

**Pemberian Fenitoin Terhadap Jumlah Fibroblas dan
Angiogenesis pada Fistula Enterokutan Tikus Wistar**

*Effect Phenytoin Therapy to Fibroblasts and Angiogenesis of
Enterocutaneous Fistula in Wistar rat*



Tesis
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S2

Magister Ilmu Biomedik

Muhammad Budiman Irpan Bachtiar
22010117420027

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG

2019

TESIS

**Pemberian Fenitoin Terhadap Jumlah Fibroblas dan Angiogenesis pada
Fistula Enterokutan Tikus Wistar**

Disusun Oleh:

Muhammad Budiman Irpan Bachtiar

22010117420027

Telah dipertahankan di depan tim penguji pada tanggal 31 Juli 2019 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. dr. I. Riwanto, Sp.B-KBD

NIP 195001101976031001

Penguji Ketua

Dr. dr. Hardian

NIP 196304141990011001

Penguji Anggota

dr. Yuriz Bakhtiar, PhD, Sp.BS (K)

NIP 197905172008121002

Dr. Muflihatul Muniroh, M.Si.Med, PhD

NIP 198302182009122004

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas
Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, M.Kes, Sp.B, Sp.B(K)Onk

NIP 197905172008121002

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil karya saya sendiri dan didalamnya tidak unsur-unsur yang tergolong plagiarisme sebagaimana tercantum dalam Permendiknas No. 17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka

Semarang, Juli 2019

Muhammad Budiman Irpan
Bachtiar

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Muhammad Budiman Irpan Bachtiar
NIM : 22010117420027
Tempat / Tanggal Lahir : Padang / 19 Mei 1988
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN 001 Rintis, Pekanbaru : lulus tahun 1999
2. MTs Ma'had Al-Zaytun : lulus tahun 2004
3. MA Ma'had Al-Zaytun : lulus tahun 2007
4. FK UPN "Veteran" Jakarta : lulus tahun 2014
5. Magister Ilmu Biomedik FK Undip : 2018 – sekarang

C. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter internship RSUD Jailolo, Kab Halmahera Barat - Maluku Utara (2014-2015)
2. *Resident Medical Officer* Siloam Hospital Bogor (2016-2017)

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua
Ayah : H. Bachtiar Mailun, SE
Ibu : Hj. Marhamah Bachtiar, Bac
2. Nama Istri : dr. Firdha Aulia Nisa
3. Nama Anak : Khayra Asheeqa Azmya

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan berkah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Pemberian Fenitoin Terhadap Jumlah Fibroblas dan Angiogenesis pada Penutupan Spontan Fistula Enterokutan Tikus Wistar”. Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat tugas akhir untuk memperoleh gelar Sarjana S-2 Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang. Tesis ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap perkembangan ilmu di bidang biomedik, bedah digestif, farmakologi, dan patologi anatomi.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes, Sp. S (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
2. Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, M.Kes, Sp.B, Sp.B(K)Onk selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
3. Prof. Dr. dr. I Riwanto, Sp.B - KBD, guru sekaligus pembimbing I dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga, dan bimbingannya yang diberikan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.
4. Dr. dr. Hardian, guru sekaligus pembimbing II dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga, dan bimbingannya yang diberikan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

5. Segenap staf pengajar Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberi pengetahuan dan bimbingan kepada kami serta memberikan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister dan penyusunan tesis ini.
6. Segenap staf administrasi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah membantu penulis dalam menempuh pendidikan.
7. Pimpinan dan staf Institut Biosain Universitas Brawijaya, Malang atas bantuan dan kerjasamanya dalam melaksanakan penelitian untuk menyelesaikan tesis ini.
8. Pimpinan dan staf STIFAR, Semarang, atas bantuan dan kerjasamanya dalam pembuatan obat topikal dalam penelitian ini
9. dr. Hermawan Istiadi, Sp.PA staf Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang atas bantuan pembacaan preparat hasil penelitian tesis ini.
10. Istri tercinta dr. Firdha Aulia Nisa atas segenap kesabaran serta dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
11. Orang tua, kakak-kakak, abang-abang atas dukungannya dalam menyelesaikan tesis ini.
12. Segenap orang yang membantu dalam penelitian dan penulisan tesis ini yang namanya tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik untuk kesempurnaan tesis

ini. Akhir kata, penulis memohon maaf sebesar-besarnya atas kesalahan dan kekhilafan, sengaja maupun tidak sengaja baik itu perkataan atau perbuatan yang penulis lakukan selama dalam penyelesaian tesis ini,

Semarang, Juli 2019

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
ABSTRAK	xv
<i>ABSTRACT</i>	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	5
1.2.1 Masalah Umum	5
1.2.2 Masalah Khusus	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1 Tujuan Umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.5 Orisinalitas.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Fistula Enterokutan.....	10
2.1.1 Definisi	10
2.1.2 Patofisiologi	10

2.1.3 Klasifikasi.....	10
2.1.4 Penatalaksanaan	11
2.1.5 Penutupan Spontal Fistula Enterokutan	15
2.2 Fenitoin.....	17
2.2.1 Penggunaan Fenitoin	17
2.2.2 Fenitoin Dalam Penyembuhan Luka	18
2.2.3 Fenitoin Topikal	20
2.2.4 Efek Samping Fenitoin.....	21
2.3 Peran Fibroblas Dalam Penyembuhan Luka	22
2.4 Peran Angiogenesis Dalam Penyembuhan Luka.....	23
2.5 Kerangka Teori.....	24
2.6 Kerangka Konsep	25
2.7 Hipotesis Penelitian.....	25
2.7.1 Hipotesis Mayor	25
2.7.2 Hipotesis Minor.....	26
BAB III METODE PENELITIAN.....	27
3.1 Rancangan Penelitian	27
3.2 Ruang Lingkup	28
4.2.1 Ruang Lingkup Disiplin Ilmu	28
4.2.2 Ruang Lingkup Tempat.....	29
4.2.3 Ruang Lingkup Waktu	29
3.3 Sample Penelitian	29
3.4 Variabel Penelitian	31
4.4.1 Variabel Bebas	31
4.4.2 Variabel Tergantung.....	31
3.5 Definisi Operasional.....	32
3.6 Bahan dan Alat Penelitian	33
3.6.1 Bahan untuk Perlakuan.....	33

3.6.2 Alat dan Bahan Prosedur Pembuatan Fistula Enterokutan.....	34
3.6.3 Preparat Mikroskopik	35
3.6.4 Alat untuk Pembuatan Sediaan Penelitian	35
3.6.5 Alat untuk Dokumentasi Sediaan	36
3.7 Pelaksanaan Penelitian	36
3.8 Alur Kerja.....	38
3.9 Prosedur Penelitian.....	39
3.9.1 Prosedur Perlakuan Setelah Pembuatan Fistula Enterokutan.....	39
3.9.2 Prosedur Pembuatan Preparat Histologi.....	40
3.10 Pengolahan dan Analisis Data	42
4.11 Persyaratan Etik Penelitian.....	43
BAB IV HASIL PENELITIAN	44
4.1 Karakteristik Sampel Penelitian	44
4.2 Jumlah fibroblas	46
4.2.1 Distribusi Data.....	46
4.2.2 Uji Statistik jumlah Fibroblas	47
4.3 Jumlah Angiogenesis.....	49
4.3.1 Distribusi Data.....	49
4.3.2 Uji Statistik Jumlah Angiogenesis	50
BAB V PEMBAHASAN	52
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	56
6.1 Kesimpulan.....	56
6.2 Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Orisinalitas Penelitian	8
Tabel 2. Komposisi Elektrolit pada Cairan Saluran Cerna berdasarkan Lokasi ...	12
Tabel 3. Faktor prognosis penutupan spontan pada fistula enterokutan	16
Tabel 4. Definisi Operasional	32
Tabel 5. Konversi dosis manusia dan antar jenis hewan	34
Tabel 6. Tabel deskripsi dan normalitas data berat badan	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur Kimia Fenitoin	17
Gambar 2. Kerangka Teori.....	24
Gambar 3. Kerangka Konsep	25
Gambar 4. Rancangan Penelitian	27
Gambar 5. Alur Penelitian.....	38
Gambar 6. Konsolidasi Penelitian.....	45
Gambar 7. Gambaran histopatologi jumlah fibroblas	46
Gambar 8. Grafik boxplot dari jumlah fibroblas.....	47
Gambar 9. Gambaran histopatologi jumlah angiogenesis.....	49
Gambar 10. Grafik boxplot dari jumlah angiogenesis	50

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 *Ethical Clearance*
- Lampiran 2 *Output analisa statistis SPSS*
- Lampiran 3 Dokumentasi

DAFTAR SINGKATAN

ECF	: Enterocutaneous fistula
ECM	: Extra Cellular Matrix
FGF	: Fibroblast Growth Factor
FRIENDS	: Foreign body, radiation, inflammation, infection, inflammatory bowel disease, epithelization of the fistula tract, neoplasms, distal obstructions, and steroid
HCL	: Hydrogen Chloride
HE	: Hematoxilin Eosin
IFN	: Interferon
IL	: Interleukin
LPS	: Lipopolisakarida
M1	: Makrofag 1
M2	: Makrofag 2
MMPs	: Matrix Metalloproteinases
NaCl	: Natrium Chloride
NO	: Nitric Oxide
NPWT	: Negative Pressure Wound Therapies
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
PGA	: Polyglycolic Acid
ROS	: Reactive Oxygen Species
STIFAR	: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi
BPOM	: Badan Pengawas Obat dan Makanan
TGF	: Tumor Growth Factor
TNF	: Tumor Necrosis Factor
TPN	: Total parenteral nutrition
VAC	: Vacuum assisted closure
VEGF	: Vascular endothel growth factor
WHO	: World Health Organization

Pemberian Fenitoin Terhadap Jumlah Fibroblas dan Angiogenesis pada Fistula Enterokutan Tikus Wistar

M Budiman*, Hardian**, I Riwanto***

*) Mahasiswa Program Studi Magister Biomedik Universitas Diponegoro

***) Departemen Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

****) Sub Bag. Bedah Digestif Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

Abstrak

Latar belakang: Perawatan luka yang komprehensif pada fistula enterokutan menjadi pilihan terapi disaat ini, dengan penutupan fistula tanpa dilakukannya tindakan operasi meningkat dari 19% hingga 92%. Fenitoin dilaporkan memiliki efek terapi pada penyembuhan luka pada beberapa studi.

Tujuan: Mengetahui adanya pengaruh pemberian terapi fenitoin terhadap fistula enterokutan dilihat dari jumlah fibroblast dan angiogenesis.

Metode: Penelitian ini adalah studi eksperimental dengan desain *Randomized Controlled trial with post test only group design*, menggunakan 18 ekor tikus jantan galur wistar yang dibagi pada grup kontrol (K), P1 (terapi fenitoin topikal), P2 (terapi fenitoin oral) yang sebelumnya telah dilakukan pembuatan fistula enterokutan. Setelah 7 hari perlakuan maka diterminasi untuk pengambilan jaringan luka fistula dan dilakukan pemeriksaan histopatologi untuk melihat jumlah fibroblas dan jumlah angiogenesis dengan pewarnaan *Hematoxilin Eosin*.

Hasil: Rerata jumlah fibroblas didapatkan kelompok K, P1, P2 berturut-turut 69.50 ± 10.07 , 155.50 ± 13.50 , 182.16 ± 11.85 (*One way Anova* $P = 0.001$) dan rerata jumlah angiogenesis didapatkan K, P1, P2 berturut-turut 95.66 ± 9.72 , 178.66 ± 11.75 , 205.16 ± 9.74 (*One way Anova* $P = 0.001$). *Post Hoc Test* menunjukkan jumlah antar kelompok P1 vs K ($P=0.001$), P2 vs K ($P=0.001$), P1 vs P2 ($P=0.004$) dan pada jumlah angiogenesis antar kelompok P1 vs K ($P=0.001$), P2 vs K ($P=0.001$), P1 vs P2 ($P=0.002$)

Kesimpulan: Pemberian fenitoin topikal dan oral meningkatkan jumlah fibroblast dan angiogenesis pada fistula enterokutan tikus Wistar, dengan pemberian oral yang lebih tinggi.

Kata kunci: Fistula enterokutan, fenitoin, fibroblas, angiogenesis

EFFECT PHENYTOIN THERAPY TO FIBROBLASTS AND ANGIOGENESIS OF ENTEROCUTANEOUS FISTULA IN WISTAR RAT

Muhammad Budiman Irpan Bachtiar*, **Hardian****, **Ignatius Riwanto*****

*) Diponegoro University Biomedical Master's Student

***) Department of Physiology, Faculty of Medicine, Diponegoro University

****) Department of Digestive Surgery, Faculty of Medicine, Diponegoro University

Background:Comprehensive wound care in enterocutaneous fistulas is a therapeutic choice at this time, with the closure of the fistula without surgery performed increasing from 19% to 92%. Phenytoin has been reported to have anticollagenase effect on wound healing

Aim:The study was aimed to demonstrate the effect of phenytoin on closure of enterocutaneous fistula seen from the number of fibroblasts and angiogenesis

Methods:This study used "Randomized Controlled trial with post test only group design" on 18 male wistar rats that were selected and divided into three group: group(K) control, P1(topical phenytoin), P2(oral phenytoin) which previously been made the enterocutaneous fistula. After 7 days of treatment, they were terminated and histopathological examinations were performed to see the number of fibroblasts and the amount of angiogenesis by Hematoxilin Eosin

Results:Mean of the number of fibroblasts were found in groups K, P1,P2 were 69.50 ± 10.07 , 155.50 ± 13.50 , 182.16 ± 11.85 (One way Anova $P=0.001$) and mean of the number of angiogenesis were found in groups K, P1,P2 95.66 ± 9.72 , 178.66 ± 11.75 , $205,16 \pm 9.74$ (One way Anova $P=0.001$). Post Hoc Test showed that number of fibroblast between group P1 vs K($P=0.001$), P2 vs K($P=0.001$), P1 vs P2($P=0.004$) and in the number of angiogenesis between group P1 vs K($P=0.001$), P2 vs K($P=0.001$), P2 vs P1($P=0.002$)

Conclusion:The therapy of topical and oral phenytoin increased the number of fibroblasts and angiogenesis in Wistar rat enterocutaneous fistulas, where oral phenytoin therapy give better outcomes.

Key words:Enterocutaneous fistulas, phenytoin, fibroblasts