

Vitamin E dan Omega-3 Topikal Intraperitoneum Mencegah Adhesi Intraperitoneum Melalui Inhibisi Kadar Interleukin-1 β (IL-1 β) Cairan Peritoneum

(Vitamin E and Omega-3 Topical Intraperitoneum Preventing Intraperitoneum Adhesion Through Inhibition Of Peritoneum Fluid Interleukin-1 β (IL-1 β))

Willy Yulianto, Yuhantoro Budi Handoyo Sakti

Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Jl. Raya Dukuhwaluh Purwokerto 53182

ABSTRAK

Adhesi intraperitoneum paska laparotomi mengakibatkan obstruksi usus halus/ *small bowel obstruction* (SBO), infertilitas, serta nyeri kronik daerah pelvis. Sejumlah sitokin berperan dalam proses adhesi, diantaranya adalah IL-1 β . Tingginya kejadian adhesi peritoneum meningkatkan angka mortalitas dan morbiditas, sehingga banyak studi dilakukan untuk memecahkan permasalahan ini. Pemberian terapi *adjuvant* seperti penggunaan vitamin E sebagai antioksidan dan omega-3 sebagai antiinflamasi, dapat berperan sebagai salah satu agen antiadhesi yang ideal. Mengetahui efek pemberian kombinasi vitamin E dan omega-3 topikal terhadap kadar IL-1 β cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum pada tikus wistar yang dilakukan abrasi ileum. Penelitian eksperimental *post test control design*. Wistar jantan (n = 24) dilakukan abrasi ileum, dibagi menjadi 4 kelompok: K (kontrol), P1 (vitamin E), P2 (omega-3), P3 (kombinasi vitamin E dan omega-3) topikal intraperitoneum. Pada hari ke-14 akan dilakukan relaparotomi dan evaluasi derajat adhesi intraperitoneum, serta penghitungan kadar IL-1 β cairan peritoneum. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan uji beda *Mann-Whitney*. Uji *Spearman* digunakan untuk menganalisa korelasi derajat adhesi intraperitoneum dengan kadar IL-1 β . Derajat adhesi intraperitoneum dan kadar IL-1 β cairan peritoneum kelompok (P3) lebih rendah bermakna secara statistik ($p < 0,05$), jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (K) dan kelompok lainnya (P1 dan P2). Uji korelasi antara derajat adhesi intraperitoneum dengan kadar IL-1 β cairan peritoneum menunjukkan adanya korelasi positif kuat dengan $r = 0,574$ ($p < 0,05$). Pemberian kombinasi vitamin E dan omega-3 topikal intraperitoneum dapat menurunkan kadar interleukin-1 β cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tunggal.

Kata-kata Kunci: adhesi intraperitoneum, IL-1 β , vitamin E intraperitoneum, omega 3 intraperitoneum, abrasi ileum

ABSTRACT

Intra-surgical intraperitoneal adhesion results injury to the tissue surface at 67-93%, small bowel obstruction (SBO), infertility and chronic pain in the pelvic area. A number of cytokines play a role in the adhesion process, including IL-1 β . The high incidence of adhesion increases mortality and morbidity, leading many studies to solve this problem, including adjuvant therapy, as an ideal anti-dysistant agent, including the use of vitamin E as an antioxidant and omega 3 as anti-inflammatory. This study aimed to prove the effect of medication using combination of vitamin E and omega 3 topical on decrease of IL-1 β ; level of peritoneal fluid and decrease of intraperitoneum adhesion degree in wistar rats

performed by ileal abrasion. Experimental research post test control design. Wistar male ($n = 24$) performed ileal abrasion, classified into 4 groups: K (control), P1 (vitamin E), P2 (omega 3), P3 (combination of vitamin E + omega 3) topical intraperitoneum. Wistar was regurgitated on day 14 and evaluated the degree of intraperitoneal adhesion and levels of IL-1 β ; fluid levels peritoneum. Statistical analysis was performed by Mann-Whitney's different test. Test the degree of adhesion correlation with IL-1 β ; level using Spearman test. The degree of adhesion and group IL-1 β ; (P3) levels were significantly lower ($p < 0.05$), when compared with the control group (K), other groups (P1 and P2). The correlation test between degree of adhesion and IL-1 β ; levels showed a strong positive correlation with $r = 0,574$ ($p < 0,05$). Combination of vitamin E and omega 3 topical intraperitoneum decreased levels of interleukin-1 β ; peritoneal fluid and decreased the degree of intraperitoneal adhesion compared to control and single administration of vitamin E and omega 3.

Keywords: Intraperitoneal Adhesion, IL-1 β , Vitamin E Intraperitoneum, Omega 3 Intraperitoneum, Ileal Abrasion

PENDAHULUAN

Adhesi intraperitoneum merupakan suatu perlekatan jaringan fibrosa (jaringan ikat) yang berdekatan, yaitu antara peritoneum visceral atau antara peritoneum parietal dengan visceral (Hanafi, 2002).

Kejadian adhesi intraperitoneal setelah operasi laparotomi bedah dapat mencapai 97% (Demiturk et al, 2006). Adhesi antara luka dan omentum terjadi pada 80% pasien dan sekitar 50% dari kasus tersebut melibatkan usus. Adhesi tersebut juga menyebabkan obstruksi usus, terutama pada usus halus atau sering disebut dengan SBO dengan angka kejadian sebesar 65-75%. Adhesi intraperitoneum juga berperan pada kejadian infertilitas, dengan perkiraan peluang kejadian sebesar 15-20%, serta kondisi nyeri kronik daerah pelvis sebesar 20-50% (Verco et al, 2000). Lebih dari 342.000 tindakan dilakukan sebagai upaya perbaikan adhesi intraperitoneum di Amerika Serikat pada tahun 2004, serta menghabiskan biaya yang besar (Ward, 2011).

Dari studi biologi molekuler, diketahui terdapat peran berbagai sitokin proinflamasi dalam patogenesis terjadinya adhesi intraperitoneum, diantaranya adalah sitokin IL-1. Interleukin adalah molekul yang memediasi komunikasi antar leukosit (Demiturk et al, 2006). Fungsi utama IL-1 serupa dengan *Tumor Necrosing Factor- α* (TNF- α), yang berperan sebagai mediator respon inflamasi terhadap infeksi dan stimulus lainnya. IL-1 bekerja bersama-sama dengan TNF- α sebagai dalam respon imunitas primer dan peradangan (Abbas et al, 2007). IL-1 berperan dalam respon inflamasi lokal maupun sistemik, sedangkan IL-1 bersama dengan TNF- α adalah sitokin proinflamasi yang sangat berperan pada fase awal penyembuhan luka (Cheong et al, 2002).

Tingginya morbiditas dan mortalitas dari adhesi intraperitoneum, mencetuskan ide untuk menyelesaikan permasalahan tersebut. *adjuvant* antiadhesi dan teknik operasi yang baik, menjadi 2 prinsip utama untuk mencegah terjadinya adhesi intraperitoneum (Trew, 2004). Vitamin E dan omega-3 yang mengandung antioksidan dan antiinflamasi yang diketahui memiliki efek sebagai antiadhesi, sehingga bisa menjadi pilihan untuk terapi *adjuvant* (Calder, 2010).

Omega-3 adalah asam lemak tidak jenuh ganda yang memiliki ikatan beberapa rangkap. Omega-3 memiliki berbagai fungsi, diantaranya adalah sebagai pelindung membran sel. Fungsi tersebut diperoleh melalui mekanisme inhibisi enzim proinflamasi

siklooksigenase 2 (COX-2), yang berperan dalam reaksi inflamasi awal pada cedera jaringan (Arita et al, 2005).

Efek antiinflamasi dari omega-3 diperoleh dengan cara (Diana, 2012):

1. Penurunan aktivitas kemotaksis neutrofil dan monosit.
2. Penurunan ekspresi molekul adhesi pada permukaan monosit, makrofag dan sel endotel.
3. Penurunan produksi *reactive oxygen species* (ROS).
4. Menghambat monosit untuk memproduksi IL-1 β dan TNF- α .
5. Menghambat sel endotel untuk memproduksi IL-6 dan IL-8.

Vitamin E merupakan vitamin yang larut lemak dan dijumpai pada semua membran sel. Sebagai antioksidan, vitamin E akan mengurangi peroksidasi dari asam lemak yang tidak tersaturasi oleh radikal bebas (Durmus et al, 2011). Vitamin E juga dapat menekan proses inflamasi peritoneum yang disebabkan oleh trauma, melalui penghambatan COX-2 dan konversi asam arakhidonat endogen menjadi Prostaglandin E₂ (PGE₂) dan PGF_{2 α} . Vitamin E diketahui pula dapat menekan sitokin proinflamasi terutama IL-1 dan IL-6 (Kusumo, 2013).

Studi experimental ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh kombinasi vitamin E dan omega-3 dalam menurunkan angka kejadian adhesi intraperitoneum, melalui mekanisme penghambatan respon inflamasi, dengan cara menurunkan produksi IL-1 β .

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Purwokerto (FK UMP) dan Laboratorium Farmakologi dan Riset Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman. Studi ini sudah mendapatkan persetujuan etik dari komisi etik FK UMP. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *simple random sampling*. Besar sampel dihitung menggunakan rumus Federar yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, dengan t = jumlah perlakuan, n = jumlah tikus jantan galur wistar untuk tiap perlakuan¹⁸. Besar sampel ditentukan dari perhitungan rumus didapatkan 24 ekor, yang terbagi menjadi 4 kelompok. Sehingga terdapat 6 ekor tikus putih jantan galur wistar dalam setiap kelompok perlakuan. Dalam penelitian ini digunakan 24 ekor tikus jantan galur wistar dengan berat badan 200-300 gram dan berusia 8-12 minggu (Dinarvand et al, 2016).

Seluruh hewan coba diaklimatisasi terlebih dahulu selama seminggu, sesuai dengan rekomendasi yang dikeluarkan oleh National Institutes of Health (NIH) pada buku "*Guide for The Care and Use of Laboratory Animals*". Hewan coba dialokasikan ke dalam 4 kelompok secara acak, dimana setiap kelompok mendapat perlakuan yang berbeda. Kelompok kontrol (K), yaitu wistar yang dibuat adhesi intraperitoneum dengan cara abrasi ileum tanpa diberi *adjuvant*; Kelompok Perlakuan 1 (P1), yaitu wistar yang dibuat adhesi intraperitoneum dengan cara abrasi ileum dan diberi vitamin E dalam *soybean oil* topikal intraperitoneum; Kelompok Perlakuan 2 (P2), yaitu wistar yang dibuat adhesi intraperitoneum dengan cara abrasi ileum dan diberi Omega-3 dalam *soybean oil* topikal intraperitoneum ; sedangkan kelompok perlakuan 3 (P3), yaitu wistar yang dibuat adhesi intraperitoneum dengan cara abrasi ileum dan diberi kombinasi vitamin E dan Omega-3 dalam *soybean oil* topikal intraperitoneum.

Proses aklimatisasi dilakukan dengan cara mengkandangkan seluruh hewan coba pada suhu 22°C, dikondisikan gelap dan terang berinterval 12 jam, serta kemudian diberikan pakan standard dan minum selama 7 hari berturut-turut secara *ad libitum*. Anestesi hewan coba menggunakan ketamin 20mg/kgBB dan diazepam 1,5 mg/kgBB (Kucuk et al, 2007).

Prosedur abrasi ileum dilakukan dengan cara melakukan insisi linea mediana abdomen sepanjang 3 cm, kemudian lakukan reseksi intestinum 1 cm dengan jarak 15 cm dari ileocecal junction. Selanjutnya berikan perlakuan sesuai dengan kebutuhan kelompok P0, P1, P2 dan P3 (vitamin E 10 mg dan omega-3 40 mg, masing-masing dilarutkan dengan 5 ml *soybean oil*). Paska operasi, luka di intraperitoneum ditutup dengan teknik *single-layer end-to-end* menggunakan silk 3/0, serta tanpa menjahit peritoneum.

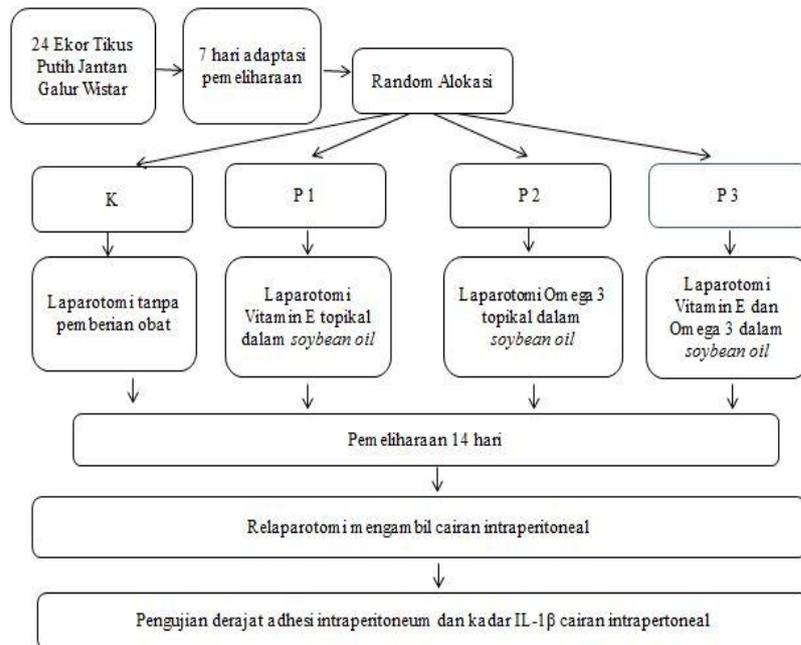
Selanjutnya lakukan perawatan paska bedah dengan pemberian antibiotik (ceftriaxone 3 mg/100 gr)/24 jam, disuntikkan secara intramuskular selama 3 hari. 14 hari paska operasi, dilakukan tindakan relaparotomi dengan cara tikus diberi anestesi, diposisikan terlentang 45°, insisi abdomen sepanjang 3 cm dengan jarak 0,5 cm lateral dari sayatan pertama.¹¹ Cairan peritoneum diambil sebanyak \pm 1 cc untuk penilaian kadar IL-1 β dengan pemeriksaan *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*.

Penilaian derajat adhesi intraperitoneum sesuai dengan kriteria *Nair et al.*:

Tabel 1. Skoring Kriteria Derajat Adhesi Intraperitoneum

Grade	Diskripsi	Keterangan
0	Tidak ada adhesi	Insubstantial
1	Adhesi dengan single band, diantara dua viscera, atau antara organ dengan dinding abdomen	Insubstantial
2	Adhesi dengan dua band, diantara dua viscera, atau antara organ dengan dinding abdomen	Substantial
3	Adhesi dengan lebih dari 2 band, diantara dua viscera, atau antara organ dengan dinding abdomen, atau sebagian usus membentuk masa tanpa ada perlekatan dengan dinding abdomen	Substantial
4	Organ viscera melekat secara langsung kedinding abdomen, tanpa melihat jumlah dan perluasan band	Substantial

Prosedur terminasi hewan diawali dengan pemberian anestesi Ketamine-xylazine 75-100 mg/kg BB + 5-10 mg/kg BB secara intraperitoneal, setelah hewan coba dalam kondisi teranestesi dilakukan *cervical dislocation* (Ridwan, 2013)



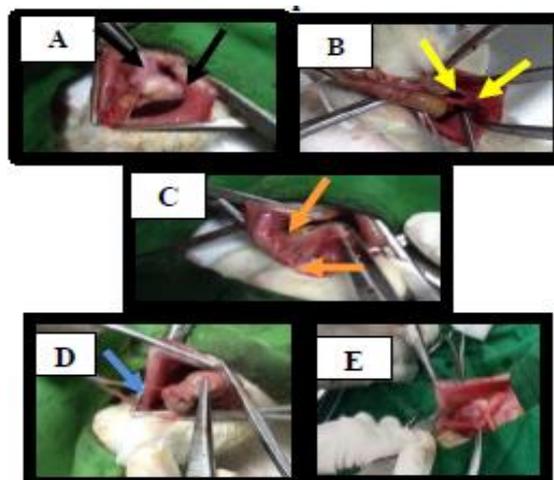
Gambar 1. Alur Penelitian

Keterangan P: perlakuan pada hewan coba Kelompok K (kontrol), P1 (vitamin E dalam *soybean oil* topikal intraperitoneum), P2 (omega-3 dalam *soybean oil* topikal intraperitoneum), P3 (kombinasi vitamin E dan omega-3 dalam *soybean oil* topikal intraperitoneum).

Data dikumpulkan dari penilaian derajat adhesi intraperitoneum dan kadar IL-1 β cairan peritoneum, yang kemudian diolah menggunakan uji beda non parametrik *kruskal wallis* dan *mann whitney*. Sedangkan untuk mengetahui korelasi diantara kedua hasil tersebut dilakukan uji *spearman*. Seluruh analisis data menggunakan SPSS versi 22.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semua hewan coba pada akhir penelitian tidak didapatkan hidup, tidak ada yang masuk ke dalam kriteria eksklusi, setelah mengikuti alur pada gambar 1.



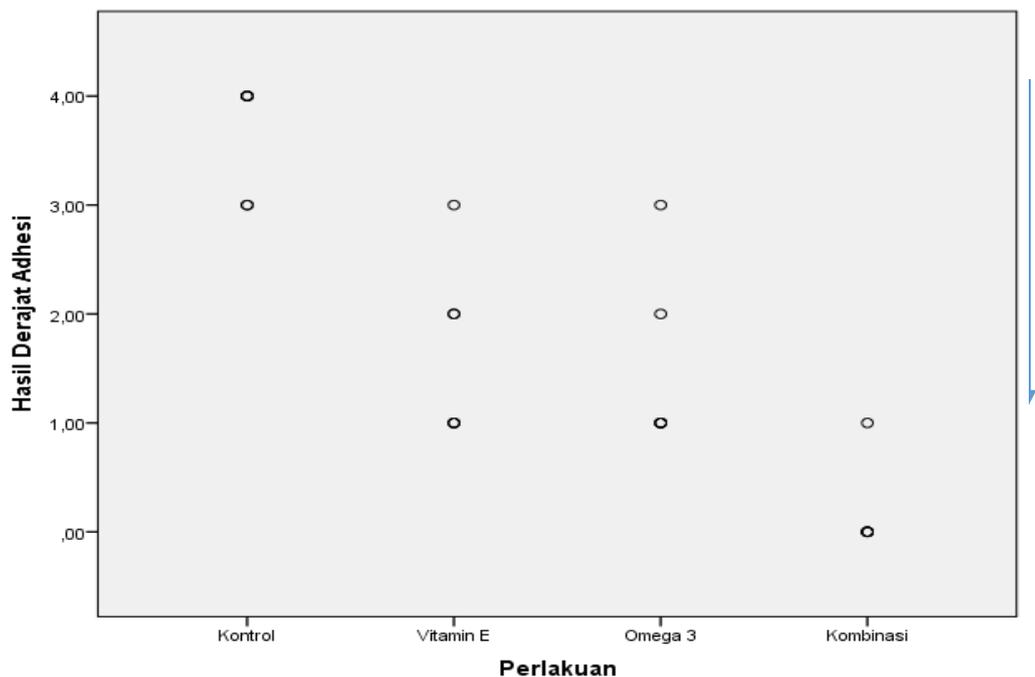
Gambar 2. Hasil laparotomi adhesi

Keterangan : (A) Panah hitam menunjukkan viscera melekat langsung ke dinding abdomen yang merupakan adhesi intraperitoneal derajat IV, (B) Panah kuning, menunjukkan adhesi dengan multiple band derajat III, (C) Panah orange menunjukkan adhesi dengan double band derajat II, (D) Panah biru menunjukkan adhesi dengan single band derajat 1 (E) menunjukkan tidak terjadi adhesi yang merupakan adhesi intraperitoneal derajat 0.

Tabel 2. Rerata±SB (Simpangan Baku) derajat adhesi intraperitoneal

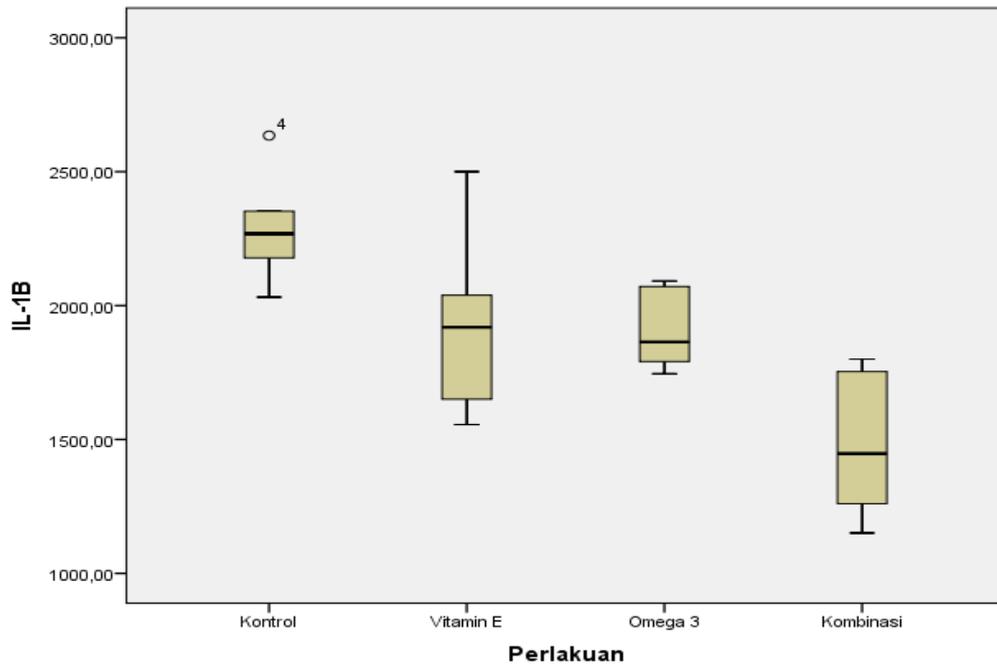
	Kelompok	Rerata±SB
	K	3,66±0,51
Derajat adhesi intraperitoneal	P1	1,66±0,81
	P2	1,50±0,83
	P3	0,16±0,40

Keterangan: K: kontrol, P1 (vitamin E 10 mg yang dilarutkan dalam 5 ml *soybean oil* topikal intraperitoneal), P2 (omega-3 40 mg yang dilarutkan dalam 5 ml *soybean oil* topikal intraperitoneal), P3 (vitamin E 10 mg yang dilarutkan dalam 5 ml *soybean oil* topikal intraperitoneal dan omega-3 40 mg yang dilarutkan dalam 5 ml *soybean oil* topikal intraperitoneal).



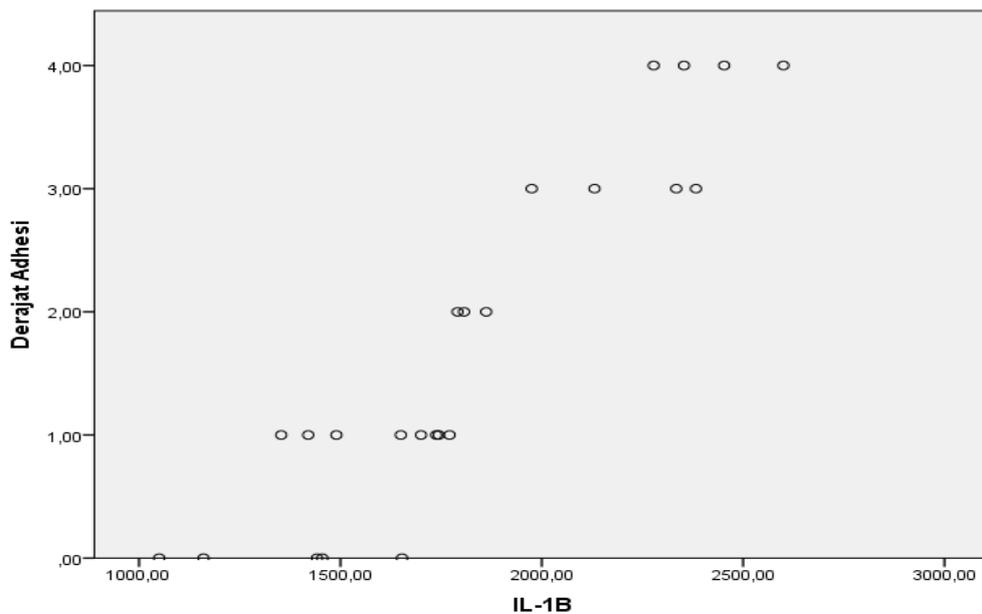
Gambar 3. Scatter plot derajat adhesi intraperitoneum.

Keterangan : Uji *post-hoc* Mann Whitney: K (kontrol) dengan P1 (vitamin E): (p= 0,005), P0 (kontrol) dengan P2 (omega-3): (p=0,004), K (kontrol) dengan P3 (kombinasi): (p=0,002), P1 (vitamin E) dengan P2 (omega-3): (p=0,652), P1 (vitamin E) dengan P3 (kombinasi): (p=0,005), P2 (omega-3) dengan P3 (kombinasi): (p=0,006).



Gambar 4. Box plot kadar IL-1 β cairan peritoneum.

Keterangan: Hasil Uji *anova*: tanda (*) menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol K (kontrol) dengan P1 (vitamin E): ($p= 0,021$), K (kontrol) dengan P2 (omega-3): ($p=0,014$), K (kontrol) dengan P3 (kombinasi): ($p=0,000$), P1 (vitamin E) dengan P2 (omega-3): ($p=0,857$), P1 (vitamin E) dengan P3 (kombinasi): ($p=0,005$), P2 (omega-3) dengan P3 (kombinasi): ($p=0,007$).



Gambar 5. Scatter Plot korelasi antara kadar IL-1 β cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum

Keterangan : Hasil uji korelasi didapatkan korelasi searah yang kuat ($r=0,574$) antara kadar IL-1 β cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum pada tikus jantan wistar yang dibuat adhesi intraperitoneum dengan ($p=0,003$), yang berarti semakin rendah kadar IL-1 β cairan peritoneum, maka derajat adhesi intraperitoneum juga semakin rendah.

Teknik pembuatan model adhesi intraperitoneal dapat diperoleh dengan berbagai cara, diantaranya yaitu model iskemia, model perlukaan peritoneum, model cedera termal, pemberian benda asing, serta pemberian bahan kimia dan dengan model infeksi bakterial (Kusumo, 2013). Penelitian kali ini memilih teknik abrasi ileum, yang termasuk dalam metode perlukaan peritoneum saat operasi abdomen. Metode ini dipilih karena cedera yang dihasilkan pada abrasi ileum, menyerupai cedera peritoneum saat operasi abdomen.

Analisa yang dilakukan terhadap derajat adhesi intraperitoneum dan kadar IL-1 β cairan peritoneal menunjukkan adanya hasil perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok K dengan kelompok pemberian tunggal P1 dan P2, serta dengan kelompok kombinasi P3.

Perbedaan yang bermakna secara statistik juga didapatkan pada analisa kelompok P3 terhadap kelompok K, P1 dan P2. Dengan demikian pemberian kombinasi omega-3 dan vitamin E yang dilarutkan dalam *soybean oil* topikal peritoneum terbukti dapat memberikan pengaruh.

Pada kelompok kontrol didapatkan hasil untuk tikus yang mengalami adhesi intraperitoneum derajat 4 berjumlah 4 ekor, derajat 3 berjumlah 2 ekor, serta tidak ditemukan adanya tikus dengan adhesi intraperitoneum derajat 1 dan 2. Sedangkan untuk rata-rata kadar IL-1 β cairan peritoneumnya adalah $2366,33 \pm 158,58$ pg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol dapat menjadi acuan untuk menilai derajat adhesi intraperitoneum dan penilaian kadar IL-1 β cairan peritoneum dari kelompok lainnya.

Pada kelompok P1, didapatkan hasil tikus yang mengalami adhesi intraperitoneum derajat 3 berjumlah 1 ekor, derajat 2 berjumlah 2 ekor, serta derajat 1 berjumlah 3 ekor. Sedangkan untuk rerata kadar IL-1 β cairan peritoneumnya adalah $1731,83 \pm 215,44$ pg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan vitamin E topikal memiliki pengaruh dalam menurunkan adhesi intraperitoneum jika dibandingkan dengan kelompok K. Hasil tersebut berkaitan dengan teori sebelumnya yang menyebutkan bahwa vitamin E selain berfungsi sebagai antioksidan, juga dapat berperan sebagai antiinflamasi, antikoagulan, anti *fibroblastik*, serta dapat menekan produksi kolagen dan efektif dalam mengurangi terbentuknya adhesi (Arung et al, 2011).

Pada kelompok P2, didapatkan hasil tikus yang mengalami adhesi intraperitoneum derajat 3 berjumlah 1 ekor, derajat 2 berjumlah 1 ekor, serta derajat 1 berjumlah 4 ekor. Sedangkan untuk rerata kadar IL-1 β cairan peritoneumnya adalah $1757,33 \pm 322,33$ pg/ml. Hal ini menunjukkan pemberian omega-3 memiliki pengaruh dalam menurunkan adhesi intraperitoneum jika dibandingkan dengan kelompok K. Hasil ini sesuai dengan teori bahwa omega-3 memiliki fungsi menghambat COX 2, yang berperan dalam reaksi inflamasi awal pada cedera jaringan (Arita et al, 2005).

Pada kelompok P3, didapatkan hasil tikus yang mengalami adhesi intraperitoneum derajat 1 berjumlah 1 ekor, serta derajat 0 sebanyak 5 ekor. Sedangkan kadar IL-1 β cairan peritoneumnya adalah 20.887 ± 2.589 pg/ml. Hasil ini bila dibandingkan dengan hasil dari kelompok K, P1 dan P2, menunjukkan bahwa kombinasi antara vitamin E dan omega-3 memiliki efek yang sangat adekuat terhadap derajat adhesi intraperitoneum dan kadar IL-1 β cairan peritoneum. Hal ini membuktikan sinergi antara vitamin E dan omega-3, yaitu

dengan cara inhibisi produksi sitokin proinflamasi dari efek pemberian vitamin E dan penghambatan aktivasi prostaglandin oleh omega-3. Sehingga pembentukan fibrinogen yang menginisiasi adhesi intraperitoneum dapat dihambat (Coralles et al, 2008).

Selain itu dalam omega-3 terdapat EPA dan DHA, yang dapat menghasilkan senyawa *resolvin* dan senyawa terkait lainnya (misalnya, *protectins*) melalui jalur yang melibatkan enzim siklooksigenase dan lipoksigenase. Mediator tersebut telah terbukti memiliki efek antiinflamasi. Diantaranya *resolvin E1*, *resolvin D1* dan *protectin D1*, yang semuanya dapat menghambat migrasi neutrofil transendothelial, sehingga mencegah infiltrasi neutrofil pada lokasi inflamasi. Studi lain menyebutkan jika *resolvin D1* menghambat produksi IL-1 β , sedangkan *protectin D1* menghambat produksi TNF dan IL-1 β (Calder, 2010).

KESIMPULAN

Pemberian kombinasi pemberian kombinasi vitamin E dan omega-3 yang dilarutkan dalam *soybean oil* topikal intraperitoneum dapat menurunkan secara lebih bermakna, kadar IL-1 β cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum pada tikus wistar yang dilakukan abrasi ileum. Terdapat korelasi positif yang sangat kuat antara kadar IL-1 β cairan peritoneum dengan derajat adhesi intraperitoneum pada wistar yang dilakukan abrasi ileum.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S. 2007. *Cellular and Molecular Immunology, 6th ed.* Saunders Elsevier
- Arita, M., Bianchini, ., Aliberti., Sher., Chiang., Hong., Yang *et al.* 2005. "Stereochemical assignment, antiinflammatory properties, and receptor for the omega-3 lipid mediator resolvin E1". *Journal of experimental Medicine.*
- Arung W, Meurisse M, dan Detry O. 2011. "Pathophysiology and Prevention of Postoperative Peritoneal Adhesions". *World J Gastroenterol*; 17(41):4545-53.
- Calder, Philip C. 2010. "Marine Omega-3 Fatty Acids and Inflammatory Processes. Institute of Human Nutrition". University of Southampton, Bassett Crescent East, Southampton SO16 6YD, UK. *Nutrition Research Reviews.* 355-374.
- Cheong YC, Laird SM, Shelton JB, *et al.* 2002. "The Correlation of Adhesions and Peritoneal Fluid Cytokine Concentrations: A Pilot Study". *Human Reproduction.* Vol.17, No 4,pp. 1034-1045.
- Corrales F, Corrales M, dan Schirmer C.C. 2008. "Preventing Intraperitoneal Adhesions with Vitamin E and Sodium Hyaluronate/ Carboxymethylcellulose. A Comparative Study in Rats". *Acta Cir Brasil*; 23:36-40.
- Demirturk, F, Aytan H, Caliskan H. 2006. "The effect of rosiglitazone in the prevention of intra-abdominal adhesion formation in a rat uterine horn model". *Hum Reprod.*;21:3008-13.
- Diana, Fivi Melva. 2012. Omega-3. *Jurnal Kesehatan Masyarakat.* Vol.6, No.2. hal. 114.
- Dinarvand, P., Hassanian, M.S., Weiler, H., Rezaie, R.A. 2016. "Intraperitoneal Administration Of Activated Protein C Prevents Postsurgical Adhesion Band Formation". *Blood*,125, 8.

- Durmus, A.S., Yildiz, H., Yaman, I., and Simsek, H. 2011. "Efficacy of Vitamin E and Selenium for the Prevention of Intra-Abdominal Adhesions in Rats: Uterine Horn Models". *Clinics (Sao Paulo)*;66(7):1247-51.
- Hanafi, B. 2002. *Patogenesis, pencegahan, dan pengelolaan adhesi intra peritoneal pasca bedah*. Disampaikan pada muktamar IKABDI VI, Semarang.
- Kucuk, H.F., Kaptanoglu, L., Kurt, N., Uzun, H., Eser, M., Bingul, S., *et al.* 2007. "The Role of Simvastatin on Post Operative Peritoneal Adhesion Formation in an Animal Model". *Eur Surg Res*; 39:98-102.
- Kusumo, M. B. 2013. *Pengaruh Pemberian Kombinasi Vitamin E Dalam Olive Oil Topikal Dengan Simvastatin Oral Terhadap Kadar Interleukin-10 (Il-10) Cairan Peritoneum Dan Derajat Adhesi Intraperitoneum*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Ridwan, E. 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan. *J Indon Med Assoc*, (63):3.
- Trew, G. 2004. "Consensus in Adhesion Reduction Management". *The Obstetrician & Gynaecologist*; 6(2):1-16.
- Verco, S. J. S., Peers, E. M., Brown, C. B., Rodgers, K. E., di Zerega, R. N. 2000. "Development of a novel glucose polymer solution (icodextrin) for adhesion prevention: pre-clinical studies". *Hum Reprod.*;15:1764-72.
- Ward, B., *et al.* 2011. "Research review: Abdominal Adhesions: Current and Novel Therapies". *Journal of Surgical Research*. 165, 91–111.