

**Pengaruh Pemberian Fenitoin Oral dan Vitamin C Oral Terhadap
Jumlah Fibroblas dan Angiogenesis pada Fistula Enterokutan Tikus
Wistar**

*The Effect of Oral Phenytoin and Vitamin C Therapy on the Fibroblast and
Angiogenesis of Enterocutaneous Fistula of Wistar rat*



Tesis

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Pasca Sarjana S2**

Magister Ilmu Biomedik

Yohannes Sugiarto

22010118420024

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2020

TESIS

**Pengaruh Pemberian Fenitoin Oral dan Vitamin C Oral Terhadap Jumlah
Fibroblas dan Angiogenesis pada Fistula Enterokutan Tikus Wistar**

Disusun Oleh:

Yohannes Sugiarto

22010118420024

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada tanggal 20 Oktober 2020

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

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

Dr. dr. Trilaksana Nugroho, M.Kes, FISCAM, Sp.M(K)
NIP 197101271999031001

Penguji Ketua

Penguji Anggota

Dr. dr. Agustini Utari, MSi.Med, Sp.A (K)
NIP 197208172000122006

dr. Endang Mahati, M.Sc, PhD
NIP 198310032008122003

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 197501242008011006

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, Oktober 2020

Yohannes Sugiarto

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Yohannes Sugiarto

NIM : 22010118420024

Jenis Kelamin : Laki-laki

Tempat/Tanggal lahir : Jakarta, 26 Juni 1992

Agama : Kristen

B. Riwayat Pendidikan

2019-sekarang : Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas

Diponegoro

2014-2016 : Program Pendidikan Profesi Dokter Universitas Tarumanagara

2010-2014 : Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Universitas Tarumanagara

2007-2010 : SMAK IPEKA Sunter II

2004-2007 : SMP St.Cicilia

1998-2004 : SD St. Cicilia

C. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter Internsip RSUD Karawang (2016-2017)

D. Riwayat Keluarga

Nama Orang Tua

Ayah : Sugiarto

Ibu : OH Lia Natalia

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 “Pengaruh Pemberian Fenitoin Oral dan Vitamin C Oral Terhadap Jumlah Fibroblas dan Angiogenesis pada 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. Trilaksana Nugroho, M.Kes, FISCM, Sp.M(K), guru sekaligus pembimbing II dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga, dan bimbingannya yang diberikan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.
5. Dr. dr. Agustini Utari, MSi.Med, Sp.A (K), guru sekaligus penguji ketua dalam penelitian ini.
6. dr. Endang Mahati, M.Sc, PhD, guru sekaligus penguji anggota dalam penelitian ini.
7. 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.
8. Segenap staf administrasi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah membantu penulis dalam menempuh pendidikan.
9. Pimpinan dan staf Institut Biosains Universitas Brawijaya, Malang atas bantuan dan kerjasamanya dalam melaksanakan penelitian dan pembacaan preperat hasil penelitian tesis ini.
10. Staf Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Semarang atas bantuan pembacaan preperat hasil penelitian tesis ini.
11. Orang tua 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, Oktober 2020

Yohannes Sugiarto

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvii
Abstrak	xix
Abstract	xxi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.2.1 Masalah Umum	6
1.2.2 Masalah Khusus	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.3.1 Tujuan Umum	7
1.3.2 Tujuan Khusus.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	8

1.5 Orisinalitas Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1 Fistula Enterokutan.....	12
2.1.1 Definisi	12
2.1.2 Epidemiologi	12
2.1.3 Etiologi dan Faktor Risiko	13
2.1.4 Patofisiologi	14
2.1.5 Klasifikasi.....	15
2.1.6 Manifestasi Klinis	18
2.1.7 Diagnosis	19
2.1.8 Penatalaksanaan	21
2.1.9 Komplikasi	28
2.1.10 Prognosis	29
2.2 Fenitoin.....	30
2.2.1 Penggunaan Fenitoin	30
2.2.2 Farmakokinetik Fenitoin	31
2.2.3 Farmakodinamik Fenitoin Dalam Penyembuhan Luka.....	36
2.2.4 Interaksi Obat	39
2.2.5 Efek Samping Fenitoin.....	40
2.2.6 Fenitoin pada Tatalaksana Fistula Enterokutan	41
2.3 Vitamin C	42
2.3.1 Farmakokinetik dan Farmakodinamik Vitamin C.....	45

2.3.2 Vitamin C Dalam Penyembuhan Luka.....	47
2.3.3 Efek Samping Vitamin C	48
2.3.4 Interaksi Vitamin C dan Fenitoin	49
2.4 Proses Penyembuhan Luka.....	50
2.4.1 Fase Hemostasis	52
2.4.2 Fase Inflamasi	54
2.4.3 Fase Proliferatif	63
2.4.4 Fase Remodelling.....	68
2.4.5 Peran Fibroblas Dalam Penyembuhan Luka	71
2.4.6 Peran Angiogenesis Dalam Penyembuhan Luka.....	73
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS.....	76
3.1 Kerangka Teori.....	76
3.2 Kerangka Konsep	77
3.3 Hipotesis Penelitian.....	77
3.3.1 Hipotesis Mayor	77
3.3.2 Hipotesis Minor.....	77
BAB IV METODE PENELITIAN	78
4.1 Rancangan Penelitian	78
4.2 Sample Penelitian.....	80
4.3 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	80
4.4 Variabel Penelitian	81
4.4.1 Variabel Bebas	81

4.4.2 Variabel Tergantung.....	81
4.5 Definisi Operasional.....	81
4.6 Bahan dan Alat Penelitian	82
4.6.1 Bahan untuk Perlakuan.....	82
4.6.2 Alat dan Bahan Prosedur Pembuatan Fistula Enterokutan.....	83
4.6.3 Bahan Untuk Pemeriksaan Histopatologi Rutin.....	84
4.6.4 Alat untuk Pembuatan Sediaan Penelitian	84
4.6.5 Alat untuk Dokumentasi Sediaan.....	85
4.7 Pelaksanaan Penelitian	85
4.8 Prosedur Penelitian.....	86
4.8.1 Prosedur Pembuatan Fistula Enterokutan	86
4.8.2 Prosedur Perlakuan.....	87
4.8.3 Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi.....	88
4.8.4 Prosedur Pembacaan Preparat Histopatologi	90
4.9 Alur Kerja.....	91
4.10 Analisis Data	92
4.11 Persyaratan Etik Penelitian.....	92
BAB V HASIL PENELITIAN	93
5.1 Karakteristik Sampel Penelitian	94
5.2 Jumlah Fibroblas	95
5.2.1 Distribusi Data.....	95
5.2.2 Uji Statistik Jumlah Fibroblas	96

5.3 Jumlah Angiogenesis.....	98
5.3.1 Distribusi Data	98
5.3.2 Uji Statistik Jumlah Angiogenesis.....	99
BAB VI PEMBAHASAN.....	101
BAB VII KESIMPULAN dan SARAN.....	105
7.1 Kesimpulan.....	105
7.1.1 Kesimpulan Umum.....	105
7.1.2 Kesimpulan Khusus	105
7.2 Saran.....	106
DAFTAR PUSTAKA	107
LAMPIRAN	117

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Orisinalitas Penelitian	8
Tabel 2. Etiologi Fistula Enterokutan	13
Tabel 3. Faktor Prediktif Fistula dapat Menutup Spontan	29
Tabel 4. Efek samping dari fenitoin	41
Tabel 5. Faktor-faktor yang mempengaruhi penyembuhan luka	51
Tabel 6. Definisi Operasional	81
Tabel 7. Konversi dosis	83
Tabel 8. Tabel deskriptif normalitas dan homogenitas berat badan	94

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Hasil Foto Polos pada Pasien dengan Fistula Enterokutan.....	19
Gambar 2. SBFT pada Pasien dengan Riwayat Operasi Hernia	20
Gambar 3. Hasil CT-scan pada Pasien yang Memiliki Fistula Enterokutan setelah Pencabutan Ileostomi	20
Gambar 4. Pemeriksaan MRI (T2-weighted) pada Pasien dengan Fistula	21
Gambar 5. Struktur kimia fenitoin	30
Gambar 6. Mekanisme kerja AED	33
Gambar 7. Gambaran skematis penyembuhan luka.....	39
Gambar 8. Respon sel selama fase hemostasis dalam proses penyembuhan luka .	53
Gambar 9. Fase Inflamasi	55
Gambar 10. Peran neutrofil dalam penyembuhan luka.....	57
Gambar 11. Fenotip makrofag dalam penyembuhan luka	60
Gambar 12. Sel dendritik dan sel T dalam respon penyembuhan luka.....	62
Gambar 13. Neoangiogenesis.....	65
Gambar 14. Produksi Kolagen dan Proliferasi Fibroblas.....	67
Gambar 15. Re-epitelisasi	68
Gambar 16. Fase Remodeling	71
Gambar 17. Fibroblas dalam Penyembuhan Luka	73
Gambar 18. Angiogenesis dalam Penyembuhan Luka	75
Gambar 19. Kerangka Teori.....	76
Gambar 20. Kerangka Konsep	77
Gambar 21. Rancangan Penelitian	78
Gambar 22. Alur Kerja.....	91
Gambar 23. Consort Diagram	93
Gambar 24. Gambar Histopatologi Jumlah Fibroblas dengan Pengecatan Hematoxylin-eosin dengan pembesaran 400x	95

Gambar 25. Gambar Grafik Boxplot dari Jumlah Fibroblas dari masing-masing
Kelompok96

Gambar 26. Gambar Histopatologi Jumlah Angiogenesis dengan Pengecatan
Hematoxylin-eosin dengan pembesaran 400x98

Gambar 27. Gambar Grafik Boxplot dari Jumlah Angiogenesis dari masing-masing
Kelompok99

DAFTAR SINGKATAN

AA	: Asam Askorbat
APC	: <i>Antigen Presenting Cells</i>
BPOM	: Badan Pengawas Obat dan Makanan
CCL	: <i>Chemokine Ligand</i>
CTGF	: <i>Connective Tissue Growth Factor</i>
CYP	: <i>Cytochromes</i>
ECF	: <i>Enterocutaneous Fistula</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
EPC	: <i>Endothelial Precursor Cells</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
ICAM	: <i>Intercellular Adhesion Molecule</i>
ICC	: <i>Intra-class Corelation Coefficient</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
Ig	: Immunoglobulin
IL	: <i>Interleukin</i>
HE	: <i>Hematoxylin-Eosin</i>
KGF	: <i>Keratinocyte Growth Factor</i>
MCP	: <i>Monocyte Chemoattractant Protein</i>
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinases</i>
NETs	: <i>Neutrophil Extracellular Traps</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
NPWT	: <i>Negative Pressure Wound Therapies</i>
PCR	: <i>Polimerase Chain Reaction</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
RDA	: <i>Recommended Dietary Allowance</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>

SBFT : *Small Bowel Follow-through*
SVCT : *Sodium Dependent Vitamin C Transporter*
TGF : *Transforming Growth Factor*
TIMP : *Tissue Inhibitors of Metalloproteinase*
TLR : *Toll-like Receptor*
TNF : *Tumor Necrosis Factor*
TPN : *Total Parenteral Nutrition*
VAC : *Vacuum Assisted Closure*
VCAM: *Vascular Cell Adhesion Molecule*
VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*
Vwf : *von Willebrand Factor*

**PENGARUH PEMBERIAN FENITOIN ORAL DAN VITAMIN C ORAL
TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS DAN ANGIOGENESIS PADA FISTULA
ENTEROKUTAN TIKUS WISTAR**

ABSTRAK

Pendahuluan: *Enterocutaneous fistula* (ECF) digambarkan sebagai tragedi di bidang bedah yang merupakan komplikasi bedah yang jarang dan bila tidak dikelola dengan baik berakibat morbiditas dan mortalitas yang cukup besar. Perkembangan terapi ECF yang multidisiplin tetap menjadi masalah, karena masih tingginya angka mortalitas, sehingga penelitian terhadap manfaat fenitoin dan vitamin C terhadap penyembuhan luka ECF perlu dikembangkan lebih lanjut.

Tujuan: Mengetahui pengaruh pemberian fenitoin oral dan vitamin C oral, secara kombinasi ataupun tunggal terhadap jumlah fibroblas dan angiogenesis pada fistula enterokutan tikus Wistar.

Metode: Penelitian ini menggunakan studi eksperimental dengan desain “*randomized controlled trial with post test only group design*” yang menggunakan tikus *Ratus norvegicus* jantan galur wistar, dibagi ke dalam empat kelompok secara *random* yaitu, kelompok Kontrol (K), Perlakuan 1, kombinasi fenitoin dan vitamin C (P1), Perlakuan 2, fenitoin (P2), Perlakuan 3, Vitamin C (P3). Penelitian dilakukan antara April – Juni 2020. Hubungan dari setiap variabel dalam penelitian ini dianalisis menggunakan uji *One Way Anova*, dilanjutkan dengan *Post-Hoc Test*.

Hasil: Nilai rata-rata fibroblas pada kelompok K (501.86 ± 107.10), P1 (861.53 ± 25.99), P2 (719.93 ± 24.61), P3 (781.46 ± 28.23). Nilai rata-rata angiogenesis pada kelompok K (18.63 ± 4.24), P1 (48.86 ± 10.23), P2 (26.26 ± 1.64), P3 (31.96 ± 2.97).

Terdapat perbedaan jumlah fibroblas dan angiogenesis yang bermakna pada masing-masing kelompok ($p < 0.05$).

Kesimpulan: Pemberian fenitoin oral dan vitamin C oral secara tunggal ataupun kombinasi meningkatkan jumlah fibroblas dan angiogenesis fistula enterokutan tikus wistar, pemberian secara kombinasi lebih baik dibanding tunggal.

Kata Kunci: Fistula enterokutan, Fenitoin, Vitamin C, Fibroblas, Angiogenesis

***The Effect of Oral Phenytoin and Vitamin C Therapy on the Fibroblast and
Angiogenesis of Enterocutaneous Fistula of Wistar rat***

ABSTRACT

Introduction: Enterocutaneous fistula (ECF) has been considered as a surgical tragedy, due to rare post-surgical complication, if it is not managed appropriately result in high morbidity and mortality. The development of multidisciplinary ECF therapy remains a problem, due to the high mortality rate, so research on the benefits of phenytoin and vitamin C on ECF wound healing needs to be further developed.

Objective: To evaluate the effect of oral phenytoin and vitamin C therapy, either in combination or single, to the number of fibroblast and angiogenesis of enterocutaneous fistula of Wistar rat.

Methods: This study used an experimental study with a "randomized controlled trial with post test only group design" using Ratus Norvegicus male Wistar rat, divided into four groups randomly, namely, the Control group (K), Treatment 1, phenytoin-Vitamin C (P1), Treatment 2, phenytoin (P2), Treatment 3, vitamin C (P3). The research was conducted between April - June 2020. The relationship of each variables in this study were analyzed using the One Way Anova test, followed by the Post-Hoc Test.

Results: The mean value of fibroblast in groups K (501.86 ± 107.10), P1 (861.53 ± 25.99), P2 (719.93 ± 24.61), P3 (781.46 ± 28.23). The mean value of angiogenesis in groups K (18.63 ± 4.24), P1 (48.86 ± 10.23), P2 (26.26 ± 1.64), P3 (31.96 ± 2.97). There were significant differences in the number of fibroblast and angiogenesis in each group ($p < 0.05$).

Conclusion: Oral phenytoin and vitamin C therapy, single or combination increased the number of fibroblast and angiogenesis of enterocutaneous fistula of Wistar rat, combined administration is better than single.

Keywords: Enterocutaneous fistula, Phenytoin, Vitamin C, Fibroblast, Angiogenesis

