

EFEK JUS BELIMBING (*Averrhoa carambola* Linn.) DALAM MENINGKATKAN PEMBENTUKAN KOLAGEN PADA SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS *WISTAR*

Nur Permatasari*, Diah**, Merlyn Putri Handayani***

*Departemen Oral Biologi PSPDG Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

**Departemen Periodonsia PSPDG Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

***Mahasiswa PSPDG Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Email: permatasarirazaq@ymail.com

Abstrak

Pencabutan gigi merupakan tindakan yang umum dilakukan dalam praktik kedokteran gigi. Dalam proses penyembuhannya dapat menimbulkan komplikasi ringan maupun berat. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa jus buah belimbing manis dapat membantu proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi dengan cara meningkatkan pembentukan kolagen. Studi eksperimental menggunakan *Randomized Post Test Only Control Group Design* dilakukan terhadap hewan coba tikus *strain* wistar jantan. Sampel dipilih dengan cara *random sampling*, dibagi dalam empat kelompok, yaitu kelompok "kontrol" (n=5), kelompok perlakuan "dosis 5ml/kgBB" (n=5), kelompok perlakuan "dosis 10ml/kgBB" (n=5), dan kelompok perlakuan "dosis 20ml/kgBB" (n=5). Variabel yang diukur dalam penelitian ini adalah pembentukan kolagen yang dinilai dari distribusi kolagen. Distribusi kolagen dilihat berdasarkan kriteria penilaian sebaran dan kepadatan serabut kolagen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna pembentukan kolagen antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan hasil uji *Kruskall Wallis* $p=0.940$ ($p>0.05$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah pembentukan kolagen pada soket gigi kelompok tikus *strain* wistar jantan pasca pencabutan gigi dengan pemberian jus buah belimbing manis tidak mengalami peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol. Berdasarkan hasil penelitian ini, disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut guna mengetahui dosis efektif jus belimbing manis yang dapat digunakan untuk meningkatkan pembentukan kolagen pasca pencabutan gigi.

Kata Kunci: Jus buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn.), kolagen, pencabutan gigi, tikus *strain* wistar jantan

Abstract

Tooth extraction is a common treatment in dentistry which the healing process could induce slight or severe complications. This research is aimed to prove that star fruit juice could help the healing process after tooth extraction by increasing the formation of collagen. Experimental study using Randomized Post Test Only Control Group Design conducted onto male rat (Wistar Strain). The samples are selected by random sampling to be divided into four groups, that is "control" group (n=5), treatment "5 ml/weight dose" group (n=5), treatment "10 ml/weight dose" group (n=5), and treatment "20 ml/weight dose" group (n=5). The variable measured is the formation of collagen using the distribution of collagen that is measured based on dissemination and density score of collagen. The result of this research indicate that the formation of collagen has no significant differences between control group and treatment group with the result of Kruskal Wallis $p=0.940$ ($p>0.05$). The conclusion is collagen's formation on male rat (Wistar Strain) after tooth extraction that be given starfruit juice has no significant rising than control group. There is suggestion to do more research to know effective dose that can increase the formation of collagen after tooth extraction.

Keywords: Star fruit juice (*Averrhoa carambola* Linn.), collagen, tooth extraction, male rat (*Wistar Strain*)

PENDAHULUAN

Latar Belakang. Dalam praktik kedokteran gigi, pencabutan gigi merupakan tindakan yang umum dilakukan. Luka pasca pencabutan gigi dapat sembuh dengan mudah namun tidak jarang juga mengalami komplikasi yang dapat menghambat proses penyembuhan.¹ Komplikasi ringan yang sering terjadi yaitu pembengkakan, nyeri, dan trismus, sedangkan komplikasi berat yang jarang terjadi berupa parestesia dan fraktur rahang.² Oleh karena itu, proses penyembuhan yang lebih cepat sangat diharapkan untuk meminimalisir komplikasi yang terjadi pasca pencabutan gigi.

Proses penyembuhan luka terbagi menjadi tiga tahap yaitu tahap inflamasi, tahap fibroplastik, dan tahap remodeling.³ Kolagen diperlukan untuk proses penyembuhan jaringan yang mengalami kerusakan karena trombosit akan melekat pada matriks melalui intergrin yang berikatan dengan kolagen dan laminin.⁴ Kolagen juga diperlukan untuk menambah kekuatan pada jaringan setelah mengalami luka.³

Salah satu bahan alami yang diduga dapat membantu proses penyembuhan luka adalah buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn.). Senyawa kimia yang terkandung dalam buah ini antara lain senyawa golongan flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida, protein, lemak, kalsium, fosfor, zat besi serta vitamin A, B1 dan vitamin C.⁵ Saponin dalam buah belimbing manis dapat meningkatkan kemampuan reseptor TGF- β yang terdapat pada fibroblas untuk berikatan dengan TGF- β . TGF- β merupakan faktor pertumbuhan yang

diperlukan fibroblas dalam mensintesis kolagen⁶, sedangkan vitamin C memiliki fungsi utama dalam sintesis kolagen, proteoglikan, zat organik matriks antarsel lain misalnya pada tulang, gigi, dan endotel kapiler.⁷ Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai efek jus buah belimbing manis dalam meningkatkan pembentukan kolagen pada soket tikus putih (*Rattus novergicus strain wistar*) jantan pasca pencabutan gigi.

Hipotesis Penelitian. Jus buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn.) dapat meningkatkan pembentukan kolagen pada soket tikus putih (*Rattus novergicus strain wistar*) jantan pasca pencabutan gigi.

Tujuan Penelitian. Untuk menentukan efek jus buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn.) dalam meningkatkan pembentukan kolagen pada soket tikus putih (*Rattus novergicus strain wistar*) jantan pasca pencabutan gigi.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Patologi Anatomi, dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Rancangan Penelitian. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan metode *Randomized Post Test Only Control Group Design* dimana subyek dibagi menjadi 4 kelompok (A, B, C dan D) secara random. Tiap kelompok terdiri dari 5 tikus. Kelompok A adalah tikus tanpa

pemberian jus buah belimbing manis (kelompok kontrol) dan kelompok B, C, D (kelompok perlakuan) diberi jus buah belimbing manis dengan dosis 5 ml/kgBB, 10 ml/kgBB, dan 20 ml/kgBB *per oral* dengan sonde setiap hari sekali selama 5 hari. Kemudian dilakukan observasi dan perbandingan terhadap distribusi kepadatan kolagen pada soket gigi pasca pencabutan gigi pada masing-masing kelompok.

Prosedur Ekstraksi Gigi. Aklimatisasi hewan coba dilakukan selama 1-2 minggu kemudian dilakukan penimbangan berat badan hewan coba. Sebelum dilakukan pencabutan gigi insisivus kiri rahang bawah tikus *strain* wistar, dilakukan injeksi anestesi dengan menggunakan ketamin 1000mg/10ml. Setelah dilakukan pencabutan, hewan coba diberikan antibiotik *gentamicin* selama 3 hari dan analgesik *novalgine* selama satu hari dengan dosis masing-masing 0.3 ml.

Pembuatan Jus Buah Belimbing Manis. Pertama-tama dilakukan pemilahan terhadap buah belimbing manis yang akan digunakan. Buah belimbing manis dipotong-potong dengan pisau tanpa membuang kulit buah, biji dibuang dan dilakukan penghancuran buah dengan *juicer*. Selanjutnya akan didapatkan jus buah belimbing manis dengan konsentrasi 100%.

Pemberian Jus Buah Belimbing Manis. Pemberian pada kelompok A yaitu jus dengan dosis 5 ml/kgBB. Kelompok B diberikan jus dengan dosis 10 ml/kgBB dan kelompok C

dengan dosis jus 20 ml/kgBB secara *per oral* (p.o) dengan menggunakan spuit yang ujungnya dipasang sonde *gastric* sehingga dapat masuk ke mulut tikus hingga ke lambung. Pemberian dilakukan satu kali per hari selama 5 hari.

Pengambilan Sampel Jaringan.

Pengambilan sampel jaringan dilakukan pada hari ke-6 dengan menggunakan anestesi eter. Tikus dimasukkan ke dalam tabung kaca yang dasarnya terdapat kain yang sudah dibasahi dengan larutan eter kemudian ditutup rapat dan ditunggu sampai tikus mati. Sebelum didekapitasi dan diambil rahang bawahnya, konfirmasi kematian tikus harus dilakukan dengan cara melihat respirasinya. Apabila sudah tidak ada aktifitas respirasi, tikus disembelih menggunakan gunting bedah dan diambil rahang bawah dimana terdapat gigi yang sudah dicabut. Jasad tikus *strain* wistar kemudian dikuburkan secara layak.

Prosedur Pengambilan Data. Sampel dengan replikasi 2 potongan diletakkan dalam object glass. Pengamatan kolagen dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dan mikroskop digital Olympus dengan pembesaran 400 kali dan kemudian dibuat foto preparat. Sampel pada sediaan dibagi menjadi 5 lapang pandang dan kolagen dihitung di tiap lapang pandang. Pembentukan kolagen dinilai dari distribusi kolagen per lapang pandang pada sediaan preparat bekas pencabutan gigi tikus *strain* wistar. Distribusi kolagen dilihat berdasarkan kriteria penilaian sebaran dan kepadatan

serabut kolagen yang dikonversikan menjadi skor angka 0 sampai dengan 4 (semikuantitatif). Kriteria penilaian histologis dibuat berdasarkan sebaran dan kepadatan serabut kolagen, karena serabut kolagen dalam jaringan ikat adalah tidak beraturan. Penilaian dilakukan berdasarkan kriteria sebagai berikut:

- (-) : tidak tampak gambaran serabut kolagen
- (+) : serabut kolagen terlihat mengumpul tipis/sedikit sekali
- (++) : serabut kolagen terlihat menyebar tipis
- (+++): serabut kolagen terlihat menyebar tebal
- (++++): serabut kolagen terlihat mengumpul tebal.¹

Kategori tipis dan tebal ditentukan dengan melihat nilai median warna magenta (tampilan warna kolagen pada hasil scan preparat) melalui program Adobe Photoshop. Termasuk kategori tipis apabila nilai median magenta <100 tebal apabila ≥ 100 (Tesler, 1997). Kolagen dikatakan menyebar apabila kolagen terlihat dalam seluruh lapang pandang yang diamati. Sedangkan kolagen dikatakan mengumpul apabila kolagen hanya terdapat pada beberapa bagian dalam satu lapang pandang. Hasil penelitian yang diperoleh diubah dalam angka

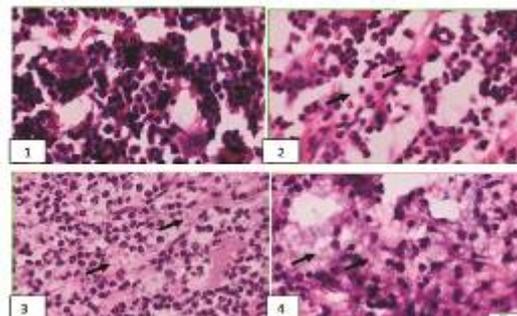
- (-) : 0
- (+) : 1
- (++) : 2
- (+++): 3
- (++++): 4¹

Banyaknya jumlah masing-masing skor kolagen tersebut kemudian dihitung per kelompok dan dimasukkan ke dalam tabel

Analisis Data. Hasil pengukuran distribusi kolagen pada tikus kontrol dan perlakuan dianalisa secara statistik dengan menggunakan program SPSS 16.0 for windows dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Uji yang digunakan adalah uji *Kruskal Wallis* dan uji korelasi *Spearman*.

HASIL PENELITIAN

Gambaran Mikroskopis. Sampel didapatkan dengan mengambil tulang mandibula hewan coba yaitu tikus *strain* wistar jantan kemudian diproses menjadi preparat HPA.



Gambar 1. Kolagen pada Soket Gigi Tikus dengan Pengecatan HE dan Perbesaran 400X Menggunakan Mikroskop Digital Dot Slide. Tanda Panah Berwarna Hitam Menunjukkan Kolagen
Keterangan:

- 1 = Kelompok A (tanpa pemberian jus buah belimbing manis)
- 2 = Kelompok B (pemberian jus buah belimbing manis dosis 5 ml/kgBB)
- 3 = Kelompok C (pemberian jus buah belimbing manis dosis 10 ml/kgBB)
- 4 = Kelompok D (pemberian jus buah belimbing manis dosis 20 ml/kgBB)

Tabel 1. Tabel Jumlah “Skoring” Distribusi Jaringan Kolagen Pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Berdasarkan Pemberian Tiga Dosis Jus Buah Belimbing Manis

	Skor 0 (jumlah lapang pandang)	Skor 1 (jumlah lapang pandang)	Skor 2 (jumlah lapang pandang)	Skor 3 (jumlah lapang pandang)	Skor 4 (jumlah lapang pandang)	Total Lapang Pandang
Kontrol	32	16	0	2	0	50
Dosis 5ml/kgBB	2	41	3	4	0	50
Dosis 10ml/kgBB	1	24	7	17	1	50
Dosis 20ml/kgBB	0	36	8	4	2	50

Gambar 1 menunjukkan gambaran kolagen pada tiap kelompok dan Tabel 1 menunjukkan, pada kelompok kontrol skor terbanyak adalah 0 yang dijumpai pada 32 lapang pandang (64%).

Sedangkan skor paling sedikit adalah 3 sebanyak 2 lapang pandang (4%). Pada kelompok perlakuan dengan dosis 5 ml/kgBB, skor terbanyak adalah 1 yang ditemukan pada 41 lapang pandang (82%) dan skor paling sedikit adalah 2 yang terlihat dalam 3 lapang pandang (6%).

Pada kelompok perlakuan dengan dosis 10 ml/kgBB, skor 1 merupakan skor dengan jumlah terbesar yaitu 24 lapang pandang (48%) dan skor terkecil yaitu 0 dan 4 sebanyak 1 lapang pandang (2%). Pada kelompok perlakuan dengan dosis 20 ml/kgBB ditemukan skor terbanyak adalah 1 dengan 36 lapang pandang (72%) dan skor terkecil adalah 4 sebanyak 2 lapang pandang (4%).

Uji *Kruskal Wallis*. Uji *Kruskal Wallis* bertujuan untuk mengetahui perbedaan peningkatan pembentukan kolagen antar kelompok. Dari hasil pengujian didapatkan bahwa nilai $p=0,940$ maka H_0 diterima sehingga dapat disimpulkan bahwa “tidak

terdapat perbedaan peningkatan pembentukan kolagen soket gigi antar kelompok”

Uji *Korelasi Spearman*. Uji ini bertujuan untuk menguji ada tidaknya hubungan serta arah hubungan dari dua variabel atau lebih. Hasil *Uji Spearman* menunjukkan bahwa nilai $p>0.05$

($p=0.600$) yang menunjukkan bahwa tidak ada korelasi yang signifikan antara dosis jus buah belimbing manis yang diberikan dengan peningkatan pembentukan kolagen.

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk menentukan efek jus buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn.) dalam meningkatkan proses pembentukan kolagen pada soket tikus putih (*Rattus novergicus strain wistar*) jantan pasca pencabutan gigi. Dari hasil pengamatan didapatkan tidak ada perbedaan distribusi kolagen yang signifikan antara kelompok tikus perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Uji korelasi juga menunjukkan bahwa tidak ada korelasi antara dosis jus buah belimbing manis yang diberikan dengan peningkatan distribusi kolagen.

Perbedaan yang tidak signifikan ini dapat disebabkan oleh pemberian dosis jus belimbing manis yang kurang sesuai. Pemilihan dosis 5 ml/kgBB, 10 ml/kgBB, dan 20 ml/kgBB didasarkan pada penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya oleh Setiadi Ranti dkk dimana dari penelitian tersebut terbukti bahwa pemberian perasan buah belimbing manis dengan takaran 5-20

ml/kgBB secara oral pada tikus, memberikan efek analgesik yang bermakna.⁹

Ada dua kemungkinan yang dapat timbul akibat pemberian dosis jus belimbing manis yang kurang sesuai. Kemungkinan pertama adalah dosis tersebut dapat memberikan efek sebagai analgesik namun tidak dapat memberikan efek yang signifikan dalam pembentukan kolagen akibat kurangnya jumlah saponin dan vitamin C dalam dosis tersebut untuk dapat meningkatkan pembentukan kolagen. Kurangnya jumlah saponin mengakibatkan kemampuan reseptor TGF- β pada fibroblas dalam menangkap keberadaan TGF- β tidak mengalami peningkatan dimana TGF- β diperlukan oleh fibroblas untuk berdiferensiasi menjadi kolagen sedangkan kurangnya vitamin C dapat mengganggu proses hidroksilasi dalam rangkaian proses sintesis kolagen. Hal tersebutlah yang kemungkinan dapat menyebabkan tidak ada perbedaan distribusi kolagen antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Kemungkinan kedua adalah kisaran dosis yang digunakan terlalu tinggi. Dalam penelitian ini, tidak dilakukan perhitungan terhadap besarnya kandungan saponin dalam jus buah belimbing manis sehingga tidak diketahui besarnya kandungan saponin dalam jus buah belimbing manis secara pasti. Beberapa kemungkinan yang dapat ditimbulkan oleh penggunaan dosis tinggi adalah:

1. Sesuai dengan penelitian yang pernah dilakukan oleh Kanzaki (1998), dimana pada penelitiannya terbukti bahwa saponin

dengan dosis 1-10 $\mu\text{g/ml}$ dapat membantu fibroblas dalam mensintesis fibronectin sedangkan penurunan sintesis fibronectin terjadi saat diberikan dosis saponin yang lebih tinggi yaitu 100-500 $\mu\text{g/ml}$. Fibronectin adalah glikoprotein multi fungsi yang salah satu fungsinya adalah berikatan dengan kolagen.

2. Kemungkinan lainnya adalah ini merupakan dosis toksik bagi saponin dimana saponin memiliki kemampuan untuk menstimulasi proses apoptosis. Hal ini sesuai dengan pernyataan¹⁰ dalam jurnalnya yang menyimpulkan bahwa sifat toksik yang dimiliki saponin dapat disebabkan oleh kemampuannya untuk menstimulasi proses apoptosis. Namun belum ada penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme pasti sifat toksik saponin. Kemampuan saponin dosis tinggi dalam menstimulasi proses apoptosis tersebut kemungkinan juga dapat menyebabkan kematian beberapa sel fibroblas sehingga kolagen yang disintesis menjadi berkurang.

3. Hal yang sama juga terbukti pada vitamin C. Penelitian lain menunjukkan bahwa vitamin C dosis tinggi dapat mengubah aktivitas metabolik sel endothel sehingga menghambat proliferasi sel dan angiogenesis.¹¹ Hal ini disebabkan karena dosis tinggi vitamin C akan menyebabkan level serum vitamin C meningkat sehingga akan diekskresikan oleh tubuh tanpa mengubah apapun.¹² Kemampuan vitamin C dosis tinggi dalam menghambat proliferasi sel tersebut yang kemungkinan dapat menghambat proliferasi sel fibroblas

sehingga kolagen yang dihasilkan ikut berkurang. Vitamin C dengan dosis yang terlalu tinggi juga mengakibatkan vitamin C hanya akan diekskresikan oleh tubuh tanpa memiliki efek apapun dalam tubuh termasuk efek dalam proses sintesis kolagen.

Jika mengacu pada teori, seharusnya terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan saponin yang terdapat di dalam jus buah belimbing manis. Peran saponin dalam biosintesis kolagen diuraikan melalui penelitian yang pernah dilakukan oleh Kanzaki (1998) dimana dalam penelitiannya senyawa saponin dapat meningkatkan kemampuan reseptor TGF- β dalam fibroblas sehingga kemampuan fibroblas dalam berproliferasi menjadi kolagen juga ikut meningkat. Terdapat beberapa kemungkinan mekanisme saponin dalam mengaktifkan jalur TGF- β . Kemungkinan yang pertama yaitu saponin dapat menstimulasi sintesis, sekresi, dan aktivasi TGF- β 1 di fibroblas. TGF- β 1 merupakan salah satu isoform TGF- β yang berfungsi untuk mengontrol pertumbuhan sel, proliferasi sel, diferensiasi sel, dan apoptosis.⁶

Kemungkinan yang kedua adalah saponin dapat mengubah ekspresi dari reseptor TGF- β pada fibroblas sehingga reseptor tersebut menjadi lebih peka terhadap keberadaan TGF- β . Kemungkinan terakhir adalah kemampuan saponin dalam memodifikasi sistem penghantaran sinyal post-reseptor dalam menangkap TGF- β .⁶ Selain saponin, kandungan lain dalam buah belimbing manis

yang seharusnya dapat turut berperan dalam peningkatan kepadatan kolagen adalah vitamin C. Pada manusia, vitamin C bertindak sebagai donor elektron pada delapan enzim berbeda. Tiga dari delapan enzim tersebut berperan dalam proses hidroksilasi. Reaksi ini menambah grup hidroksil ke asam amino prolin atau lisin pada molekul kolagen, sehingga menambah kestabilan struktur triple helix kolagen.¹³ Vitamin C juga terbukti menambah level RNA *messenger* prokolagen dan dibutuhkan untuk mengeluarkan molekul prokolagen keluar dari sel.¹⁴

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan ini, dapat disimpulkan bahwa hipotesis yaitu jus buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn.) dapat meningkatkan pembentukan kolagen pada soket tikus *strain* wistar jantan pasca pencabutan gigi tidak terbukti.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mawardi, H., Dalimi, L., Darmosumatro, S. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis Secara Aplikasi Lokal pada Proses Pembentukan Serabut Kolagen Pasca Pencabutan Gigi Marmot (Cavia cobaya)*. Sains Kesehatan, 2002, 15(2): 171-184.
2. Selimovic, E., Ibrahimagić-Šeper, L., Petričević, N., Nola-Fuchs, P. *Pain Relieve After Impacted Wisdom Teeth Extraction Dependent on The Drug Therapy*. Coll. Antropol, 35 (2011) 1: 133-136.
3. Peterson, L.J., Ellis, E., Hupp, J.R., Tucker, M.R. 2003. *Contemporary Oral*

- and Maxillofacial Surgery*. 4th Ed. Mosby: United State of America.
4. Ganong, W.F. 2005. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 22*. dr. Brahm U. Pendit (Penerjemah). 2008. Jakarta:EGC.
 5. Sukadana, M. *Senyawa Antibakteri Golongan Flavonoid dari Buah Belimbing Manis (Averrhoa carambola Linn L.)*. Jurnal Kimia, 2009, 3(2): 109-116.
 6. Kanzaki, T., Monsaki N., Shina, R., Saito, Y. *Role of Transsforming Growth Factor- β Pathway in the Mechanism of Wound Healing by Saponin from Ginseng Radix Rubra*. British Journal of Pharmacology (1998), 125:255-262.
 7. Syarif, et al. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
 8. Tesler, Scott. 1997. *CMYK Colour Charts*, (<http://www.customtattoos.net/cmyk.pdf>, diakses 11 Februari 2013).
 9. Soedibyo, B.R.A.M. 1998. *Alam Sumber Kesehatan Manfaat dan Kegunaan*. Jakarta: Balai Pustaka.
 10. Podolak, I., Galanty, A., Sobolewska, D. 2010. *Saponins as Cytotoxic Agents: A Review*. Phytochem Reviews, 2010, 9(3): 425–474
 11. Mikirova, N. A., Ichim, T.E., Riordan, N.H. *Anti-angiogenic Effect of High Doses of Ascorbic Acid*. Journal of Translational Medicine, 2008, (6):50
 12. Sari, R.K. 2012. *Vitamin dan Mineral*. (http://skp.unair.ac.id/repository/web-pdf/web_VITAMIN_dan_MINERAL_RATI_H_KUMALA_SARI.pdf)
 13. Padayatty, S.J., et al. *Vitamin C As An Antioxidant: Evaluation os Its Role In Disease Prevention*. Journal of the American College of Nutrition, 2003, 22(1): 18-35.
 14. Sharma, S.R., Poddar, R., Sen, P., Andrews J.T. *Effect of Vitamin C on Collagen Biosynthesis and Degree of Birefringence in Polarization Sensitive Optical Coherence Tomography (PS-OCT)*. African Journal of Biotechnology, 2008, 7(12): 2049-2054.