

## Vitamin E & Omega-3 Mencegah Adhesi Intraperitoneum Melalui Inhibisi Kadar Tgf- B Cairan Peritoneum

*(Vitamin E & Omega-3 Preventing Intraperitoneum Adhesion Through Inhibition Tgf-B Peritoneum Fluid)*

**Andi Muh. Maulana, Haidar Alatas**

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

### ABSTRAK

Adhesi intraperitoneum merupakan komplikasi dari prosedur paska laparotomi yang dapat menyebabkan nyeri panggul kronis, obstruksi usus, terbentuknya fistula enterokutan, serta infertilitas pada wanita. Banyak penelitian dilakukan mencoba memecahkan permasalahan ini, termasuk dengan pemberian vitamin E dan omega 3 topikal dalam *soybean oil* untuk menemukan agen antiadhesi yang ideal. Membuktikan efek pemberian vitamin E dan omega-3 topikal dalam *soybean oil* terhadap kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum pada tikus wistar yang dilakukan abrasi ileum. Penelitian ini merupakan uji eksperimental *post test only group design*. Wistar jantan ( $n = 24$ ) dilakukan abrasi ileum, terbagi menjadi 4 kelompok: K (kontrol), P1 (vitamin E 10 mg dalam *soybean oil* 5 ml), P2 (omega-3 40 mg dalam *soybean oil* 5 ml), P3 (kombinasi vitamin E 10 mg dan omega-3 40 mg dalam *soybean oil* 10 ml). Setelah 14 hari perlakuan dilakukan relaparotomi, kemudian diadakan evaluasi terhadap kadar TGF- $\beta$  dan derajat adhesi intraperitoneum. Analisis statistik beda derajat adhesi intraperitoneum dan kadar TGF- $\beta$  antar kelompok dilakukan dengan uji *Mann Whitney*. Uji korelasi derajat adhesi intraperitoneum dengan kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum menggunakan uji *Spearman*. Uji *Mann Whitney* derajat adhesi intraperitoneum menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ), kecuali kelompok P1 dibandingkan dengan P2 menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ( $p = 0,652$ ). Uji *Mann Whitney* kadar TGF- $\beta$  menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ), sedangkan perbedaan yang tidak bermakna ditunjukkan ketika kelompok P1 dibandingkan dengan P2 ( $p = 0,262$ ) dan kelompok P2 dibandingkan dengan P3 ( $p = 0,078$ ). Uji korelasi antara derajat adhesi intraperitoneum dengan kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum menunjukkan hasil korelasi positif yang kuat dengan  $r = 0,666$  ( $p < 0,05$ ). Pemberian vitamin E dan omega 3 topikal dalam *soybean oil* topikal intraperitoneum dapat menurunkan kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum.

**Kata Kunci:** adhesi intraperitoneum, TGF- $\beta$ , vitamin E, omega-3, *soybean oil*

### ABSTRACT

*Intraperitoneum adhesion is a complication because of post-laparotomy procedures that can cause morbidity and mortality. Many studies have attempted to solve this problem, including the provision of vitamin E and omega-3 topical in soybean oil to find the ideal anti adhesion agent. This study goals to prove the effect of vitamin E and omega-3 topical in soybean oil on TGF- $\beta$  level of peritoneal fluid and intraperitoneum adhesion level on wistar rats under abrasion ileum. This research was an experimental test by post test control group design. Wistar males ( $n=24$ ) performed ileum abrasion, divided into 4 groups: K (control), P1 (vitamin E 10 mg in 5 ml soybean oil), P2 (Omega-3 40 mg in 5*

ml soybean oil), P3 (combination of vitamin E 10 mg and omega-3 40 mg in 10 mg soybean oil). Wistar performed relaparotomy after 14 days and evaluated the intraperitoneum adhesion level. Statistical analysis of different intraperitoneum adhesion level between groups is performed by different test using MannWhitney. Correlation test of intraperitoneum adhesion degree with TGF- $\beta$  levels of intraperitoneum fluid used Spearman test. The intraperitoneum adhesion level of group P3 is significantly lower ( $p < 0.05$ ) when compared between group K and other treatments (P1 and P2). TGF- $\beta$  concentration of intraperitoneum group P3 was significantly lower ( $p < 0.05$ ) when compared with group K and other treatments (P1 and P2). The correlation test between intraperitoneum adhesion level and TGF- $\beta$  levels of intraperitoneum fluid shows a strong positive correlation with  $r: 0.666$  ( $p < 0.05$ ). Vitamin E and omega-3 in soybean oil decrease TGF-  $\beta$  intraperitoneum fluid level and intraperitoneum adhesion level.

**Keywords:** intraperitoneum adhesion, TGF- $\beta$ , vitamin E, omega-3, soybean oil

## PENDAHULUAN

Adhesi intraperitoneum adalah proses pembentukan jaringan ikat fibrosa yang patologis dan memiliki ciri berupa perlengketan pada permukaan cavum abdomen secara langsung, antara omentum, intestinal, serta dinding abdomen. Prosedur paska laparotomi merupakan salah satu penyebab terbanyak dari kejadian tersebut (Rocca *et al*, 2016). Prevalensi angka kejadian adhesi intraperitoneum paska laparotomi cukup tinggi, yaitu sekitar 63%-97%. Beberapa faktor yang menyebabkan terjadinya adhesi intraperitoneum paska laparotomi adalah infeksi intraabdominal, trauma bedah, iskemia, cedera panas, serta reaksi terhadap benda asing (Alonso *et al*, 2014).

Trauma paska laparotomi pada peritoneum merupakan penyebab tersering dari adhesi intraperitoneum, karena menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi berupa pembentukan eksudat dan akumulasi fibrin (Subowo, 2014). Dimana kejadian adhesi intraperitoneal paska laparotomi dapat mencapai 97% (Demiturk *et al*, 2006). Selain itu adhesi intraperitoneum dapat menyebabkan komplikasi seperti nyeri panggul kronis, obstruksi usus, serta terbentuknya fistula enterokutan dan infertilitas pada wanita (Kamel, 2010).

*Transforming Growth Factor Beta* (TGF- $\beta$ ) berperan dalam patogenesis yang melibatkan adanya keabnormalitasan dari fibrin dan kolagen. TGF- $\beta$  juga merangsang produksi molekul proadhesi dan molekul matriks ekstraselular, dengan cara mengaktivasi fibroblas untuk memproduksi kolagen, fibronektin dan integrin (Bianchi *et al*, 2016).

Vitamin E berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikoagulan, serta antifibroblastik. Vitamin E dapat larut dalam lemak, serta berperan untuk menurunkan jumlah produksi kolagen, sehingga dapat meminimalkan pembentukan adhesi intraperitoneum (Yetkin *et al*, 2009). Sedangkan omega-3 adalah salah satu nutrisi yang penting bagi manusia, memiliki ikatan karbon rangkap dalam posisi  $n-3$  (ikatan karbon ketiga dari metil terminal). Omega-3 memiliki efek inhibisi terhadap proses inflamasi, sehingga diduga mampu mencegah adhesi intraperitoneum paska laparotomi (Buckley *et al*, 2014).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh vitamin E dan omega-3 topikal dalam *soybean oil* terhadap kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum pada tikus wistar yang dilakukan abrasi ileum.

## 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 perlakuan. 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.<sup>11</sup> Cairan peritoneum diambil sebanyak  $\pm 1$  cc untuk penilaian kadar IL-1 $\beta$  dengan pemeriksaan *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*.

Tabel 1 merupakan penilaian derajat adhesi intraperitoneum sesuai dengan kriteria Nair et al.

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)

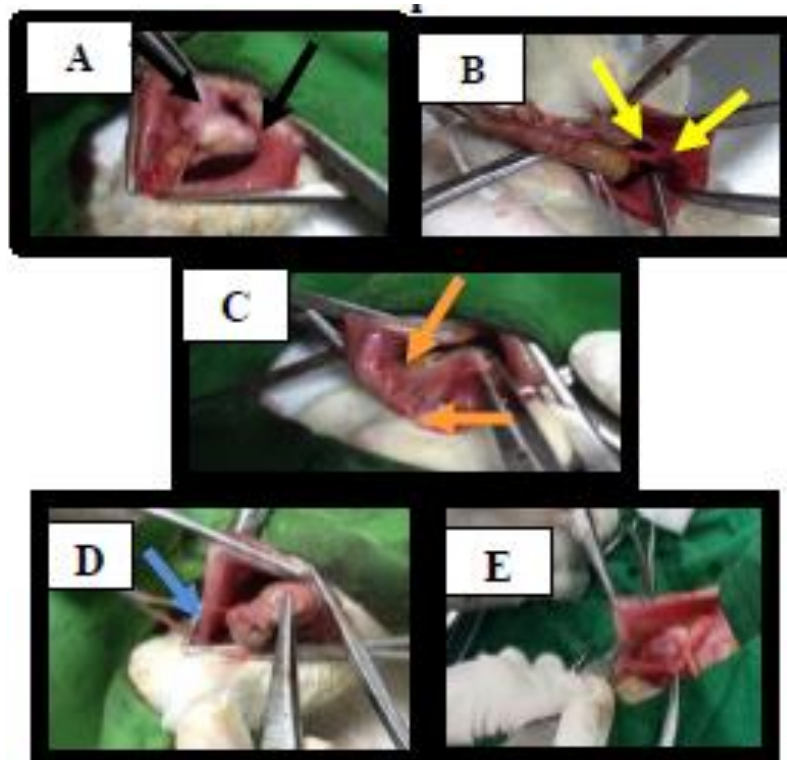
Data dikumpulkan dari penilaian derajat adhesi intraperitoneum dan kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum, yang kemudian diolah menggunakan uji *mann whitney*. Sedangkan untuk mengetahui korelasi diantara kedua hasil tersebut dilakukan uji *spearman*. Seluruh analisis data menggunakan SPSS versi 22.

**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

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Semua hewan coba pada akhir penelitian didapatkan hidup, tidak ada yang masuk ke dalam kriteria eksklusi.



**Gambar 1. Hasil relaparotomi**

Gambar 1 merupakan hasil dari relaparotomi, dengan penjelasan masing masing adalah sebagai berikut: (A) Panah hitam menunjukkan viscera melekat langsung ke dinding abdomen yang merupakan adhesi intraperitoneum derajat IV; (B) Panah kuning menunjukkan adhesi intraperitoneum dengan multiple band derajat III; (C) Panah orange menunjukkan adhesi intraperitoneum dengan double band derajat II; (D) Panah biru

menunjukkan adhesi intraperitoneum dengan single band derajat 1; (E) menunjukkan tidak terjadi adhesi yang merupakan adhesi intraperitoneum derajat 0.

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

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

Tabel 2 merupakan rerata ± SB (Simpangan Baku) derajat adhesi intraperitoneum dengan penjelasan sebagai berikut: 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).

**Tabel 3. Nilai *p* derajat adhesi intraperitoneum antar kelompok**

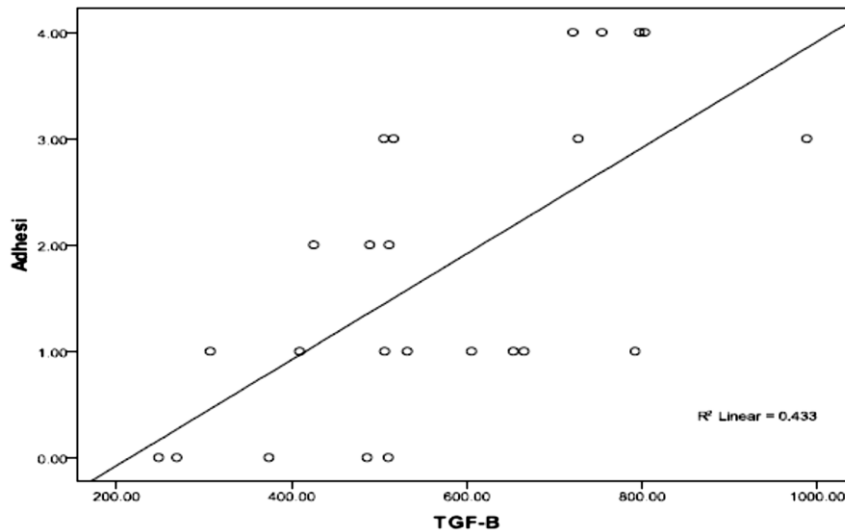
Variabel	K	P1	P2	P3
K	-	0,005	0,004	0,002
P1	0,005	-	0,652	0,005
P2	0,004	0,652	-	0,006
P3	0,002	0,005	0,006	-

Tabel 3 merupakan nilai *p* derajat adhesi intraperitoneum antar kelompok dengan penjelasan sebagai berikut: 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).

**Tabel 4. Nilai *p* kadar TGF-β cairan peritoneum antar kelompok**

Variabel	K	P1	P2	P3
K	-	0,016	0,004	0,004
P1	0,016	-	0,262	0,010
P2	0,004	0,262	-	0,078
P3	0,004	0,010	0,078	-

Tabel 4 merupakan nilai *p* kadar TGF-β cairan peritoneum antar kelompok dengan penjelasan sebagai berikut: 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 2. Scatter Plot korelasi antara kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum**

Gambar 2 merupakan *Scatter Plot* korelasi antara kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum dengan penjelasan sebagai berikut: Hasil uji korelasi didapatkan korelasi searah yang kuat ( $r=0,666$ ) antara kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum pada tikus jantan wistar yang dibuat adhesi intraperitoneum dengan ( $p=0,003$ ), yang berarti semakin rendah kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum, maka derajat adhesi intraperitoneum juga semakin rendah.

Terbentuknya trauma pada peritoneum menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan, menyebabkan terlepasnya komponen selular pada lapisan mesotel pada fase awal inflamasi yang meliputi molekul adhesi berupa sitokin kemotaksis, interleukin seperti IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , serta TGF- $\beta$ . Molekul tersebut akan menstimulasi proses aktifitas kaskade sistem koagulasi darah dan menekan aktivitas *plasminogen activator* (PA) dan meningkatkan aktivitas *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1), yang berperan dalam proses fibrinolitik (Yetkin *et al*, 2009).

Vitamin E dapat berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikoagulan, antifibroblastik, anti adhesi dan dapat menekan produksi kolagen. Menurut Durmus *et al*, (2011) pada penelitiannya menyebutkan bahwa vitamin E terbukti memberikan hasil yang efisien dan aman pada pemberian topikal intraperitoneum dan dapat menurunkan derajat adhesi intraperitoneum paska laparotomi.

Vitamin E merupakan bahan anti adhesi yang murah, mudah didapat, efektif dalam memacu degradasi fibrin, serta dapat mengurangi terjadinya adhesi intraperitoneum pada tikus wistar, meskipun tidak dapat mencegah adhesi secara total yaitu dengan cara mengurangi produksi kolagen. Pemberian kombinasi dari vitamin E dalam *olive oil* dengan simvastatin oral yang dibandingkan dengan kontrol terbukti secara sangat bermakna dapat menurunkan derajat adhesi intraperitoneum (Kusumo, 2013).

Omega-3 berperan sebagai antiinflamasi pada peritoneum paska laparotomi dan pembentukan kolagen dari fibrin yang stabil dengan menekan aktivitas enzim siklooksigenase yang membentuk prostaglandin untuk penyembuhan luka pada peritoneum dengan mengaktifasi kaskade inflamasi melalui reseptor aktif peroksisom proliferasi yang diperantai oleh metabolisme lipid, oksidasi asam lemak dan produksi sitokin dapat menyebabkan efek antiadhesi dari omega-3 yaitu dengan mengurangi

tingkat pembentukan kolagen, faktor pertumbuhan endotel vaskular, serta mengurangi kadar TGF  $\beta$ -1 (Karakas *et al.*, 2014).

Pemberian kombinasi (P3) antara vitamin E dan omega-3 dalam *soybean oil* topikal intraperitoneum terbukti dapat menurunkan derajat adhesi secara signifikan bermakna dibanding dengan kelompok K, P1, P2, serta memberikan efek potensiasi untuk menurunkan kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum (Calder, 2010).

Menurut Pribadi, (2016) dalam penelitiannya disebutkan bahwa terdapat peningkatan kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum yang diikuti dengan peningkatan derajat adhesi intraperitoneum pada kelinci yang dilakukan laparoskopi dan laparotomi dan hasil uji korelasi antara kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum dihasilkan korelasi positif yang sangat kuat pada kelinci yang dibuat adhesi pada hewan coba berupa kelinci dengan cara laparoskopi dan laparotomi.

## KESIMPULAN

Pemberian kombinasi vitamin E dan omega-3 dalam *soybean oil* topikal intraperitoneum dapat menurunkan kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum, dibandingkan dengan yang tidak diberi kombinasi vitamin E dan omega-3 dalam *soybean oil* topikal intraperitoneum. Terdapat korelasi yang signifikan dan positif antara kadar TGF- $\beta$  cairan peritoneum dan derajat adhesi intraperitoneum pada wistar yang dilakukan abrasi ileum. Dengan demikian vitamin E dan omega-3 mampu mencegah adhesi intraperitoneum melalui mekanisme inhibisi TGF- $\beta$ .

## DAFTAR PUSTAKA

- Alonso, J. M., Alves, A. L., Watanabe, M. J., Rodrigues, C. A., & Hussni, A. C. 2014. "Peritoneal Response to Abdominal Surgery: The Role of Equine Abdominal Adhesions and Current Prophylactic Strategies". *Veterinary Medicine International*, Article ID 279730, 8.
- Bianchi, E., Boekelheide, K., Sigman, M., Lamb, J. D., Hall, J. S., & Hwang, K. 2016. "Ghrelin Inhibits Post-Operative Adhesions via Blockage of the TGF- $\beta$  Signaling Pathway". *PLoS ONE*, 11(4): e0153968.
- Buckley, D. C., Gilroy, W. D., & Serhan, N. C. 2014. "Proresolving of Acute Inflammation". *Immunity*.
- 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.
- 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.
- 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, S. A., Yildiz, H., Yaman, I., & Simsek, H. 2011. "Efficacy Of Vitamin E And Selenium For The Prevention Of Intra-Abdominal Adhesions In Rats: Uterine Horn Models". *CLINICS*, 66 (7), 1247-1251.
- Kamel, R. 2010. "Prevention of Postoperative Peritoneal Adhesions". *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 150, 111-118.

- Karakas, D. O., Yigitler, C., & Akin, *et al.* 2014. “Comparison of 4 % Icodextrin and Omega 3 Fatty Acids in Prevention of Peritoneal Adhesions”. *Indian J Surg*, 76(3),181–186.
- 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, B. H. M. 2013. *Effect of Combination Vitamin E Intraperitoneal and Simvastatin Oral Supplementation on Peritoneal Fluid Interleukin-10 Level, and Intraperitoneal Adhesion Degree*. Semarang: Department of Surgery, [Thesis] Faculty of Medicine, Diponegoro University, Kariadi General Hospital.
- Leary, Underwood, Anthony, Cartner, Corey, Grandin *et al.* 2013. “AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals”. *America: American Veterinary Medical Association*.
- Nair, S.K., Bhat, I.K., Aurora, A.L. 1974. “Role of proteolytic enzyme in the prevention of postoperative intraperitoneal adhesions”. *Arch Surg* 1974; 108: 849–853.
- Pribadi, A. 2016. Cortisol, Transforming Growth Factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) Level and the Intraperitoneal Adhesion Degree After Laparoscopy And Laparotomi Experimental Research On Rabbit Which Carried Out Ileum Abrasion. [Tesis]. Department of Surgery, Faculty of Medicine, Diponegoro University.
- Ridwan, E. 2013. “Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan”. *J Indon Med Assoc*, (63):3.
- Rocca, A., Aprea, G., Surfaro, G., Amato, M., Giuliani, A., & Paccone, *et al.* 2016. “Prevention and treatment of peritoneal adhesions in patients affected by vascular diseases following surgery: a review of the literature”. *Open Med*, 11, 106-114.
- Subowo. 2014. *Imunobiologi edisi 3*. Jakarta: Sagung Seto.
- Yetkin, G., Uludag, M., Citgez, B., Karakoc, S., Polat, N., & Kabulcuoglu, *et al.* 2009. “Prevention of Peritoneal Adhesions by Intraperitoneal Administration of Vitamin E and Human Amniotic Membrane”. *International Journal of Surgery*, 7, 561-565.