sebelum perlakuan berada dalam kadar normal. Waktu masuk MRS 11,50 (1,00-24,00) jam pasca trauma.

Nilai rerata asupan energi hari pertama penelitian adalah 1501,50 (451,70-2192,60) kkal dan hari ke empat penelitian adalah $1832,09 \pm 527,05$ kkal. Rata-rata asupan selama empat hari berturut-turut menggambarkan peningkatan secara bertahap. Nilai rerata persentase asupan per kebutuhan energi dengan menggunakan rumus *Harris Benedict* hari pertama adalah $62,34 \pm 26,39$ % dan hari ke empat $74,79 \pm 26,93$ %. Nilai rerata kebutuhan protein hari pertama adalah $112,97 \pm 16,08$ gr dan hari ke empat adalah $109,98 \pm 16,05$ gr, menurun bermakna. Perubahan nilai persentase asupan per kebutuhan energi dan protein pada hari pertama dan ke empat meningkat tidak bermakna.

Nilai asupan vitamin C hari pertama penelitian adalah 1023,20 (1000,00-1064,00) milligram dan hari ke empat penelitian 1019,90 (1000,00-1124,00) milligram, dengan $p=0,002$. Asupan vitamin C masih di bawah kebutuhan yang direkomendasikan Demling. Nilai asupan vitamin E hari pertama penelitian adalah 400,05 (400,00-401,00) milligram dan hari ke empat 400,00 (400,00-404,40) milligram. Asupan vitamin E sudah mencapai kebutuhan sesuai rekomendasi Demling. Persentase asupan vitamin C dan E per kebutuhan hari pertama dan ke empat tidak berbeda bermakna.

Nilai rerata kadar vitamin C sebelum suplementasi adalah 17,79 (10,16-32,88) $\mu\text{mol/L}$ dan sesudah suplementasi adalah 18,33 (9,10-37,02) $\mu\text{mol/L}$ dengan $p=0,239$. Kadar vitamin C sebelum suplementasi termasuk dalam kategori rendah menurut NHANES III, dan sesudah suplementasi hampir mencapai kategori normal.

Nilai rerata kadar vitamin E serum meningkat bermakna, yaitu $9,06 \pm 1,56$ $\mu\text{mol/L}$ sebelum suplementasi dan $15,50$ (6,28-27,17) $\mu\text{mol/L}$ sesudah

suplementasi ($p=0,019$). Kadar vitamin E sebelum dan sesudah suplementasi menurut kategori NHANES masih dalam batas rendah.

Nilai median dan rentang kadar GSH plasma sebelum suplementasi adalah $1,76\pm 0,36$ mmol/L. Nilai median kadar GSH sesudah suplementasi adalah 3,48 (3,06-5,47) mmol/L. Suplementasi yang diberikan dapat meningkatkan kadar GSH secara bermakna ($p= 0,002$).

Tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap perubahan kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH sebelum dan sesudah perlakuan antara subyek penelitian dengan luka bakar sedang dan berat.

6.2 Simpulan

Pada penelitian suplementasi vitamin C 1000 mg dan vitamin E 400 mg pada kasus luka bakar derajat sedang-berat, didapatkan simpulan sebagai berikut:

1. Rerata usia subyek penelitian adalah 33,50 (18-55) tahun dengan proporsi jenis kelamin dan derajat luka bakar yang seimbang, dan sebagian besar tergolong IMT normal.
2. Penyebab kasus luka bakar terbanyak adalah akibat api.
3. Persentase asupan per kebutuhan energi dan protein tidak berbeda bermakna pada hari pertama dan ke empat penelitian.
4. Rata-rata asupan energi dan protein meningkat selama empat hari berturut-turut.
5. Asupan vitamin C masih di bawah rekomendasi kebutuhan untuk kasus luka bakar, sedangkan asupan vitamin E sudah mencapai kebutuhan sesuai rekomendasi.
6. Kadar vitamin C dan E serum sebelum dan sesudah perlakuan berada dalam kategori rendah.
7. Kadar vitamin C serum meningkat tidak bermakna, kadar vitamin E serum meningkat bermakna.
8. Kadar GSH plasma meningkat bermakna setelah suplementasi vitamin C 1000 mg dan vitamin E 400 mg per hari.

9. Tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap perubahan kadar vitamin C, vitamin E, dan GSH sebelum dan sesudah perlakuan antara subyek penelitian dengan luka bakar dan berat.

Berdasarkan hal tersebut, hipotesis yang diajukan pada penelitian ini diterima.

6.3 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan disain uji klinik yang tersamar ganda dengan masa perlakuan yang lebih lama.
2. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan penilaian asupan menggunakan metode *food record* disertai penimbangan makanan.
3. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan beberapa pemeriksaan parameter stres oksidatif dan parameter yang menggambarkan kadar protein dalam tubuh baik sebelum maupun sesudah perlakuan.
4. Perlu tambahan asupan bahan makanan sumber vitamin C dan vitamin E pada pemberian nutrisi kasus luka bakar sedang berat.
5. Perlu suplementasi vitamin C dan vitamin E untuk mencukupi kebutuhan pada kasus luka bakar sedang berat.

SUMMARY, CONCLUSIONS, AND RECOMMENDATIONS

6.1 Summary

Burn injury is one of major trauma with high morbidity and mortality. The circulation imbalance of acute phase may causes tissue and cellular hypoxia which is not treated will lead oxidative stress. Oxidative stress and organ dysfunctions may cause organ dysfunction and death. Oxidative stress associated with decreased of antioxidant levels and required exogenous antioxidants.

Vitamin C and vitamin E have an important role as an antioxidant in the body where they worked sinergis in inhibiting the oxidation , especially of cell membranes. Ascorbic acid may reduce lipid peroxides and then produce dehidroaskorbat. Vitamin E reduces lipid radicals or radical peroxil and then produced tocopherol radical. Tocopherol radical is converted back to α -tocopherol by ascorbic acid and produce dehidroaskorbat. Dehidroaskorbat formed is converted back to ascorbate by GSH which catalyzed by dehidroaskorbat reductase. GSH is required to reduce hydrogen peroxide to form H_2O , so that the formation of hydroxyl radicals can be prevented. In conditions of oxidative stress which is increased in the case of burns, the requirement for vitamin C and vitamin E for the body increased while the intake decreased, so the deficiency may occur.

This experimental studies with one group pre-post test is aimed to assess the levels of GSH after supplementation of vitamin C 1000 mg iv and 400 mg vitamin E orally for four consecutive days on a moderate to severe burns which aged 18-59 years at UPKLB RSCM Jakarta. This study has been approved by The Committee of The Medical Research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia.

A total of 12 subjects meet the study criteria and willing to participate in this study. Data obtained through interviews, medical record, anthropometric measurements, and analysis by four-days food record. In addition, laboratory test of serum levels of vitamin C, vitamin E serum, and GSH plasma performed before and after treatment.

Of the 12 research subjects with average age 33,50 (18-55) years, has balance distribution of gender and degree of burns which are six men and six

women with moderate burns, six people with severe burns. The most causes of burns is flame (75%). Most of subjects have a normal BMI (67%) with average $22.04 \pm 1.89 \text{ kg/m}^2$. Levels of SGOT, SGPT, urea, and creatinine in the subjects before treatment were normal. Time average of hospital admission is 11,50 (1,00-24,00) hours post-trauma.

Average value of the energy intake of the first day of the study was 1501,50 (451,70-2192,60) kcal and on day four was $1832,09 \pm 527,05$ kkal. The average intake for four consecutive days represent a gradual increase. Average value of percentage intake of energy needs (using the *Harris Benedict* formula) was $62.34 \pm 26.39\%$ on the first day and on day four was $74,79 \pm 26.93\%$. Average value of protein needs of the first day was 112.97 ± 16.08 g and the fourth day was 109.98 ± 16.05 g, decreased significantly. Change of percentage intake of energy and protein requirements on the first day and the fourth was not significantly different.

The value of vitamin C intake of the study is 1023,20 (1000,00-1064,00) mg on the first day, and 1019.90 (1000,00-1124,00) mg on the fourth day, $p = 0.002$. Intake of vitamin C is still below of the requirements of Demling recommendations. From the paired t-tests found, no significant differences between intake of vitamin C on the moderate and severe burns ($p = 0.181$). The value of vitamin E intake of the first day of the study was 400.05 (400,00-401,00) mg, and on the fourth day was 400.00 (400,00-404,40) mg. Intake of vitamin E has reached the appropriate of Demling recommendations. Percentage intake of vitamin C and E requirements on the first day and the fourth was not significantly different.

Average value of vitamin C levels before supplementation was 17,79 (10,16-32,88) $\mu\text{mol/L}$ and after supplementation was 18,33 (9,10-37,02) $\mu\text{mol/L}$ ($p=0,239$). Levels of vitamin C before supplementation were in the low category according to NHANES III, and after supplementation almost reached the normal category.

Average value of serum vitamin E levels increased significantly, which are $9.06 \pm 1.56 \mu\text{mol/L}$ before supplementation and 15,50 (6,28-27,17) $\mu\text{mol/L}$ after

supplementation ($p=0,019$). Levels of vitamin E before and after supplementation according to NHANES III were still low.

Median value and range of plasma GSH levels before supplementation was 0.55 (0,36-0,68) mmol/L. Median value of GSH levels after supplementation was 1.07 (3,06-5,47) mmol/L. The supplementation may increased GSH levels significantly ($p = 0.002$).

There were no significant differences in changes in levels of vitamin C, vitamin E, and GSH before and after treatment among the study subjects with moderate and severe burns.

6.2 Conclusions

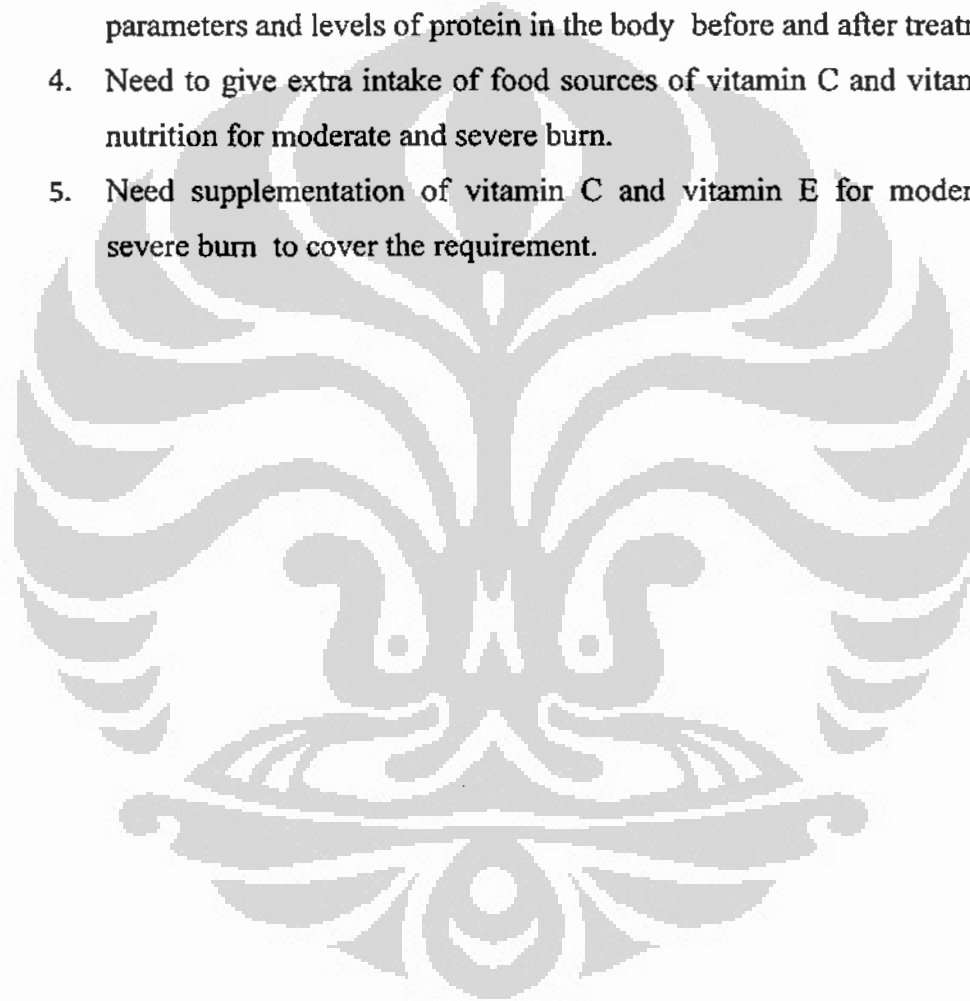
Study result of vitamin C supplementation 1000 mg and 400 mg of vitamin E in moderate-severe burns, are concluded as follow:

1. The median age of study subjects was 33,50 (18-55) years with the proportion of sex and burn degree were balanced. Body Mass Index in most of subjects is categorized as normoweight.
2. The cause of most cases of burns were due to flame.
3. Percentage intake of energy and protein requirements do not differ significantly on the first day and the fourth day of studies.
4. The average energy and protein intake increased for four consecutive days.
5. Intake of vitamin C is still below of recommendation of the need for burns, while the intake of vitamin E was achieved according to the recommendations.
6. Levels of serum vitamins C and E before and after treatment were in the low category.
7. Level of serum vitamin C increase was not significant, serum vitamin E levels increased significantly
8. Plasma GSH levels increased significantly after supplementation of vitamin C 1000 mg and 400 mg vitamin E per day.
9. There were no significant differences in changes in levels of vitamin C, vitamin E, and GSH before and after treatment among the study subjects with moderate and severe burns.

Based on this, the hypothesis proposed in this study can be proven.

6.3 Recommendations

1. Similar study is needed using randomized control trial and the longer treatment.
2. Similar study is needed with analysis of food-record and food-weighing.
3. Similar study is needed with measurements of some oxidative stress parameters and levels of protein in the body before and after treatment.
4. Need to give extra intake of food sources of vitamin C and vitamin E in nutrition for moderate and severe burn.
5. Need supplementation of vitamin C and vitamin E for moderate and severe burn to cover the requirement.



DAFTAR REFERENSI

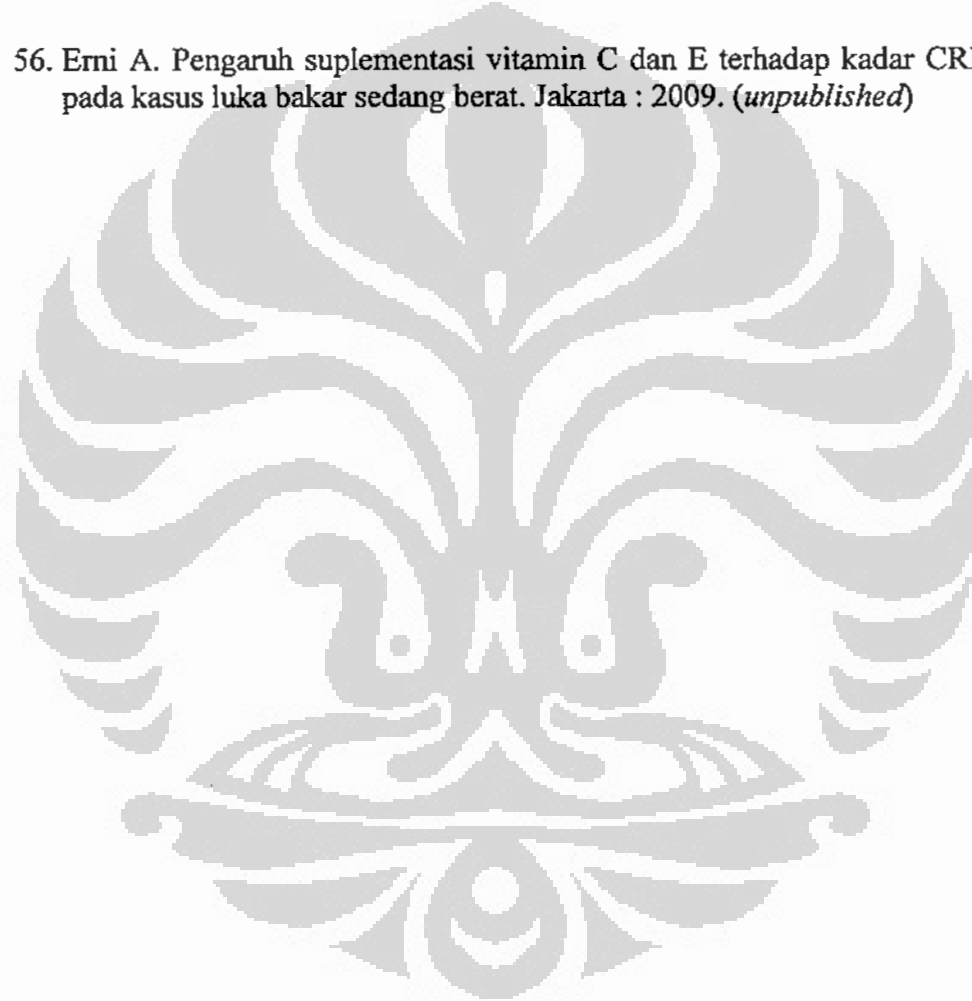
1. Moenadjat Y. SIRS, MODS dan sepsis pada kasus luka bakar. Dalam Moenadjat Y. *Luka bakar Pengetahuan klinik praktis*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. 2003;hal. 21-33.
2. Noer, MS. Penanganan luka bakar akut. Dalam: Noer MS, Saputro ID, Perdanakusuma DS. *Penanganan luka bakar*. Surabaya: Airlangga University Press, 2006.h.3-22.
3. Data pasien rawat inap Unit Pelayanan Khusus Luka Bakar (UPKLB) RS Dr Cipto Mangunkusumo (RSCM) Jakarta tahun 2007.
4. Moenadjat Y. *Luka Bakar Masalah dan Tatalaksana*. Ed.4. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. 2009.
5. Sypniewska J, Lacny Z, Puchata J, Szyszka K, Gajewski P. Oxidative stress in burnt children. *Advances in Medical Sciences*. 2006;51.
6. Winarsi H. *Antioksidan alami dan radikal bebas*. Yogyakarta: Kanisius, 2007.
7. Ritter C, Andrades M, Guerreiro M, Zavaschi L, Gelain DP, Souza LF, et all. Plasma oxidative parameters and mortality in patients with severe burn injury. *Intensive Care Med*. 2003; 29:1380-83.
8. Maghit MB, Goudable J, Steghens JP, Bouchard C, Gueugniaud PY, Petit P, et all. Time course of oxidative stress after major burns. *Intensive care med*. 2000;26:800-3.
9. Al-Jawad dkk FH, Sahib AS, Al-Kaisy dkk AA. Role of antioxidant in the treatment of burn lesions. *Annals of Burn and Fire Disasters*. 2008;1: 186-91.
10. Abelro D. Oxygen is a toxic gas-an Introduction to Oxygen Toxicity and Reactive Species. In Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford, new York. 2007. p 1-29.
11. Al Kaisy AA, Sahib S. Role of the antioxidant effect of vitamin E with vitamin C and topical povidone iodine ointment in the treatment of burns. *Annals of Burns and Fire Disasters*. 2005;18:1-19.
12. Hunt JI, Purdue G, Zbar RIS. Burns: acute burns, burn surgery, and postburn reconstruction. *SPRS* 2000;9:1-29.
13. Visser J, Labadarios D. Metabolic and nutritional consequences on acute phase response. *S Aft J Clin Nutr* 2002;15:75-94.

14. Bulger EM, Maier RV. Anti.oxidant in Critical Illness. *Arch Surg.* 2001; 136:1206-7.
15. Moenadjat Y. *Resusitasi (Dasar-dasar Luka Bakar Fase Akut)*. Jakarta: Asosiasi Luka Bakar Indonesia, 2005.
16. Dries DJ. Management of burn injuries – recent developments in resuscitation, infection control and outcomes research. *Scandinavian Journal of Trauma.* 2009;1-13.
17. http://www.gmvirtual.com/images/antioxidant_diag.gif diakses pada tanggal 3 Juli 2009
18. Marks DB, Marks AD, Smith CM. Metabolisme Oksigen dan Toksisitas Oksigen. Dalam Suyono J, Sadikin V, Mandera L (eds) *Biokimia Kedokteran Dasar, Sebuah pendekatan klinis*. EGC, Jakarta, Hal.321-34.
19. Zang Q, Maass DL, White J, Horton JW. Cardiac mitochondrial damage and loss of ROS defense after burn injury: the beneficial effects of antioxidant therapy. *J Appl Physiol*, 2007: 102; 103-112
20. Hidajat B. *The Role of Antioxidant in Children*. Surabaya, 2005.
21. Hermes-Lima M. Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals. In Storey KB (eds) *Functional Metabolism, Regulation and Adaptation*. Willey-Liss, New Jersey, 2004; p. 319-68.
22. Prelack K, Dylewski M, Sheridan RL. Practical guidelines for nutritional of burn injury and recovery, review. *J Burn*, 2007; 33:14-24.
23. Prins A, Nutritional management of the burn patient., Review. *S Afr J Clin Nutr.* 2009; 22(1).
24. Oetoro S, Permadhi I, Witjaksono F. Perubahan metabolisme pada luka bakar. Dalam: Moenadjat Y, editor. *Luka bakar, Pengetahuan klinis praktis*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 2003; p.94-99.
25. Moenadjat,Y. Evaluasi dan tatalaksana nutrisi. Dalam: Moenadjat,Y. *Petunjuk praktis penatalaksanaan luka bakar*. Jakarta: Asosiasi Luka Bakar Indonesia, 2005.hal.48-60.
26. Oetoro S. Pengaruh Pemberian Nutrisi Enteral Dini Terhadap Stres Metabolisme Kasus luka bakar di Unit Luka Bakar RSUPN Cipto Mangunkusumo Tahun 1999-2000. Tesis Program Pasca Sarjana Ilmu Gizi Klinik FKUI, 15 Maret 2001.

27. Levine M, Padayatty S, Wang Y, Corpe CP, Lee J, et al. Vitamin C. In Stipanuk MH. *Biochemical, Physiological, & Molecular Aspect of Human Nutrition, second edition*. Saunders Elsevier. Missouri, 2000. p. 700-796.
28. Ball GFM. *Vitamins in foods, analysis, bioavailability, and stability*. CRC. Boca raton 2006. p 289-308
29. Biesalski HK, Grimm P. *Pocket Atlas of Nutrition*. New York: Thieme Stuttgart, 2006.
30. Grooper SS, Smith JL, Groff JU. *Advanced Nutrition and human metabolism, ed. 4*. USA, Thompson Wadsworth, 2004. P260-275.
31. http://www.bcrionline.org/research/vitaminc/ivc_cancer_fig1.jpg diakses pada tanggal 3 Juli 2009.
32. Gibson RS. *Principles of Nutritional Assesment, 2nd ed*. New York :Oxford University Press. 2005.
33. Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi 2004. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Angka Kecukupan Gizi Indonesia (Rata-rata per orang Per Hari)*. 2004.
34. Demling RH, Seigne P. Metabolic management of patients with severe burns. *World J. Surg*. 2000;24:673-80.
35. Tanaka H, Matsuda T, Miyagantani Y, Yukioka T, Matsuda H, Shimazaki S. Reduction of resuscitation fluid volumes in severely burned patients using ascorbic acid administration. *Arch Surg*. 2000; 135: 326-331.
36. Gallagher ML. The nutrients and their metabolism. In Mahan LK, Escott-Stump S (eds). *Modern nutrition Therapy*, 12th ed. Elvesier, 2008.
37. Parker RS. Vitamin E. In Stipanuk MH. *Biochemical, Physiological, & Molecular Aspect of Human Nutrition, second edition*. Saunders Elsevier. Missouri, 2000. p. 700-796.
38. Grooper SS, Smith JL, Groff JU *Advanced Nutrition and human metabolism, ed. 4*. USA, Thompson Wadsworth. 2004. P352-359.
39. Bender DA, Mayes PA. Vitamins and Minerals. Dalam Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Illustrated Biochemistry*, edisi 26. New York: McGraw-Hill, 2003. hal 481-97.
40. Ball GFM. *Vitamins in foods, analysis, bioavailability, and stability*. CRC. Boca raton 2006. P119-136

41. [http://www.nutrition4health.org/nohanews/Images/Vit E Working.jpg](http://www.nutrition4health.org/nohanews/Images/Vit_E_Working.jpg)
diunduh pada tanggal 3 Juli 2009
42. Traber MG. Vitamin E. In Shills ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ. *Modern Nutrition in health and disease, 10th ed.* Philadelphia:Lippicott Williams & Wilkins. 2006. p396-411.
43. Gallagher ML. The nutrients and their metabolism. In Mahan LK, Escott-Stump S. *Krause's food & Nutrition Therapy, edition 12.* Saunders Elsevier, Missouri. 2008. P78-80.
44. Reth M. Antioxidant defences: endogenous and diet derived. In Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine.* Oxford, New York. 2007. P110-130.
45. Wu G, Fang Y, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. *J Nutr*, 2004; 134:489-492
46. Marks DB, Marks AD, Smith CM. Pencernaan Protein dan Penyerapan Asam Amino. Dalam Suyono J, Sadikin V, Mandera L (eds) *Biokimia Kedokteran Dasar, Sebuah pendekatan klinis.* EGC, Jakarta, Hal.559-65.
47. Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto SH. Perkiraan besar sampel. Dalam Sastroasmoro S, Ismael S (eds) *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*, ed.3, CV Sagung Seto, Jakarta, 2008; hal. 302-30.
48. WHO/IASO/IOTF. The Asia-Pacific perspective: redefining obesity and its treatment. Health Communications Australia: Melbourne, 2000.
49. Ellman, George L. Tissue Sulfhydryl Groups. *Archieves of Biochemistry and Biophysics*; 1959; 82: 70-77.
50. J.G. Erhardt, H. Mack, U. Sobeck, H.K. Biesalski. (2002). B-carotene and α -tocopherol concentration and antioxidant status in bucal mucosal cell and plasma after oral supplementation. *Br. J. Nutr.* 2002, May : 87 (5): 471-5.
51. Kudsk KA, Sacks GS. Nutrition in the care of patient with surgery, trauma, and sepsis. In: Shills ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, eds. *Modern Nutrition in Health and Disease, 10th ed.* Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. P.1414-35.
52. Jeschke MG, Mlcak R, Finnerty CC, Norbury WB, Gauglitz GG, Kulp GA, et al. Burn size determines the inflammatory and hypermetabolic response. *Critical care*, 2007;11:1-11.

53. Witjaksono F. Pengaruh Pemberian Nutrisi Enteral Dini Terhadap Status Protein Kasus luka bakar di Unit Luka Bakar RSUPN Cipto Mangunkusumo Tahun 1999-2000. Tesis Program Pasca Sarjana Ilmu Gizi Klinik FKUI, 15 Maret 2001.
54. Puspasari M. *Kadar glutathion dan malondealdehyd plasma darah mahasiswa Universitas Negeri Jakarta*. Jakarta:2005.
55. Alfara LD. Pengaruh suplementasi vitamin C dan E terhadap kadar MDA plasma pada kasus luka bakar sedang berat. Jakarta : 2009. (*unpublished*)
56. Erni A. Pengaruh suplementasi vitamin C dan E terhadap kadar CRP serum pada kasus luka bakar sedang berat. Jakarta : 2009. (*unpublished*)



THE EFFECT OF VITAMIN C AND E SUPPLEMENTATION ON LEVEL OF PLASMA GSH OF MODERATE AND SEVERE BURN

Haryono MW, Lestiani L, Moenadjat Y

ABSTRACT

The aimed of the study is to assess the levels of GSH after supplementation of vitamin C 1000 mg iv and 400 mg vitamin E orally for four consecutive days on a moderate to severe burns. This experimental studies with one group pre-post test involved 18-59% years aged patients with moderate to severe burns less than 60%. From 16 cases required the criteria, 12 cases as the subject of research accordance to the expected sample. The most causes of burns is fire (75%) and most of subjects have a normal BMI (67%) with average $22.04 \pm 1.89 \text{ kg/m}^2$. Median value of vitamin C levels before supplementation was 17.79 (10.16-32.88) $\mu\text{mol/L}$ and after supplementation was 18.33 (9.10-37.02) $\mu\text{mol/L}$ ($p= 0.239$). Average value of serum vitamin E levels increased significantly, which are $9.06 \pm 1.56 \mu\text{mol/L}$ before supplementation and $15.50 (6.28-27.17) \mu\text{mol/L}$ after supplementation ($p= 0.019$). Median value and range of plasma GSH levels before supplementation was $1.76 \pm 0.36 \text{ mmol/L}$. Median value of GSH levels after supplementation was 1.07 (3.06-5.47) mmol/L . This is show that the supplementation of vitamin C and vitamin E may increased GSH levels significantly ($p = 0.002$). There were no significant differences in changes in levels of vitamin C, vitamin E, and GSH before and after treatment among the study subjects with moderate and severe burns.

Keywords: moderate and severe burns, vitamin C, vitamin E, plasma GSH, oxidative stress.

INTRODUCTION

Burn injury is one of major trauma with high morbidity and mortality.¹ The circulation imbalance of acute phase may causes tissue and cellular hypoxia which is not treated will lead oxidative stress.^{1,2} Oxidative stress and organ dysfunctions may cause organ dysfunction and death.^{3,4} Oxidative stress associated with decreased of antioxidant levels and required exogenous antioxidants.^{3,5}

Vitamin C and vitamin E have an important role as an antioxidant in the body where they worked sinergis in inhibiting the oxidation, especially of cell membranes.^{6,7,8} Ascorbic acid can reduce lipid peroxides and then produce dehidroaskorbat.⁸ Vitamin E reduces lipid radicals or radical peroxil and then produced tocopherol radical.⁷ Tocopherol radical is converted back to α -tocopherol by ascorbic acid and produce dehidroaskorbat. Dehidroaskorbat formed is converted back to ascorbate by GSH which catalyzed by dehidroaskorbat reductase. GSH is required to reduce hydrogen peroxide to form H_2O , so that the formation of hydroxyl radicals can be prevented.^{9,10} In conditions of oxidative stress is increased as in the case of burns, the need for vitamin C and vitamin E for the body increased while the intake decreased, so the deficiency may occur.^{3,11,12}

This experimental studies with one group pre-post test is aimed to assess the levels of GSH after supplementation of vitamin C 1000 mg iv and 400 mg

vitamin E orally for four consecutive days on a moderate to severe burns, which aged 18-59 years at UPKLB RSCM Jakarta. This study has been approved by The Committee of The Medical Research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia.

METHODS

Subjects

The study was carried out at UPKLB RSCM Jakarta in July 2009 to September 2009. Recruitment of subjects conducted in consecutive sampling in all cases of burns which treated and meet the research criteria. Subjects are given supplements of vitamin C 1000 mg iv and 400 mg of vitamin E orally or enteral for four consecutive days. For cases that drop out, subject was taken again until the number of samples collected.

From 22 cases treated, there were 16 cases that meet the study criteria. Four of them dropped out with the cause of death, lysis of blood sample, or receive other antioxidant supplementation. At the end of the study there were 12 cases as the subject of research accordance to the expected sample.

Study measurement

Data were acquired from interviews, medical records, anthropometric measurements, and dietary assessment using fourday food records and analysis with software program of nutrisurvey 2005. Blood samples was carried out at day-1 and day-5 (before and after supplementations). Laboratory test for serum vitamin C was measured using spectrophotometry, serum vitamin E was measured using High Performance Liquid Chromatography (HPLC), and plasma GSH was measured using spectrophotometry from Ellman methode.^{11,13,14}

Statistical Analysis

Statistical analysis was carried out using SPSS version 11.5 software. For data which are normally distributed presented as mean \pm standard deviation, otherwise data were presented as median (minimal-maximum). Numerical data of two groups in pairs was analysis with parametric statistical tests (paired t-test) if the data normally distributed and otherwise the data analysis with non-parametric statistical tests (Wilcoxon). For unpaired data were analysis using t-test if the data normally distributed and Mann-Whitney test if data not normally distributed. The p value less than 0.05 was used to determine significant difference.

RESULT

Of the 12 research subjects with average age 33.50 (18-55) years, has balance distribution of gender and degree of burns which are six men, six women and six men with moderate burns, six people with severe burns. The most causes of burns is flame (75%). Most of subjects have a normal BMI (67%) with average $22.04 \pm 1.89 \text{ kg/m}^2$. Levels of SGOT, SGPT, urea, and creatinine in the subjects before treatment were normal. Time average of hospital admission is 11.50 (1.00-24.00) hours post-trauma.

Average value of the energy intake of the first day of the study was 1501.50 (451.70-2192.60) kkal and on day four was 1832.09 ± 527.05 kkal. The average intake for four consecutive days represent a gradual increase. Average of percentage intake of energy needs (using the *Harris Benedict* formula) was $62.34 \pm 26.39\%$ on the first day and 74.79 on day four was $74.79 \pm 26.93\%$. Average of

protein needs of the first day was 112.97 ± 16.08 g and the fourth day was 109.98 ± 16.05 g. decreased significantly. Change of the percentage intake of energy and protein requirements on the first day and the fourth was not significantly different.

The value of vitamin C intake of the study is 1023.20 (1000.00-1064.00) mg on the first day, and 1019.90 (1000.00-1124.00) mg on the fourth day, $p = 0.002$. Intake of vitamin C is still below the requirements of Demling recommendations.²⁰ From the paired t-tests found, no significant differences between intake of vitamin C on the moderate and severe burns ($p = 0.181$). The value of vitamin E intake of the first day of the study was 400.05 (400.00-401.00) mg, and on the fourth day was 400.00 (400.00-404.40) mg. Intake of vitamin E has reached the appropriate of Demling recommendations. Percentage intake of vitamins C and E requirements on the first day and the fourth was not significantly different.

Table 1. Requirements, intake, and the percentage intake of total energy requirements, protein, vitamin C, and vitamin E (n = 12)

Variable	Day 1	Day 4	p
Energy			
Requirements (kcal)	2509.00±584.04 ^a	2527.82±577.25 ^a	0.369 ^t
Intake (kcal)	1501.50(451.70-2192.60) ^b	1832.09±527.05 ^a	0.158 ^w
Intake/Requirements (%)	62.34±26.39 ^a	74.79±26.93 ^a	0.210 ^t
Protein			
Requirements (g)	112.97±16.08 ^a	109.98±16.05 ^a	0.000 ^{*t}
Intake (g)	70.00(17.90-92.00) ^b	72.95±18.48 ^a	0.248 ^w
Intake/Requirements (%)	60.68(14.92-79.31) ^b	67.64±19.43 ^a	0.209 ^w
Intake of total energy requirements (%)	10.52 (3.26-18.58) ^b	11.13 (6.37-19.30) ^b	0.328 ^w
Vitamin C			
Requirements (mg)	2000	2000	
Intake (mg)	1023.20(1000.00-1064.00) ^b	1019.90(1000.00-1124.00) ^b	0.002 ^{*w}
Intake/Requirements (%)	51.16(50.00-53.20) ^b	50.99(50.00-56.20) ^b	0.929 ^w
Vitamin E			
Requirements (mg)	400	400	
Intake (mg)	400.05(400.00-401.00) ^b	400.00(400.00-404.40) ^b	0.619 ^w
Intake/Requirements (%)	100.01(100.00-100.25) ^b	100.00(100.00-101.10) ^b	0.619 ^w

Average of vitamin C levels before supplementation was 17.79 (10.16-32.88) $\mu\text{mol/L}$ and after supplementation was 18.33 (9.10-37.02) $\mu\text{mol/L}$ ($p = 0.239$). Levels of vitamin C before supplementation were in the low category according to NHANES III, and after supplementation almost reached the normal category. Average of serum vitamin E levels increased significantly, which are 9.06 ± 1.56 $\mu\text{mol/L}$ before supplementation and 15.50 (6.28-27.17) $\mu\text{mol/L}$ after supplementation ($p = 0.019$). Levels of vitamin E before and after supplementation according to NHANES III was still low.²² Median value and range of plasma GSH levels before supplementation was 0.55 (0.36-0.68) mmol/L. Median value of

GSH levels after supplementation was 1.07 (3.06-5.47) mmol/L. The supplementation may increased GSH levels significantly ($p = 0.002$).

Table 2. Levels of vitamin C, E, and GSH before and after treatment

Variable	Day 1	Day 4	p
Vitamin C ($\mu\text{mol/L}$)	17.79 (10.16-32.88) ^b	18.33 (9.10-37.02) ^b	0.239 ^w
Vitamin E ($\mu\text{mol/L}$)	9.06 \pm 1.56 ^a	15.50 (6.28-27.17) ^b	0.019 ^{*,w}
GSH (mmol/L)	1.76 \pm 0.36 ^a	3.48 (3.06-5.47) ^b	0.002 ^{*,w}

There were no significant differences in changes in levels of vitamin C, vitamin E, and GSH before and after treatment among the study subjects with moderate and severe burns.

DISCUSSION

Most of the research subjects (67%) had a normal BMI. Nutritional status is a factor of burn cases that could determine the disease prognosis. Metabolic disturbance causes the body's energy reserves are not sufficient, so if this process occurs in cases of burns with poor nutritional status will aggravate the prognosis.^{2,15,16} BMI calculation to assess nutritional status in burn cases is not appropriate, especially in the phase acute. Weight measurement values can be influenced by edem that achieve maximum value within 18 hours after trauma, which the resorption process begins in 24 hours and within one week left until 25%.⁴ In the early phase of burn cases, weight measurement and height is necessary to assess the caloric needs per day.¹⁵

This research subject admission to the hospital much longer than studies of Kaisy et al.¹⁷ This indicates there are limitations handling emergency cases to get therapy. When compared with developed countries, emergency cases get first aid within 10-15 minutes.⁴ Research of Maghit et al on the subject of admission to the hospital less than 12 hours showed a decline in the levels of vitamins C and E in the case burns,⁵ while the subject of this research can be reached 24 hours after trauma may decrease levels of vitamin C and E on the subject of this study if not supplemented of vitamin C and vitamin E.

From the intake analysis carried out with the food record methods, there were no significant differences in energy intake of the first day and the day-to-four ($p = 0.158$). Percentage intake of increased energy demand is not significant ($p > 0.05$). This is consistent with the research of Witjaksono and Oetoro that the first three days of intake much less because of gastrointestinal intolerance occurs, so that the objective of providing nutrition were for gut feeding.^{18,19} Calculation of energy needs by *Harris Benedict* formula supplemented with physical activity and risk factors may caused overfeeding.² This may overcome by providing nutrients slowly and gradually to meet the energy needs per day. The total energy intake in this study subjects increased gradually during four consecutive days. Requirements of protein in this study decreased significantly on day four, while the percentage increased intake to needs is not meaningful. Percentage increase in intake of the need not meet the need of protein per day and can not say adequate because it only reached 1.11 g / kgBB on the first day and 1.32 g / kgBB on the

fourth day, whereas the protein intake in burns cases adequate if achieve 1,5-2,15 g/kgBB/day. This is consistent with research conducted Witjaksono in the same research center with different study designs was found that the treatment group given early enteral nutrition, protein intake increased from the first day of treatment until the fourth day and the percentage intake of protein requirement is lower.¹⁹ Percentase of protein intake to the total energy requirements within the category of a 10.52 (3,26-18,98)% on the first day and 11.13 (6,37-19,30)% on day four, but the increase was not significant.

The requirements of vitamin C and E in cases of burns of the subjects using Demling recommendations, but actually there is no accurate data for the western population and the population in Indonesia to determine the requirements of vitamins C and E in cases of burns.²⁰ Some of the suggested recommendations for vitamins C and E is the range of five to ten times the value RDA.^{16,20} When using RDA, the intake of vitamins C and E on the subject of this research is more than need per day, but these values is the need for healthy people. RDA values of vitamin C and E were same with AKG.²¹ If multiplied by ten times of vitamin C and E intake of this research has fulfilled the requirements for burns cases and still well below the upper limit of the vitamins.²¹ Most of vitamin C and vitamin E intake on the research for four consecutive days were get from supplementation, whereas the intake from food sources was not acheive the requirement per day for burns cases even for healthy people based on RDA .

Levels of vitamin C were increased after treatment but not significant. These data indicate levels of vitamin C before and after treatment were in the low category according to the NHANES III.²² According to the categories in the NHANES, serum levels of vitamin E still in low limit,²² but this shows that vitamin E supplementation may increase serum levels of vitamin E significantly. Cohort study of Maghit et al on subjects with burns over 30% by using HPLC methods for the examination of levels of vitamin C and vitamin E showed plasma levels of vitamin C on the first day of $14.6 \pm 6.8 \mu\text{mol} / \text{L}$ and serum levels of vitamin E $5, 7 \pm 3.1 \mu\text{mol}/\text{L}$.⁵ When compared with Maghit results, levels of vitamin C and vitamin E on the first day of this study is higher. This is may due to differences in methods, and may caused by a broad range of research burns on Maghit (32-93%) which were more likely a greater oxidative stress that affects the body's levels of antioxidants, including vitamin C and vitamin E.

GSH levels before treatment in the subjects of this study higher compared with serum levels of GSH in the study of Al-Jawad and plasma GSH levels in the study of Al-Kaisy.^{12,17} This may be caused by differences in examination methods GSH in this study and research by Al-Jawad and Al-Kaisy, and may be caused by differences of population. The research on levels of GSH have ever done in Indonesia healthy population aged 18-25 years was $942.65 \pm 230.98 \text{ nmol} / \text{mL}$ (equivalent to $0.23 \pm 0.94 \text{ mmol} / \text{L}$).²³ This value is higher than the control group research al-Jawad et al and Al-Kaisy et al conducted in healthy subjects, ie $0.04 \pm 0.24 \text{ mmol} / \text{L}$ and $0.13 \pm 0.02 \text{ mmol}/\text{L}$.^{12,17} GSH levels before treatment and after treatment in this study increased significantly. Research of Al-Kaisy et al in the case of burns 10-80% showed the same results that there was significant increase in GSH levels on days two and four after supplementations of 500 mg vitamin C orally and vitamin E 400 mg orally.¹⁷ Similar results obtained by Al-Jawad et al on the subject of burns 14-40%, which gives the same supplementation studies of

Al-Kaisy et al, there is significant increase in GSH levels on day three and seven after treatment.¹² Percentage increase of GSH (105%) in this study was greater than the study of Al-Kaisy et al (96%) and Al-Jawad et al (87%).^{12,17} This was probably due to dose of vitamin C in this study (1000 mg) compared to the study of Al-Kaisy et al and Al-Jawad et al which was use 500 mg of vitamin C.

Circulatory disturbances in the early phase of burns may cause hypoxia and imbalance between the production of free radicals and endogenous antioxidants. For that we need exogenous supplementation of antioxidants like vitamins C and E. Vitamin C is water soluble antioxidant and vitamin E as a fat soluble antioxidant. A combination of both is often used as working synergistically. Ascorbic acid may reduce lipid peroxides and produce dehidroaskorbat. Tocopherol radical is converted back to α -tocopherol by ascorbic acid and produce dehidroaskorbat. Dehidroaskorbat is converted back to ascorbate by GSH catalyzed by dehidroaskorbat reductase.^{7,8}

REFERENCES

1. Moenadjat Y. SIRS, MODS dan sepsis pada kasus luka bakar. Dalam Moenadjat Y. *Luka bakar Pengetahuan klinik praktis*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. 2003;hal. 21-33.
2. Moenadjat Y. *Luka Bakar Masalah dan Tatalaksana*. Ed.4. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. 2009.
3. Sypniewska J, Lacny Z, Puchata J, Szyszka K, Gajewski P. Oxidative stress in burnt children. *Advances in Medical Sciences*. 2006;51.
4. Winarsi H. *Antioksidan alami dan radikal bebas*. Yogyakarta: Kanisius, 2007.
5. Maghit MB, Goudable J, Steghens JP, Bouchard C, Gueugniaud PY, Petit P, et al. Time course of oxidative stress after major burns. *Intensive care med*. 2000;26:800-3.
6. Bulger EM, Maier RV. Anti.oxidant in Critical Illness. *Arch Surg*. 2001; 136:1206-7.
7. Reth M. Antioxidant defences: endogenous and diet derived. In Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford, New York. 2007. P110-130.
8. Grooper SS, Smith JL, Groff JU. *Advanced Nutrition and human metabolism, ed. 4*. USA, Thompson Wadsworth. 2004. P260-275.
9. Parker RS. Vitamin E. In Stipanuk MH. *Biochemical, Physiological, & Molecular Aspect of Human Nutrition, second edition*. Saunders Elsevier. Missouri, 2000. p. 700-796.
10. Ball GFM. *Vitamins in foods, analysis, bioavailability, and stability*. CRC. Boca raton 2006. P119-136
11. Ritter C, Andrades M, Guerreiro M, Zavaschi L, Gelain DP, Souza LF, et al. Plasma oxidative parameters and mortality in patients with severe burn injury. *Intensive Care Med*. 2003; 29:1380-83.
12. Al-Jawad dkk FH, Sahib AS, Al-Kaisy dkk AA. Role of antioxidant in the treatment of burn lesions. *Annals of Burn and Fire Disasters*. 2008;1: 186-91.
13. Wu G, Fang Y, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. *J Nutr*, 2004: 134:489-492