

**Kombinasi Vitamin E dan Omega-3 Topikal Meningkatkan
Derajat Penyembuhan Anastomosis Intestinum
Kajian Terhadap Kadar Interleukin-10 (IL-10) Cairan
Peritoneum**

*(Combination of Vitamin E And Omega-3 Topical Improving Degrees of
Intestinum Anastomosis Healing
Study on Interleukin-10 (IL-10) Peritoneum Liquid)*

Guntur Muhammad Taqwin, Mina

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

ABSTRAK

Anastomosis intestinum merupakan tindakan penyambungan usus, yang didahului dengan laparotomi. Beberapa masalah kesehatan yang sering ditangani dengan tindakan ini diantaranya adalah kanker kolorektal, strangulasi dan inkarserasi pada hernia inguinalis. Akan tetapi angka morbiditas dan mortalitas dari tindakan tersebut cukup tinggi, sehingga beberapa studi dilakukan untuk mencari solusi, seperti pemberian terapi *adjuvant*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian kombinasi vitamin E dan Omega-3 topikal terhadap derajat penyembuhan anastomosis intestinum dan kadar interleukin-10 cairan peritoneum. Penelitian ini menggunakan tikus jantan galur wistar ($n = 24$) yang dilakukan anastomosis intestinum, dibagi menjadi 4 kelompok: P0 (kontrol), P1 (vitamin E 10 mg dalam 5 ml *soybean oil* topikal intestinum), P2 (Omega-3 40 mg dalam 5 ml *soybean oil* topikal intestinum), P3 (kombinasi vitamin E 10 mg dan Omega-3 40 mg dalam 5 ml *soybean oil*). 14 hari berikutnya tikus direlaparotomi, selanjutnya dilakukan penilaian derajat penyembuhan anastomosis intestinum dan kadar IL-10 cairan peritoneum. Analisa statistik menggunakan uji beda *one way ANOVA* untuk derajat penyembuhan anastomosis dan uji *Mann-Whitney* untuk kadar IL-10 cairan peritoneum, sedangkan untuk mengetahui korelasi derajat penyembuhan anastomosis intestinum dengan kadar IL-10 cairan peritoneum menggunakan uji *Spearman*. Derajat penyembuhan anastomosis intestinum kelompok P3 lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,05$), dibandingkan kelompok P0, P1 dan P2. Kadar IL-10 cairan peritoneum kelompok P3 lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,05$), dibandingkan kelompok P0, P1 dan P2. Uji korelasi antara derajat penyembuhan anastomosis intestinum dan kadar IL-10 cairan peritoneum menunjukkan korelasi negatif sangat kuat dengan $r: -0,844$. Pemberian kombinasi vitamin E dan omega-3 topikal intestinum memiliki efek yang lebih baik terhadap derajat penyembuhan anastomosis intestinum dan kadar IL-10 daripada yang tidak mendapatkan kombinasi.

Kata-kata Kunci: Anastomosis intestinum, IL-10, Vitamin E, Omega-3, Kombinasi

ABSTRACT

Anastomosis intestinum is a laparotomy surgery, some of the health problems treated with this medical treatment such as colorectal cancer, strangulation and incarceration of the inguinal hernia and others. However, the underlying morbidity and mortality rate of the disease is high, so some studies have attempted to resolve this problem, including adjuvant therapy. This research aimed to demonstrate the effect of medication by combining topical

vitamins E and Omega-3 on cure level of intestinal anastomosis and the level of interleukin-10 peritoneal fluid. This research used male wistar strain rats (n = 24) by anastomosis intestinum, divided into 4 groups: P0 (control), P1 (vitamin E 10 mg in 5 ml soybean oil topical intestinum), P2 (Omega-3 40 Mg in 5ml soybean oil topical intestinum), P3 (combination of vitamin E 10 mg and Omega-3 40 mg in 5 ml soybean oil). The rats were regurgitated 14 days later, then assessed the degree of healing of intestinal anastomosis and IL-10 levels of peritoneal fluid. Statistical analysis of different cure level of intestinal anastomosis and IL-10 levels using Mann-Whitney's different test. The correlation test of cure level of intestinal anastomosis with IL-10 level of peritoneal fluid using Spearman test. The cure level of the intestinal anastomosis of the P3 group was significantly higher ($p < 0.05$) than in the P0, P1 and P2 groups. IL-10 levels of peritoneal fluid. The P3 group was significantly higher ($p < 0.05$) than in the P0, P1 and P2 groups. The correlation test between dcure level of intestinal anastomosis and IL-10 level of peritoneal fluid showed very strong negative correlation with $r: -0.844$. Combination of vitamin E and omega-3 topical intestinum has a better effect on the cure level of intestinal anastomosis and IL-10 levels than those not given.

Keywords: *Intestinal Anastomosis, IL-10, Vitamin E, Omega-3, Combination*

PENDAHULUAN

Anastomosis intestinum merupakan suatu tindakan medis berupa penyambungan usus paska laparotomi, yang bertujuan untuk memperbaiki kondisi infark mesenterium, nekrosis setelah strangulasi usus pada hernia, divertikulitis meckel, trauma usus halus serta obstruksi pada saluran pencernaan sebagai akibat adanya keganasan. Kondisi yang paling banyak membutuhkan tindakan anastomosis intestinum adalah keganasan terutama kanker kolorektal (Kemenkes, 2015).

Anastomosis intestinum masih menjadi solusi utama dari penatalaksanaan kanker kolorektal stadium 1, 2 dan 3. Selain itu terdapat beberapa penyakit yang membutuhkan tindakan anastomosis intestinum salah satu diantaranya adalah hernia inguinalis (Foster, 2001).

Angka kejadian hernia inguinalis mencapai 75-80% dari keseluruhan kasus hernia. Hernia inguinalis dapat menjadi kasus kegawatdaruratan apabila kejadian tersebut bersifat strangulasi (ireponibel disertai gangguan pasase) dan inkaserasi (ireponibel disertai gangguan vaskularisasi). Inkaserasi merupakan penyebab obstruksi usus nomor satu dan tindakan operasi darurat nomor dua setelah *apendicitis* akut di Indonesia, sehingga membutuhkan penatalaksanaan anastomosis pada daerah yang mengalami strangulasi dan inkaserasi agar terhindar dari kematian organ akibat iskemia jaringan (Parmono, 2014).

Asam lemak Omega-3 memiliki dua bagian utama yaitu DHA dan EPA, yang ditemukan pada berbagai produk suplemen minyak ikan. Omega-3 dapat bekerja dalam menghambat terjadinya inflamasi serta dapat mempercepat penyembuhan anastomosis intestinum (Castilho et al, 2015).

Vitamin E memiliki berbagai manfaat seperti antioksidan, antiinflamasi, antikoagulan, serta antifibrobalsitik. Vitamin E mampu menghambat pembentukan kolagen, sehingga kadar fibroblast yang disintesis oleh sitokin proinflamasi dapat terkendali. Dengan demikian vitamin E dapat digunakan sebagai salah satu alternatif terapi untuk menekan angka kejadian komplikasi adhesi pada anastomosis intestinum paska operasi bedah laparotomi (Corrales et al, 2008).

IL-10 merupakan sitokin antiinflamasi yang mencegah terbentuknya adhesi, melalui beberapa mekanisme yaitu dengan menghambat produksi sitokin proinflamasi yang diproduksi oleh T-helper tipe 1. Sebaliknya, IL-10 dapat memacu proliferasi dan diferensiasi limfosit B dan limfosit T helper 2 (Kusumo, 2013).

Studi kali ini mencoba menganalisis pengaruh kombinasi vitamin E dengan Omega-3 terhadap penyembuhan anastomosis intestinum, melalui pemeriksaan kadar IL-10.

METODE PENELITIAN

Studi ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Purwokerto (FK UMP) dan Laboratorium Farmakologi dan Riset Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman. Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan etik dari komite etik FK UMP. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *simple random sampling*. Besar sampel dihitung menggunakan rumus Federer yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, dengan t = jumlah perlakuan, n = jumlah tikus jantan galur wistar untuk tiap perlakuan.¹⁰ Besar sampel ditentukan dari perhitungan adalah 24 ekor, yang terbagi dalam 4 kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus putih jantan galur wistar. Seluruh hewan coba dalam penelitian ini memiliki berat badan 200-300 gram dan berusia 8-12 minggu (Kucuk et al, 2007).

Hewan coba diaklimatisasi selama satu minggu berdasarkan rekomendasi yang dikeluarkan oleh NIH (National Institutes of Health) dalam buku "*Guide for The Care and Use of Laboratory Animals*". Tikus dialokasikan secara acak ke dalam 4 kelompok, setiap kelompok diberikan perlakuan yang berbeda: kelompok P0 (Kontrol), dilakukan anastomosis intestinum dan tidak diberikan *adjuvant*; kelompok P1 (Perlakuan 1), dilakukan anastomosis intestinum dan diberikan vitamin E 10 mg dalam 5 ml *soybean oil*; kelompok P2 (Perlakuan 2), dilakukan anastomosis intestinum dan diberikan Omega-3 40 mg dalam 5 ml *soybean oil*; kelompok P3 (Perlakuan 3), dilakukan anastomosis intestinum dan diberikan kombinasi vitamin E 10 mg dan Omega-3 40 mg dalam *soybean oil*.

24 ekor tikus jantan galur wistar dilakukan pemeliharaan awal terlebih dahulu di laboratorium dengan dikandangan secara individual pada suhu 22°C dan dikondisikan gelap dan terang bergantian setiap 12 jam. Hewan coba mendapatkan pakan standar dan minum secara *ad libitum*.¹² Anestesi menggunakan ketamin 20 mg/kgBB dan diazepam 1,5 mg/kgBB (Kusumo, 2013).

Prosedur pembuatan model dan perlakuan pada hewan coba dimulai dengan mencuci sarung tangan terlebih dahulu agar terbebas dari talk, membersihkan dan mencukur bulu daerah abdomen tikus dan melakukan tindakan aseptis antisepsis menggunakan povidone iodine. Kemudian lakukan insisi linea mediana abdomen sepanjang 3 cm, lakukan reseksi intestinum sepanjang 1 cm dengan jarak 15 cm dari ileocecal junction. Selanjutnya berikan perlakuan sesuai P0, P1, P2 dan P3. Paska operasi, luka di intestinum ditutup dengan *single-layer end-to-end* sebanyak 8 jahitan menggunakan benang jahit 6-0 Monosyn®. Daerah abdomen yang dilakukan laparotomi ditutup dengan menggunakan benang jahit 5-0 Vicryl®. Antibiotik (ceftriaxone 3 mg /100 gr)/ 24 jam disuntikkan secara intramuskular selama 3 hari. 14 hari paska operasi, dilakukan relaparotomi untuk melihat hasil perlakuan (Fredriksson, 2016). Penilaian derajat penyembuhan anastomosis intestinum, dilakukan oleh dokter spesialis bedah (Rehn, 2012).

Penilaian adhesi intraperitoneum dilakukan dengan menggunakan Skoring Kriteria Derajat Adhesi Intraperitoneum (Rehn, 2012):

Tabel 1. Skoring Kriteria Kebocoran Anastomosis Intestinum

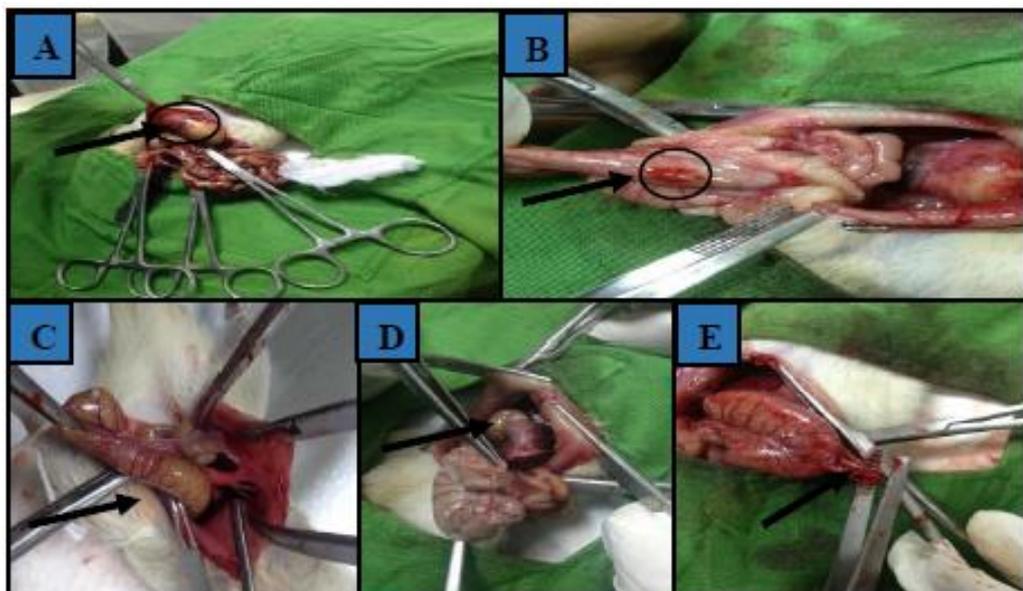
Grade	Diskripsi
0	Normal <i>anastomotic healing</i>
1	Edema dan adhesi disekitar usus tetapi tidak terbentuk abses dan kebocoran
2	Terdapat abses disekitar dinding usus tetapi tidak mengalami kebocoran
3	Terdapat abses pada intra abdomen disertai dengan kebocoran
4	Terdapat abses pada intra abdomen disertai kebocoran dan kematian tikus

Cairan peritoneum dikumpulkan dari rongga pelvis sejumlah 1 cc dan dihitung kadar IL-10 dengan menggunakan ELISA. Terminasi hewan coba didahului dengan pemberian Ketamine-xylazine 75-100 mg/kg BB dan Diazepam 5-10 mg/kg BB secara intraperitoneal, setelah tikus dalam kondisi teranestesi dilakukan *cervical dislocation* (Leary, 2013).

Analisis statistik menggunakan data yang dikumpulkan dari derajat penyembuhan anastomosis dan kadar IL-10 cairan peritoneum. Untuk mengetahui perbedaan derajat penyembuhan anastomosis antar kelompok digunakan uji beda non parametrik *kruskal wallis* dan *mann whitney*. Sedangkan untuk mengetahui kadar IL-10 cairan peritoneum antar kelompok digunakan uji parametrik *one way ANOVA* dan *post hoc LSD*. Selanjutnya untuk mengetahui korelasi, digunakan uji *spearman*. Seluruh analisa statistik menggunakan software SPSS versi 21.

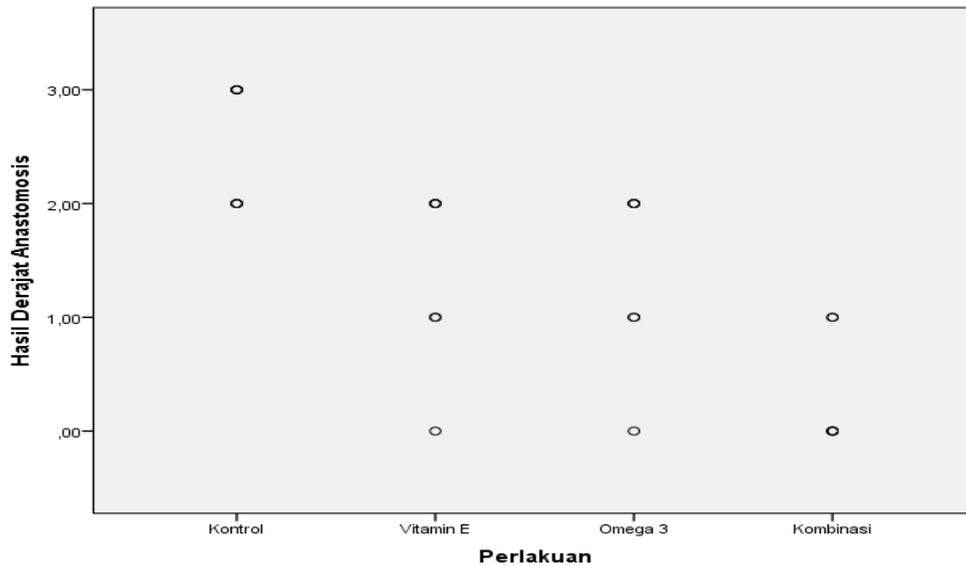
HASIL DAN PEMBAHASAN

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

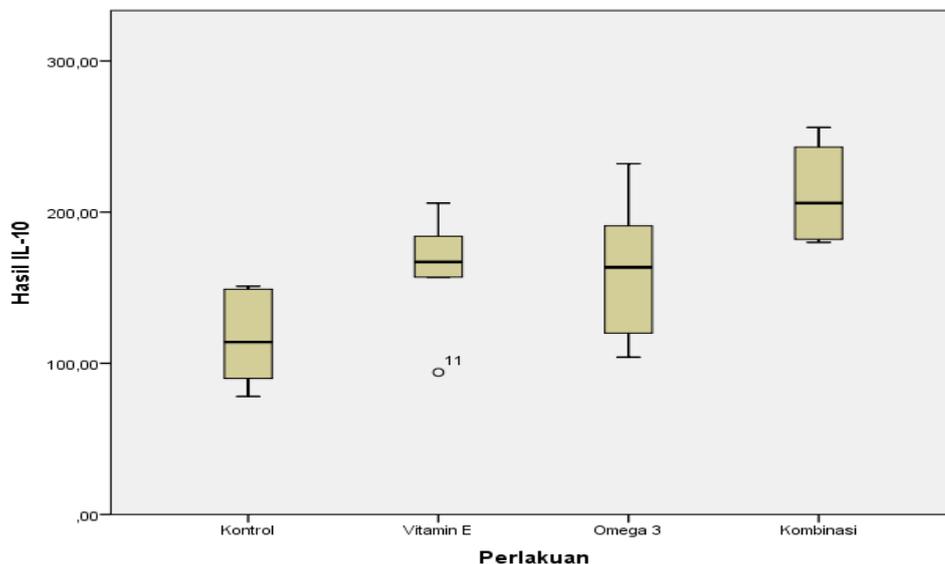


Gambar 1. Hasil relaparotomi pada hari ke 14

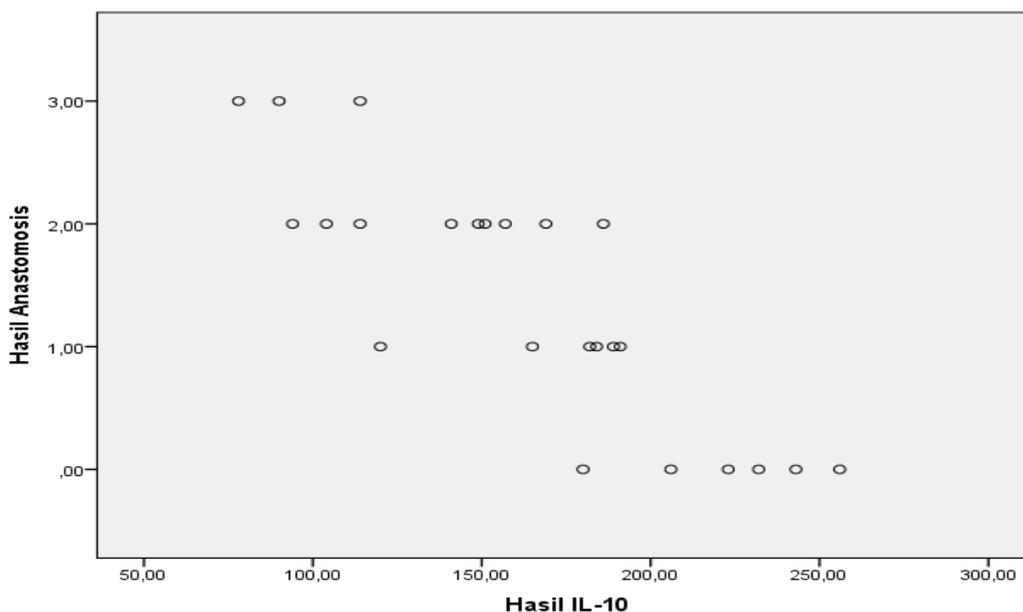
Keterangan : (A) Intestinum sembuh normal derajat 0 (B) Terjadi kebocoran anastomosis intestinum derajat 3 (C) Terjadi edema intestinum derajat 1 (D) Terjadi abses intestinum derajat 2 (E) Terjadi komplikasi adhesi di daerah intestinum.



Gambar 2. Scatter Plot derajat kebocoran anastomosis Intestinum. Menunjukkan pemberian *adjuvant* memiliki pengaruh yang bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol, pada kelompok kombinasi di dapatkan *scoring* hasil derajat anastomosis dengan nilai terbaik dibandingkan kelompok yang lain.



Gambar 3. Box Plot kadar antiinflamasi IL-10 cairan peritoneum. Menunjukkan pemberian *adjuvant* memiliki pengaruh yang bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol, pada kelompok kombinasi di dapatkan kadar IL-10 cairan peritoneum dengan nilai terbaik dibandingkan kelompok yang lain.



Gambar 4. Scatter Plot korelasi antara derajat kebocoran anastomosis Intestinum dengan kadar antiinflamasi IL-10 cairan peritoneum. ($p=0,000$, $r=-0,844$).

Derajat Penyembuhan Anastomosis

Uji beda non parametrik bivariat menggunakan uji *Kruskal Wallis* didapatkan ($p=0,003$) sehingga terdapat perbedaan pengaruh signifikan antar kelompok perlakuan.

Pada uji *Mann Whitney* didapatkan hasil terdapat perbedaan pengaruh pada semua kelompok perlakuan ($p<0,05$) kecuali pada kelompok perlakuan vitamin E dibandingkan dengan omega-3 dengan nilai ($p>0,05$) tidak terdapat perbedaan pengaruh antara pemberian Vitamin E dan Omega-3 secara tunggal.

Kadar IL-10 Cairan Peritoneum

Uji beda parametrik bivariat menggunakan uji *One Way Anova* didapatkan ($p=0,003$) sehingga terdapat perbedaan pengaruh signifikan antar kelompok perlakuan.

Pada uji *LSD* diatas didapatkan hasil terdapat perbedaan pengaruh pada semua kelompok perlakuan ($p<0,05$) kecuali pada kelompok perlakuan Vitamin E dibandingkan dengan Omega-3 dengan nilai ($p>0,05$) tidak terdapat perbedaan pengaruh antara pemberian Vitamin E dan Omega-3 secara tunggal.

Korelasi Derajat Kebocoran Anastomosis Intestinum dengan Kadar IL-10 Cairan Peritoneum

Uji korelasi *Spearman* antara kadar IL-10 dengan derajat kebocoran anastomosis intestinum didapatkan hasil korelasi negatif yang sangat kuat ($r=-0,844$). Sehingga semakin tinggi kadar IL-10 cairan peritoneum, maka nilai derajat kebocoran anastomosis akan semakin rendah.

Penyembuhan anastomosis intestinum melewati beberapa fase diantaranya fase inflamasi akut, fase proliferaatif, dan fase maturasi. Ketika terjadi perlukaan pada dinding usus maka berbagai sitokin proinflamasi akan dikeluarkan, kemudian bersama dengan fibroblast akan menginisiasi sintesis matriks *metalloproteinases* (MMPs) yang berperan merangsang pengeluaran kolagen oleh *extraceluller matrix* (ECM) (Rehn, 2012).

Fase proliferasi ditandai dengan keluarnya jaringan granulasi yang akan mendeposisi serabut kolagen, sehingga terbentuk adhesi fibrin. Selanjutnya setelah inflamasi awal teratasi, maka fibrin akan diuraikan kembali oleh proses fibrinolisis. Sitokin proinflamasi digantikan oleh sitokin antiinflamasi seperti IL-4 dan IL-10, yang memiliki peran sentral mencegah terbentuknya fibrin dengan meningkatkan sistem *plasminogen aktivator* (PA) dan menekan *plasminogen aktivator inhibitor* (PAI), sehingga terjadi proses penyembuhan normal (Kusumo, 2013).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian vitamin E dalam *soybean oil* topikal dapat memberikan efek lebih baik pada penyembuhan anastomosis intestinum dan meningkatkan kadar IL-10 cairan peritoneum dibandingkan kelompok kontrol. Hal tersebut sesuai dengan teori yang menyebutkan jika vitamin E memiliki fungsi sebagai antioksidan, anti-inflamatory, anti-koagulan dan anti fibroblastik (Corrales, 2008).

Pemberian Omega-3 dalam *soybean oil* topikal pada studi kali ini juga memberikan efek yang lebih baik terhadap penyembuhan anastomosis intestinum dan kadar IL-10 cairan peritoneum, bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Diduga kuat hasil ini merupakan akibat dari fungsi Omega-3 yang berperan sebagai antiinflamasi, antiagregasi, vasodilator pembuluh darah dan antiadhesi (Daak, 2013).

Hasil dari pemberian kombinasi vitamin E dan omega-3 dalam *soybean oil* terhadap derajat penyembuhan anastomosis dan kadar IL-10 cairan intraperitoneum pada penelitian kali ini, menunjukkan hasil yang lebih baik jika dibandingkan dengan kelompok kontrol ataupun dengan kelompok pemberian vitamin E dan Omega-3 secara tunggal. Hal ini diyakini sesuai dengan teori yang menyatakan jika vitamin E dan omega-3 secara bersama-sama akan meningkatkan kadar sitokin antiinflamasi seperti IL-10, yang sangat berperan dalam proses perbaikan jaringan. IL-10 sendiri telah dibuktikan mampu meningkatkan efek fibrinolisis melalui mekanisme aktivasi PA (Prasetyo, 2013).

Kuatnya korelasi negatif antara derajat kebocoran anastomosis intestinum dengan kadar IL-10 cairan peritoneum, menunjukkan bahwa efek antiinflamasi IL-10 berperan penting dalam proses penyembuhan anastomosis. Dengan demikian sinergi dari penggunaan kombinasi vitamin E dan omega-3 yang berefek pada peningkatan produksi IL-10, dapat menjadi salah satu alternatif solusi untuk menekan kegagalan anastomosis intestinum.

KESIMPULAN

Pemberian kombinasi vitamin E dan Omega-3 dalam *soybean oil* topikal intestinum memiliki efek yang lebih baik dalam meningkatkan kadar IL-10 dan menurunkan derajat kebocoran anastomosis intestinum, dibandingkan dengan yang tidak mendapatkan kombinasi keduanya.

DAFTAR PUSTAKA

- Castilho, T. J. C., Antônio, C. L. C., Eleri, V. S. L. 2015. "Effect Of Omega-3 Fatty Acid In The Healing Process Of Colonic Anastomosis In Rats. Original Article, 28(4), 258–261.
- Corrales, F., Corrales, M., Schirmer, C. C. 2008. "Preventing Intraperitoneal Adhesions with Vitamin E and Sodium Hyaluronate/ Carboxymethylcellulose. A Comparative Study in Rats". Acta Cir Brasil, 23 (1), 36-41.

- Daak, A. et al. 2013. "Effect of omega-3 (n -3) fatty acid supplementation in patients with sickle cell anemia : randomized, double-blind, placebo-controlled". *American Journal of Clinical Nutrition*, 3(2), 37–44.
- Foster, M. E., Morris, S. G. 2001. *Teknik Bedah Umum*. Jakarta: Farmedia
- Fredriksson, F. 2016. *Outcome and Prevention Strategies in Peritoneal Adhesion Formation*. Uppsala: ACTA Universitatis Upsaliensis Uppsala.
- Kemenkes. 2015. *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Kanker Kolorektal*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- 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(2), 98-102.
- Kusumo, M. H. B. (2013). *Pengaruh Pemberian Vitamin E Topikal dengan Simvastatin Oral Terhadap IL-10 Cairan Peritoneum dan Derajat Adhesi Intraperitoneum*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Leary, S. 2013. *AVMA: Guidelines for the Euthanasia of Animal*. Washington: American Veterinary Medical Association.
- Parmono, H. M. 2014. *Hubungan Antara Indeks Massa Tubuh Dengan Kejadian Hernia Inguinalis Di Poli Bedah RSUD Dr. Soehadi Prijonegoro Sragen*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Surakarta.
- Prasetyo, A. A. 2013. *Pengaruh Pemberian Kombinasi Vitamin E Dalam Olive Oil Topikal Dengan Ketorolac Intramuskular Terhadap Kadar TGF β Cairan Peritoneum Dan Derajat Adhesi Penelitian Eksperimental Pada Tikus Wistar yang Dilakukan Abrasi Ileum*. Semarang. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Rehn, M. 2012. *Experimental Colonic Obstruction and Anastomotic Healing*. Department of Clinical Sciences. Lund University.