

EKSTRAK BULBUS (UMBI) BAWANG DAYAK

(Eleutherine americana L. Merr.)

**MENURUNKAN SKORING ADESI INTRA ABDOMINAL
PASCA LAPAROSKOPI**

**(melalui mekanisme modulasi inflamasi, modulasi stres oksidatif dan
stabilisator sel mast)**

DISERTASI



Oleh

Hery Poerwosusanta

NIM. 137070100011002

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

MINAT BIOMEDIK

PROGRAM PASCASARJANA FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

EKSTRAK BULBUS (UMBI) BAWANG DAYAK
(*Eleutherine americana* L. Merr.)

**MENURUNKAN SKORING ADESI INTRA ABDOMINAL
PASCA LAPAROSKOPI**
(melalui mekanisme modulasi inflamasi, modulasi stres oksidatif dan
stabilisator sel mast)

DISERTASI



Nama : Hery Poewosusanta
NIM : 137070100011002
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Minat : Biomedik

Menyetujui
KOMISI PEMBIMBING

Ketua,

Prof. Dr.dr. Edi Widjajanto, MS., SpPK(K)
Promotor

Anggota 1

Anggota 2

Dr.dr. Karyono Mintaroem, SpPA
Ko-Promotor 1

Prof.Dr.dr. Zairin Noor, SpOT(K). MM. FICS
Ko-Promotor 2

JUDUL DISERTASI

EKSTRAK BULBUS (UMBI) BAWANG DAYAK**(*Eleutherine americana* L. Merr.)****MENURUNKAN SKORING ADESI INTRA ABDOMINAL****PASCA LAPAROSKOPI****(Melalui mekanisme modulasi inflamasi, modulasi stres oksidatif dan stabilisator sel mast)**

Nama : Hery Poerwosusanta

NIM : 137070100011002

Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran

Minat : Biomedik

KOMISI PEMBIMBING

Promotor : Prof. Dr.dr. Edi Widjajanto, MS., SpPK(K)

Ko-Promotor 1 : Dr.dr. Karyono Mintaroem, SpPA

Ko-Promotor 2 : Prof.Dr.dr. Zairin Noor, SpOT(K). MM. FICS

TIM PENGUJI

Penguji 1 : Prof. dr. Moch. Aris Widodo. MS. SpFK., Ph.D

Penguji 2 : Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto SpB SpBP-RE(K)

Penguji Luar 1 : Dr. dr Ika Kustiyah Oktaviyanti M.Kes. SpPA

Penguji Luar 2 : dr. Gunadi SpBA, PhD

Tanggal Ujian tertutup : 24 September 2019

Tanggal Ujian Terbuka : 29 Oktober 2019

KOMUNIKASI dan PUBLIKASI ILMIAH

Poerwosusanta, H, Utomo, D.H., Noor, Z., Oktaviyanti, I.K, Mintaroem, K, Pardjianto, B, Widodo, M.A. and Widjanto, E, 2019. Eleutherine americana Merr. extract regulates mitochondrial calcium homeostasis in intra-abdominal adhesion: A computational study. *Drug Invention Today*, 11(3). P:526-30.

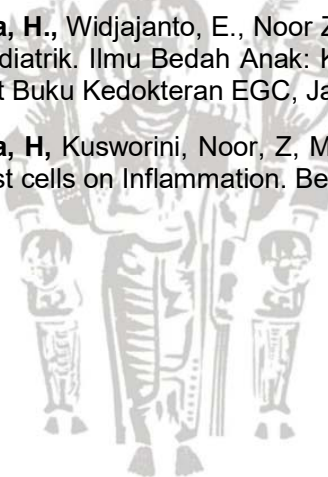
Poerwosusanta, H, Gunadi, Noor, Z, Oktaviyanti, I.K, Mintaroem, K, Pardjianto, B, Widodo, M.A. and Widjanto, E, 2019. The Effect of Laparoscopy on Mast Cell Degranulation and Mesothelium Thickness in Rats. *BMC Surgery*. (Under Review)

Poerwosusanta, H, Ali, M., Noor, Z, Mintaroem, K. and Widjanto, E, 2018. Potensi Ekstrak Bawang Dayak (Eleutherine sp) Sebagai Obat Herbal Terstandar (OHT) Pada Pengobatan Medis. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(2), pp.242-51.

Poerwosusanta, H, Noor, Z, Mintaroem, K, Widjanto, E., Ali, M, 2019. Extraction The Dayak Onion (Eleutherine Sp): Scientific based Herbal Medicine (OHT) Production Protocol. *Berkala Kedokteran*.

Poerwosusanta, H., Widjanto, E., Noor Z., 2014 Kejadian stress oksidatif pada laparoskopik pediatrik. *Ilmu Bedah Anak: Kasus harian, IGD dan kamar operasi*. Edisi 1, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, pp.123-31.

Poerwosusanta, H, Kusworini, Noor, Z, Mintaroem, K. and Widjanto, E, 2019. The Role of Mast cells on Inflammation. *Berkala Kedokteran*. (Under review).



RINGKASAN

Hery Poerwosusanta, NIM. 137070100011002. Program Doktor Ilmu Kedokteran Jurusan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, 29 Oktober 2019. Ekstrak Bulbus (Umbi) Bawang Dayak (Eleutherine Americana L. Merr) menurunkan Skoring Adesi Pasca Laparoskopi: (melalui mekanisme modulasi inflamasi, modulasi stress oksidatif dan stabilisator sel mast). Komisi Pembimbing Ketua: Edi Widjajanto, Anggota: Karyono Mintaroem, Zairin Noor.

Adesi intra-abdominal adalah perlekatan tidak normal berbentuk pita dengan vaskularisasi pada organ intra abdomen. Laparoskopi pembedahan *minimal invasive* mulai menggantikan laparotomy. Laparoskopi belum mampu menurunkan adesi intra-abdominal. Diduga sel mast berperan pada adesi intra-abdominal. Perlu dilakukan penelitian tentang peran sel sel mast pada adesi intra-abdominal. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh tekanan pada sel mast pada adesi intra-abdominal, serta membuktikan efek ekstrak bawang Dayak terhadap sel mast dan adesi intra-abdominal.

Dengan rancangan *post test only control group design*, memenuhi syarat etik penelitian hewan, dilakukan penelitian pada 3 tahap penelitian menggunakan 108 hewan coba *rattus norvegicus* membanding profil inflamasi, profil stres oksidatif, profil sel mast, profil matrik ekstra selular peritoneal, skoring adesi intra-abdominal dan perubahan mikroskopis. Penelitian bertujuan membuktikan hipotesis yaitu ada perbedaan skoring adesi intra-abdominal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak umbi (bulbus) bawang Dayak.

Pada penelitian tahap 1 insiliko ekstrak bawang Dayak berpotensi besar sebagai penstabil sel mast melalui regulasi ion Ca^{2+} terutama pada Ca^{2+} kanal mitokondria VDAC1 dan MARCK (mRyR). Pada penelitian tahap 2 terbukti tekanan laparoskopi 10 mmHg meningkatkan skoring adesi intra-abdominal akibat peningkatan kadar TGF- β , peningkatan kadar TOS dan OSI, peningkatan jumlah dan degranulasi sel mast dengan peningkatan mediator *histamine*, *tryptase*, peningkatan ekspresi *zone occludine-1*, peningkatan ketebalan MES dan perubahan mikroskopis peritoneum ($p < 0.05$). Pada penelitian tahap 3 terbukti pemberian ekstrak umbi (bulbus) bawang Dayak 60 mg/KgBB mampu menurunkan skoring adesi intra-abdominal, menurunkan TGF- β , menurunkan kadar TOS dan OSI, menurunkan jumlah dan degranulasi sel mast dengan penurunan *histamine*, *tryptase* dan perubahan mikroskopis peritoneum ($p < 0.05$).

Kesimpulan: Ekstrak umbi bawang Dayak diprediksi menstabilkan sel mast melalui Ca^{2+} homeostasis. Tekanan 10 mmHg meningkatkan jumlah dan degranulasi sel mast serta meningkatkan skoring adesi intra-abdominal. Pemberian ekstrak umbi (bulbus) bawang Dayak 60 mg/KgBB menurunkan jumlah dan degranulasi sel mast serta menurunkan skoring adesi intra-abdominal.

Kata kunci: Bawang Dayak, Ca^{2+} homeostasis, regulasi inflamasi, regulasi stres oksidatif, sel mast, degranulasi sel mast, adesi intra-abdominal.

SUMMARY

Hery Poerwosusanta, NIM. 137070100011002. Post Graduate of Medicine Program Brawijaya University Malang, October 29th 2019. Dayak Onion Bulb (Bulbs) Extract (*Eleutherine Americana* L. Merr) Reduces Intra-abdominal Adhesion Scoring Post Laparoscopic: (anti-inflammatory, anti-oxidant, and mast cell stabilizers). Supervisor Chairman: Edi Widjajanto, Members: Karyono Mintaroem, Zairin Noor.

Intra-abdominal adhesion is an abnormal vascularized ribbon-shaped adhesion of intra-abdominal organs. Laparoscopic preferred than laparotomy, because of the ability to reduce intra-abdominal adhesion. It suspected that mast cells play an essential role in intra-abdominal adhesion. Research needs about the role of mast cells in intra-abdominal adhesion. This study aims to prove the effect of pressure on mast cells in intra-abdominal adhesion and to prove the effect of Dayak extracts on mast cells and intra-abdominal adhesion.

With a post-test only control group design, our study was performed at three stages of the study using 108 *Rattus norvegicus* animals comparing the inflammatory profile, oxidative stress profile, mast cell profile, peritoneal extracellular matrix profile, scoring of intra-abdominal adhesion and microscopic peritoneal changes. Proved the hypothesis that there are differences in the degree of intra-abdominal adhesion in the control group and the treatment group after administering Dayak onion bulb extract.

Insilico study proved that Dayak onion extract has excellent potential as a mast cell stabilizer through regulation of Ca^{2+} ions, especially in mitochondrial canal Ca^{2+} VDAC1 and MARCK (mRyR). The 2nd phase, a 10 mmHg laparoscopic increased the scoring of intra-abdominal adhesions due to elevated TGF- β levels, increased levels of TOS and OSI, increased number and degranulation of mast cells with increased histamine, tryptase, chymase, increased expression of zone occludine-1, increase in MES thickness and peritoneal microscopic changes ($p < 0.05$). The 3rd phase, it proved that Dayak onion bulb extract of 60 mg/kg-BW was able to reduce intra-abdominal adhesion scoring, reduce TGF- β , reduce levels of TOS and OSI, reduce the number and degranulation of mast cells with a decrease in histamine, tryptase and microscopies change peritoneum ($p < 0.05$).

Conclusion: Dayak onion bulb extracts were predicted to stabilize mast cells through the Ca^{2+} homeostasis. Laparoscopic in 10 mmHg increases the number and mast cell degranulation and increases the scoring of intra-abdominal adhesions. Dayak onion bulb extracts 60 mg/kg BW decreases the number and mast cell degranulation and decreases the scoring of intra-abdominal

Keywords: Dayak Onion, bulb extracts, Ca^{2+} homeostasis, anti-inflammatory, anti-oxidant, mast cells, degranulation of mast cells, intra-abdominal adhesion.

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur pada Tuhan YME, atas kemampuan, kecukupan, kesehatan dan ketersediaan moril materiil yang telah Tuhan sediakan, penulis dapat menyelesaikan disertasi dengan judul: **EKSTRAK BULBUS (UMBI) BAWANG DAYAK (*Eleutherine americana* L. Merr.) MENURUNKAN SKORING ADESI INTRA ABDOMINAL PASCA LAPAROSKOPI (melalui mekanisme modulasi inflamasi, modulasi stres oksidatif dan stabilisator sel mast)**

Penulis menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Nuhfil Hanani AR., M.S. rektor Universitas Brawijaya yang memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang.
2. Dr. dr Wisnu Barlianto MSiMed, SpA(K) dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Dr. dr Sri Andarini, MKes dan Dr. dr Karyono Mintaroem SpPA dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya terdahulu, yang memberikan kesempatan kepada penulis memperdalam ilmu di Universitas Brawijaya Malang.
3. Prof. Dr. dr. Kusworini M.Kes, SpPK sebagai Ketua Program Doktor Ilmu Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan Prof. dr. M. Aris Widodo, MS. SpFK, Ph.D Ketua Program Doktor Ilmu Kedokteran Universitas Brawijaya Malang terdahulu, yang memberikan kesempatan kepada penulis memperdalam ilmu di Universitas Brawijaya Malang.
4. Prof Dr. H Sutarto Hadi M.Si, M.Sc sebagai rektor Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin, Prof Dr. Ir. H Muhamad Ruslan M.S. rektor Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin terdahulu, yang memberikan ijin kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang
5. Prof. Dr. dr. Zairin Noor, SpOT(K). MM. FICS sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin, Dr Hasyim Fachir SpS(K), Prof. Dr. dr H Ruslan Muhyi SpA(K) sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin terdahulu, yang memberikan semangat dan ijin kepada penulis untuk menyelesaikan pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang

6. Prof. Dr. dr. Edi Widjajanto, MS, Sp.PK(K) sebagai promotor yang dengan sabar, tulus ikhlas membimbing dengan sepenuh hati. Penulis menyampaikan terima kasih kepada keluarga.
7. Dr. dr. Karyono Mintaroem, SpPA sebagai ko-promotor yang dengan serius, sabar mengarahkan, membantu penulis menyelesaikan permasalahan penulis selama pendidikan
8. Prof.Dr.dr. Zairin Noor, SpOT(K). MM. FICS sebagai ko-promotor, dengan tulus ikhlas membimbing, mengawal dan membantu baik moril dan materiil kepada penulis sehingga disertasi ini dapat selesai dengan baik.
9. Prof. dr. Moch. Aris Widodo. MS. SpFK., Ph.D, Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto SpB SpBP-RE(K), Prof Dr. dr Nia Kania SpPA(K), Dr. dr Ika Kustiyah Oktaviyanti M.Kes. SpPA, Dr Gunadi SpBA PhD, Prof Dr. dr Mulyohadi Ali. SpFK. Dr. dr Setyawati Soeharto M.Kes, Dr Husnul Khotimah S.Si, M.Kes, Dr. dr. Farhad Baliatif, Sp BS (K), Prof, Doktor, Dosen serta tim penguji sejak tahap karya ilmiah, kualifikasi, proposal hingga ujian tertutup pada Program Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, yang telah banyak memberikan wawasan dan pengetahuan serta arahan-arahan kepada penulis.
10. Gubernur kepala daerah tingkat I propinsi Kalimantan Selatan berserta jajaran yang memberikan ijin kepada penulis selama menyelesaikan pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang
11. Dr Gunadi SpBA PhD, Dr. Drs Eko Suhartono M.Si, Didik Huswo Utomo S.Si, M.Si dan Anggia Noor Rahmadani S.Si atas bantuan dan bimbingan bagaimana tips dan trik publikasi jurnal internasional
12. Teman sejawat seperjuangan mahasiswa S3 angkatan ke 2 ULM, terima kasih atas semangat yang sejawat berikan, saling berbagi cerita membuat penulis selalu bersemangat untuk menyelesaikan disertasi ini
13. Dr Krist Nathania Benita, dr. Fitria Ummu Habibah, dr Gustika Ayu Siswandini, Mas Wahyuda Ngatiril Lady S.Si dan Mas Moch Abuhari yang dengan sukarela, penuh keiklasan membantu penulis pada penelitian di laboratorium, sehingga penelitian ini membuahkan hasil.
14. Mbak Indah dan Pak Syamsul yang banyak membantu penulis, sehingga mendapatkan kemudahan dalam proses administrasi.

15. Dr. dr Ardik Lahdimawan SpBS (K) kepala departemen bedah Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat dan Dr. Budianto Tedjowitono SpB(K)Onk kepala departemen bedah Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat terdahulu beserta seluruh sejawat di departemen bedah, terima kasih atas suportnya. Khususnya dr Agung Ari Wibowo SpB(K)BD, dr Tjahyo K Utomo SpB(K)BD, dr Winardi Budiwinata SpB yang bersedia dengan tulus ikhlas menggantikan tugas saya selama pendidikan, sukses selalu dr Win.
16. Kepada kedua orang tua penulis Bapak Hendrajana (alm) dan Ibu Soesilowardani yang sangat berjasa dalam mendidik penulis hingga mampu mencapai pendidikan pada level tertinggi, jasa-jasa beliau tiada taranya. Kepada mertua Bapak Drs Atim Soetrisno dan Ibu Djunik (alm) yang selalu memberikan masukan, saran dan semangat sehingga penulis mampu mengatasi masalah dalam kehidupan.
17. Yang tercinta istriku Kris Anugrahvita Adi, yang tulus ikhlas dan setia mendampingi penulis meniti karier dan kehidupan, mulai masa prihatin sebagai dokter di puskesmas terpencil di Kalimantan Selatan hingga detik ini. Anak-anakku dr Adam Rahardiyan P dan dr Elvira Esmeralda P yang selalu memberi semangat. Dr Christina Dian R, dr. Donni Aditya, dr Angga Setya Budi dan Aisyah S.Si yang ikut berperan dalam penyusunan disertasi ini, terima kasih semuanya.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, masih dirasakan banyak kekurangtepatan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat.

Malang, Oktober 2019

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN.....	v
SUMMARY.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR GRAFIK.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN.....	xx
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah.....	4
1.2.1. Sub masalah.....	5
1.3 Tujuan penelitian.....	6
1.3.1. Tujuan Umum.....	6
1.3.2. Tujuan Khusus.....	6
1.4 Manfaat penelitian.....	7
1.4.1 Manfaat teoritis.....	7
1.4.2 Manfaat praktis.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Adesi Intra Abdominal.....	9
2.1.1. Patogenesis adesi intra abdominal.....	9
2.1.1.1 Faktor peritoneum dan seluler.....	10
2.1.1.3 Faktor mediator humoral.....	15
2.2 Laparoskopi.....	16

2.2.1 Perubahan morfologi peritoneum pada laparoskopi	18
2.2.2 Mekanisme pelepasan sel mesotel (mesothel detachment) pasca laparoskopi.....	18
2.2.2 Susunan protein <i>Intercellular Mesothel Junction</i>	18
2.2.3 Stres Oksidatif pada Laparoskopi.....	19
2.2.4 Mekanisme inflamasi melalui aktivasi NFkB pada laparoskopi.....	21
2.3 Bawang Dayak	23
2.3.1 Bahan aktif bawang Dayak.....	25
2.3.2 Kemampuan modulator inflamasi, modulator stres oksidatif dan potensi stabilisator sel mast bawang Dayak.....	26
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN	28
3.1 Kerangka teori.....	28
3.2 Kerangka penelitian dan hipotesa.....	34
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	39
4.1 Jenis desain penelitian.....	39
4.2 Waktu dan tempat penelitian.....	39
4.3 Sampel penelitian.....	39
4.4 Penentuan besar sampel penelitian.....	39
4.5 Randomisasi.....	40
4.6 Variabel Penelitian.....	40
4.6.1 Variabel bebas.....	40
4.6.2 Variabel Tergantung.....	40
4.7 Definisi Operasional.....	41
4.8 Prosedur pengumpulan dan pengolahan data.....	50
4.9 Alur Penelitian.....	50

4.10	Persetujuan Komite Etik Penelitian.....	50
------	---	----

4.11	Analisis data.....	51
------	--------------------	----

4.11.1	Uji prasyarat parametrik.....	51
--------	-------------------------------	----

4.11.2	Uji Komparasi.....	51
--------	--------------------	----

4.11.3	Uji analisis jalur (path analysis).....	52
--------	---	----

BAB 5	HASIL PENELITIAN.....	53
--------------	------------------------------	-----------

PENELITIAN INSILIKO.....	53
---------------------------------	-----------

5.1	Pendahuluan.....	53
-----	------------------	----

5.2	Perumusan masalah.....	54
-----	------------------------	----

5.3	Tujuan penelitian	55
-----	-------------------------	----

5.4	Metodologi penelitian.....	56
-----	----------------------------	----

5.2	Tempat penelitian.....	58
-----	------------------------	----

5.6	Bahan dan Alat.....	59
-----	---------------------	----

5.7	Manfaat penelitian.....	59
-----	-------------------------	----

5.8	Hipotesis penelitian.....	59
-----	---------------------------	----

5.7	Hasil, Analisis dan Pembahasan.....	60
-----	-------------------------------------	----

5.7.1a.	Determinasi spesies <i>Eleutherine Americana</i> L Merr.....	60
---------	---	----

5.7.1b.	Hasil Indentifikasi senyawa aktif bawang Dayak	61
---------	---	----

5.7.1c.	Hasil analisa senyawa aktif bawang Dayak.....	61
---------	---	----

5.7.2a	Hasil prediksi aktivitas biologi bawang Dayak sebagai modulator inflamasi.....	63
--------	---	----

5.7.2b.	Hasil prediksi aktivitas biologi sebagai modulator stres oksidatif.....	71
---------	--	----

5.7.2c.	Hasil prediksi sebagai anti adhesi melalui enzim <i>Tryptase</i>	78
---------	---	----

5.7.2d.	Hasil prediksi sebagai anti adhesi melalui enzim <i>Chymase</i>	79
---------	--	----

5.7.2e.	Hasil prediksi sebagai anti adhesi melalui enzim <i>Histamine release inhibitor</i>	81
---------	--	----

5.7.2f. Hasil prediksi sebagai anti adhesi melalui enzim <i>Calcium channel</i>	82
---	----

PENELITIAN TAHAP 2	91
---------------------------------	----

6.1 Pendahuluan.....	91
6.2 Perumusan Masalah tahap 2.....	92
6.3 Tujuan Penelitian tahap 2.....	93
6.4 Manfaat dan Alur penelitian tahap 2.....	95
6.5 Hipotesa Penelitian tahap 2.....	96
6.6 Hasil dan Analisa penelitian tahap 2.....	97
6.6.1 Profil inflamasi pasca pemberian tekanan.....	97
6.6.2 Profil stres oksidatif pasca pemberian tekanan.....	102
6.6.3a Profil sel mast pasca pemberian tekanan.....	105
6.6.3b Profil kadar <i>histamine</i> , <i>tryptase</i> dan <i>chymase</i> cairan peritoneal.....	113
6.6.4 Profil ekspresi ZO-1 pasca pemberian tekanan.....	115
6.6.5 Profil ketebalan MES pasca pemberian tekanan.....	116
6.6.6 Perbedaan mikroskopis pasca pemberian tekanan.....	120
6.6.7 Profil skoring adesi makroskopis intra-abdominal pasca pemberian tekanan.....	127

PENELITIAN TAHAP 3	131
---------------------------------	-----

7.1. Pendahuluan.....	131
7.2 Perumusan Masalah tahap 3.....	132
7.3 Tujuan Penelitian tahap 3.....	134
7.4 Manfaat dan Alur penelitian tahap 3.....	136
7.5 Hipotesa Penelitian tahap 3.....	137
7.6 Hasil dan Analisa penelitian tahap 2.....	138
7.6.1 Profil inflamasi pasca pemberian bawang Dayak....	138

7.6.2 Profil stress oksidatif pasca pemberian bawang Dayak.....	140
7.6.3a Profil sel mast pasca pemberian bawang Dayak.....	146
7.6.3b Profil kadar <i>histamine</i> , <i>tryptase</i> dan <i>chymase</i> pasca pemberian bawang Dayak.....	151
7.6.4 Profil ekspresi ZO-1 pasca pemberian bawang Dayak.....	152
7.6.5 Profil ketebalan MES pasca pemberian bawang Dayak.....	153
7.6.6 Profil perubahan mikroskopis pasca pemberian bawang Dayak.....	156
7.6.7 Profil skoring adesi makroskopis pasca pemberian bawang Dayak.....	163
BAB 6 PEMBAHASAN UMUM.....	164
BAB 7 KESIMPULAN dan SARAN.....	173
DAFTAR KEPUSTAKAAN.....	175

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Faktor yang mempengaruhi perubahan karakteristik peritoneum.....	17
Tabel 4.1 Modifikasi skoring skala adesi.....	48
Tabel 4.2 Skoring skala adesi metode UB-Unlam.....	49
Tabel 5.1 Senyawa aktif, Pubchem CID dan Canonical SMILES.....	72
Tabel 5.2 Analisis HITPICK bioaktif bawang Dayak dengan protein target regulasi inflamasi.....	75
Tabel 5.3 Hasil Autodock PyrX 9.5 binding affinity bawang Dayak sebagai regulasi inflamasi.....	76
Tabel 5.4 Reseptor regulasi inflamasi, ligan bioaktif bawang Dayak dan ikatan kimia.....	78
Tabel 5.5 Docking senyawa aktif bawang Dayak terhadap aktivitas faktor transkripsi NFkB.....	80
Tabel 5.6 Binding energy senyawa aktif bawang Dayak terhadap aktivitas faktor transkripsi NFkB-IKK.....	81
Tabel 5.7 Hasil Autodock PyrX 9.5 binding affinity bawang Dayak sebagai regulator stres oksidatif.....	84
Tabel 5.8 Pendekatan HITPICK bawang Dayak sebagai regulator stres oksidatif.....	84
Tabel 5.9 Kesamaan protein dengan ikatan hidrofobik dan ikatan hydrogen.....	87
Tabel 5.10 Interaksi bioaktif bawang Dayak dengan protein target regulator stres oksidatif.....	87
Tabel 5.11 Probability activity tryptase inhibitor.....	89
Tabel 5.12 Probability activity chymase inhibitor.....	91
Tabel 5.13 Prediksi protein target terhadap enzim histamine release inhibitor.....	92
Tabel 5.14 Prediksi Calcium inhibitor/blocker.....	94
Tabel 5.15 Average shortes path length pada kanal calcium membran sel.....	96
Tabel 5.16 Analisis jalur bioaktif bawang Dayak dengan TRPM4 dan TRPM8.....	97
Tabel 5.17 Analisis average shrorest path length bioaktif bawang Dayak dengan activator kanal calcium mitokondria VDAC1, MCU dan MARCKS.....	101

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1	Ringkasan terjadinya adesi pasca bedah.....	13
Gambar 2.2	Interaksi Makrofag.....	16
Gambar 2.3	Makrofag meregulasi inflamasi dan penyembuhan luka.....	17
Gambar 2.4	Homeostasis kalsium pada sel normal.....	22
Gambar 2.5	Cedera eksitotoksik di neuron.....	23
Gambar 2.6	Interaksi antara inflamasi, koagulasi dan fibrinolisis, merupakan patogenesis utama adesi intra abdominal.....	24
Gambar 2.7	Peritoneum.....	28
Gambar 2.8	Ringkasan <i>cell junction</i> pada epitel vertebrata.....	31
Gambar 2.9	Organisasi Molekuler dan <i>cell-cell junction</i> (interaksi antar sel).....	32
Gambar 2.10	Mekanisme pembentukan radikal bebas oleh xantin oksidase.....	35
Gambar 2.11	Aktivasi NFκB.....	36
Gambar 2.12	Jalur aktivasi NFκB.....	37
Gambar 2.13	Stimulasi canonical pathway.....	38
Gambar 2.14	Bulbus (umbi) bawang Dayak.....	41
Gambar 2.15	Siklus Redoks dan Pembentukan Metabolit oleh Quinon.....	43
Gambar 2.16	Mekanisme Quinon sebagai Regulator stres oksidatif.....	44
Gambar 2.17	Struktur Dasar Flavonoid.....	45
Gambar 2.18	Skema (-)-isoeleutherin.....	50
Gambar 3.1	Kerangka konsep teori.....	51
Gambar 3.2	Kerangka konsep penelitian.....	57
Gambar 3.3	Hipotesa.....	57
Gambar 5.1	Determinasi bawang Dayak UPT Materia Medica.....	60
Gambar 5.2	Analisis LCMS Ekstrak Etanol 96% Umbi Bawang Dayak.....	62
Gambar 5.3	Hasil prediksi aktivitas bawang Dayak sebagai modulator inflamasi.....	63
Gambar 5.4	Interaksi asam amino reseptor-ligand.....	66
Gambar 5.5	Visualisasi interaksi ligan dan reseptor.....	67
Gambar 5.6	Analisa STRING bawang Dayak sebagai regulasi inflamasi.....	69
Gambar 5.7	Visualisasi ikatan senyawa aktif bawang dayak pada protein target NFκB-IκB.....	70
Gambar 5.8	Hasil prediksi aktivitas biologi bawang Dayak sebagai modulator stres oksidatif.....	72
Gambar 5.9	Ikatan bioaktif dengan protein target Xanthine Oxidase.....	73
Gambar 5.10	Interaksi ligan dan reseptor senyawa aktif bawang Dayak sebagai modulator stres oksidatif.....	76
Gambar 5.11	Analisa STRING senyawa aktif bawang Dayak sebagai modulator stres oksidatif.....	77
Gambar 5.12	Probability tryptase inhibitor activity.....	78
Gambar 5.13	Probability chymase inhibitor activity.....	80
Gambar 5.14	Probability activity sebagai enzim histamine release inhibitor.....	81
Gambar 5.15	Analisis STITCH bioaktif bawang Dayak pada protein target TRPC1, ORAI1 dan CRAC kanal calcium.....	84
Gambar 5.16	Analisis STITCH bioaktif bawang Dayak pada pada protein target TRPM4 dan TRPM8 kanal calcium inhibitor.....	85
Gambar 5.17	Interaksi bioaktif bawang Dayak dengan protein mediator dengan protein target kanal calcium inhibitor.....	86
Gambar 5.18	Analisis Average shortest path length analysis dengan TRPM4 dan TRPM 8 inhibitor kanal calcium.....	87
Gambar 5.19	Prediksi calcium channel activator.....	88
Gambar 5.20	Analisis STITCH bioaktif bawang Dayak dengan activator channel calcium mitokondria VDAC1, MCU dan MARCKS.....	89

Gambar 6.1	Hubungan TGF- β dan SOR.....	97
Gambar 6.2	Aktivasi NF κ B pasca cedera reperfusi.....	99
Gambar 6.3	Aktivasi IL-10.....	101
Gambar 6.4	Aktivasi sel mast akibat rangsangan non imunologis.....	107
Gambar 6.5	Mekanisme non peroksidasi lipid degranulasi sel mast.....	108
Gambar 6.6	Kanal Ca ²⁺ pada sel imun sebagai non eksitabel sel.....	109
Gambar 6.7	Profil sel mast mesenterium pada pemberian tekanan.....	111
Gambar 6.8	Profil sel mast omentum pada pemberian tekanan.....	112
Gambar 6.9	Profil sel mast peritoneum pada pemberian tekanan.....	112
Gambar 6.10	Ekspresi ZO-1 pada pemberian tekanan.....	116
Gambar 6.11	Pengaruh pemberian tekanan pada ketebalan MES.....	118
Gambar 6.12	Perubahan mikroskopis Usus setelah pemberian tekanan.....	121
Gambar 6.13	Perubahan mikroskopis Omentum setelah pemberian tekanan.....	123
Gambar 6.14	Perubahan mikroskopis Hepar setelah pemberian tekanan.....	125
Gambar 6.15	Perubahan mikroskopis Peritoneum setelah pemberian tekanan.....	126
Gambar 7.1	Peranan TGF- β pada pembentukan SOR.....	142
Gambar 7.2	Mekanisme pembentukan oksidan dan scavenging SOR modulator stres oksidatif.....	144
Gambar 7.2a	Kemampuan scavenging oksidan.....	145
Gambar 7.3	Profil sel mast mesenterium setelah pemberian bawang Dayak.....	148
Gambar 7.4	Profil sel mast omentum setelah pemberian bawang Dayak.....	149
Gambar 7.5	Profil sel mast peritoneum setelah pemberian bawang Dayak.....	150
Gambar 7.6	Ekspresi ZO-1 pasca pemberian bawang Dayak.....	153
Gambar 7.7	Pengaruh pemberian ekstrak bawang Dayak pada ketebalan MES.....	155
Gambar 7.8	Peranan TGF- β pada pembentukan MES.....	155
Gambar 7.9	Perubahan mikroskopis Usus setelah pemberian bawang Dayak.....	157
Gambar 7.10	Perubahan mikroskopis Omentum setelah pemberian bawang Dayak.....	158
Gambar 7.11	Perubahan mikroskopis Hepar setelah pemberian bawang Dayak.....	159
Gambar 7.12	Perubahan mikroskopis Peritoneum setelah pemberian bawang Dayak.....	161

DAFTAR GRAFIK

Grafik 6.1	Profil TGF- β , IL-10 dan rasio TGF- β /IL-10 pada kontrol, tekanan 5, 8 10 dan 12 mmHg.....	98
Grafik 6.2	Profil TOS, TAC, MDA dan OSI pada kontrol, tekanan 5, 8 10 dan 12 mmHg.....	103
Grafik 6.3	Profil sel mast pada kontrol, tekanan 5, 8 10 dan 12 mmHg.....	106
Grafik 6.4	Profil kadar <i>histamine</i> , <i>tryptase</i> dan <i>chymase</i> pada kontrol, tekanan 5, 8 10 dan 12 mmHg.....	108
Grafik 6.5	Profil ekspresi ZO-1 pada kontrol, tekanan 5, 8 10 dan 12 mmHg.....	115
Grafik 6.6	Profil ketebalan MES pada kontrol, tekanan 5, 8 10 dan 12 mmHg.....	117
Grafik 6.7	Profil jumlah sel mesotel peritoneum pada kontrol, tekanan 5, 8 10 dan 12 mmHg.....	121
Grafik 6.8	Profil jumlah sel fibroblas peritoneum pada kontrol, tekanan 5, 8 10 dan 12 mmHg.....	122
Grafik 6.9	Profil jumlah vaskular peritoneum pada kontrol, tekanan 5, 8 10 dan 12 mmHg.....	124
Grafik 6.10	Profil sel polimorfonuklear (PMN) peritoneum pada kontrol, tekanan 5, 8 10 dan 12 mmHg.....	125
Grafik 6.11	Profil ketebalan glikokalix peritoneum pada kontrol, tekanan 5, 8 10 dan 12 mmHg.....	127
Grafik 6.12	Profil skoring makroskopis adesi intra-abdominal pada kontrol, tekanan 5, 8 10 dan 12 mmHg.....	128
Grafik 7.1	Profil TGF- β , IL-10, rasio TGF- β /IL-10 pada kontrol, Mediclор, bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB.....	139
Grafik 7.2	Profil kadar TOS, TAC, OSI dan MDA pada kontrol, Mediclор, bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB.....	141
Grafik 7.3	Profil sel mast pada kontrol, Mediclор, bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB.....	147
Grafik 7.4	Profil kadar <i>histamine</i> pada kontrol, Mediclор, bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB.....	151
Grafik 7.5	Profil ekspresi ZO-1 jaringan peritoneal pada kontrol, Mediclор, bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB.....	152
Grafik 7.6	Profil ketebalan MES jaringan peritoneal pada kontrol, Mediclор, bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB.....	154
Grafik 7.7	Profil sel mesotel pada kontrol, Mediclор, bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB.....	156
Grafik 7.8	Profil sel fibroblas pada kontrol, Mediclор, bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB.....	157
Grafik 7.9	Profil vaskuler pada kontrol, Mediclор, bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB.....	159
Grafik 7.10	Profil sel PMN pada kontrol, Mediclор, bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB.....	160
Grafik 7.11	Profil ketebalan glikokalix pada kontrol, Mediclор, bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB.....	161
Grafik 7.12	Profil skoring makroskopis adesi intra-abdominal pada kontrol, Mediclор, bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB.....	163

DAFTAR SINGKATAN

ADP:	Adenosin Di Phospat
ABCB11	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 11; Involved in the ATP-dependent secretion of bile salts into the canalculus of hepatocytes
ABCC8	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 8; Putative subunit of the beta-cell ATP-sensitive potassium channel (KATP). Regulator of ATP-sensitive K(+) channels and insulin release
AKT1	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1
AMP :	Adenosina Mono Phosfat
APC :	Antigen Precenting Cell
ATP :	Adenosina Tri Phosfat
Ca ²⁺ :	Ion Calcium
CA9	Carbonic anhydrase 9; Reversible hydration of carbon dioxide. Participates in pH regulation. May be involved in the control of cell proliferation and transformation. Appears to be a novel specific biomarker for a cervical neoplasia; Belongs to the alpha-carbonic anhydrase family (459 aa)
CAT	Catalase; Occurs in almost all aerobically respiring organisms and serves to protect cells from the toxic effects of hydrogen peroxide. Promotes growth of cells including T-cells, B-cells, myeloid leukemia cells, melanoma cells, mastocytoma cells and normal and transformed fibroblast cells; Belongs to the catalase family (527 aa)
CCL :	Chemokine (C-C motif) Ligand
CICR :	Calcium-Induced Calcium Released
CO ₂ :	Carbon Dioksida
COX :	Cyclo-oksigenase
COX-2 :	Cyclooxygenase-2
CTAP-III :	Connective-tissue Activating Peptidase-III
DAMPs	Damage-associated molecular patterns
DNA :	Deoxyribo Nucleid Acid
EMT :	Epithelial – Mesenchymal Transition
ER :	Endoplasmic Reticulum
ESR1	Estrogen receptor alfa; Nuclear hormone receptor. The steroid hormones and their receptors are involved in the regulation of eukaryotic gene expression and affect cellular proliferation and differentiation in target tissues. Ligand-dependent nuclear transactivation involves either direct homodimer binding to a palindromic estrogen response element (ERE) sequence or association with other DNA- binding transcription factors, such as AP-1/c-Jun, c-Fos, ATF-2, Sp1 and Sp3, to mediate ERE-independent signaling. Ligand binding induces a conformational change allowing subsequent or combinatorial a 595 aa
ESR2	Estrogen receptor beta; Nuclear hormone receptor. Binds estrogens with an affinity similar to that of ESR1, and activates expression of reporter genes containing estrogen response elements (ERE) in an estrogen-dependent manner. Isoform beta-cx lacks ligand binding ability and has no or only very low binding activity resulting in the loss of ligand-dependent transactivation ability. DNA-binding by ESR1 and ESR2 is rapidly lost at 37 degrees Celsius in the absence of ligand while in the presence of 17 beta-estradiol and 4-hydroxy-tamoxifen loss in DNA-binding at elevated temperature [...]

FbDPs :
FKBP4

GPX1

GR :

H₂O₂ :

HPLC-UV/VIS :

HSP90AA1

IFN- γ :

IgE :

IKK :

IL- :

iNOS :

IP₃ :

IP3(R)₂ :

JAM-1 :

MC-CPA :

MCL1

MCU

MDA :

MES :

MHC :

mmHg :

MMP :

MTOR

MTP :

NF κ B :

NO :

NOS :

NOS3

NR1H4

O₂⁻ :

OH⁻ :

PA :

PAI :

PAR :

PKBP4

PMCA :

PPIF

PRKCA

(530 aa)

Fibrin Degradation Products

FK506 binding protein 4, 59kDa; Immunophilin protein with PPIase and co-chaperone activities (By similarity). Component of unligated steroid receptors heterocomplexes through interaction with heat-shock protein 90 (HSP90). May play a role in the intracellular trafficking of heterooligomeric forms of steroid hormone receptors between cytoplasm and nuclear compartments (By similarity). The isomerase activity controls neuronal growth cones via regulation of TRPC1 channel opening.

Glutathione peroxidase 1, Protects the hemoglobin in erythrocytes from oxidative breakdown; Belongs to the glutathione peroxidase family (203 aa)

Receptor Glutamat Membrane plasma

Hydrogen Peroksida

High Performance Liquid Chromatography with UV/ VIS

heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class A member 1

Interferon gamma

Immunoglobulin E

I κ B kinase

Interleukin

inducible Nitrogen Oxygen Species

Inositol trisPhosphate

reseptor Inositol trisPhosphate

Junctional Adhesion Molecule-1

Mast Cells Carboxy Peptidase A

myeloid cell leukemia sequence 1 (BCL2-related) (350 aa)

mitochondrial calcium uniporter;

Malondialdehyde

Matrik Ekstra Seluler

Major Histocompatibility Complex

milimeter Hygrometer

Matrix MetalloProteinases-

mechanistic target of rapamycin (serine/threonine kinase)

Mitochondrial Transition Pore

Nuclear Factor kappa Beta

nitrat oksida

nitric oxide synthase

nitric oxide synthase 3 (endothelial cell);

nuclear receptor subfamily 1, group H, member 4; Bile acid receptor; Isoform 4- Promotes transcriptional activation of target genes ABCB11/BSEP (inducible by unconjugated CDCA, ACA and DCA), NR0B2/SHP (inducible by unconjugated CDCA, ACA and DCA), SLC51B/OSTB (inducible by unconjugated CDCA and DCA) and FABP6/IBAP; most efficient isoform compared to isoforms 1 to 3; not inducible by taurine- and glycine-amidated CDCA; Belongs to the nuclear hormone receptor family. NR1 subfamily (486 aa)

anion superoksida

radikal hidroksil

Plasminogen Activator

Plasminogen Activator Inhibitor

protease-activated receptor

FK506 binding protein 4, 59kDa;

plasma membrane calcium ATPase

peptidylprolyl isomerase F

protein kinase C, alpha;

PRKCB
PRKCD
Pro-IL
PTGES3

RANGAP1

RyR :

SERCA :

SOD :

SOD1

SOR :

SR :

SUGT1

SULT1A1

TAC :

TGF- β :

TIA :

TIMPs :

TNF :

TNF- α :

TOP1

TOS :

tPA :

TRPA1

TRPC1

protein kinase C, beta (673 aa)

protein kinase C, delta;

pro Interleukin

Prostaglandin E synthase 3 (cytosolic); Molecular chaperone that localizes to genomic response elements in a hormone-dependent manner and disrupts receptor-mediated transcriptional activation, by promoting disassembly of transcriptional regulatory complexes

Ran GTPase activating protein 1; GTPase activator for the nuclear Ras-related regulatory protein Ran, converting it to the putatively inactive GDP-bound state

Ryanodine receptor

Sarco-Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase

Super Oxide dismutase

Superoxide dismutase [Cu-Zn]; Destroys radicals which are normally produced within the cells and which are toxic to biological systems (154 aa)

Spesies Oksigen Reaktif

Sarcoplasmic Reticulum

SGT1, suppressor of G2 allele of SKP1

sulfotransferase family, cytosolic, 1A, phenol-preferring, member 1; Sulfotransferase that utilizes 3'-phospho-5'-adenylyl sulfate (PAPS) as sulfonate donor to catalyze the sulfate conjugation of catecholamine's, phenolic drugs and neurotransmitters.

Total Antioxidant Capacity

Transforming Growth Factor beta

Tekanan Intra-abdomen

Tissue Inhibitor of Metalloproteinase

Tumor Necrosis Factor

Tumor Necrosis Factor alpha

DNA topoisomerase 1; Releases the supercoiling and torsional tension of DNA introduced during the DNA replication and transcription by transiently cleaving and rejoining one strand of the DNA duplex. Introduces a single-strand break via transesterification at a target site in duplex DNA. The scissile phosphodiester is attacked by the catalytic tyrosine of the enzyme, resulting in the formation of a DNA-(3'-phosphotyrosyl)-enzyme intermediate and the expulsion of a 5'-OH DNA strand. The free DNA strand then rotates around the intact phosphodiester bond on the opposing strand, thus remove [...] (765 aa)

Total Oxidant Status

tissue Plasminogen Activator

Transient receptor potential cation channel, subfamily A, member 1; Receptor-activated non-selective cation channel involved in detection of pain and possibly also in cold perception and inner ear function. Has a central role in the pain response to endogenous inflammatory mediators and to a diverse array of volatile irritants, such as mustard oil, garlic and acrolein, an irritant from tears gas and vehicle exhaust fumes

Transient receptor potential cation channel, subfamily C, member 1; Thought to form a receptor-activated non-selective calcium per meant cation channel. Probably is operated by a phosphatidylinositol second messenger system activated by receptor tyrosine kinases or G-protein coupled receptors. Seems to be also activated by intracellular calcium store depletion

TRPM4

Transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 4; Calcium-activated non selective (CAN) cation channel that mediates membrane depolarization. While it is activated by increase in intracellular Ca^{2+} , it is impermeable to it. Mediates transport of monovalent cations ($\text{Na}^{+} > \text{K}^{+} > \text{Cs}^{+} > \text{Li}^{+}$), leading to depolarize the membrane.

TRPM8

Transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 8; Receptor-activated non-selective cation channel involved in detection of sensations such as coolness, by being activated by cold temperature below 25 degrees Celsius.

TYR

Tyrosinase; This is a copper-containing oxidase that functions in the formation of pigments such as melanins and other polyphenolic compounds. Catalyzes the initial and rate limiting step in the cascade of reactions leading to melanin production from tyrosine. In addition to hydroxylating tyrosine to DOPA (3,4- dihydroxyphenylalanine), also catalyzes the oxidation of DOPA to DOPA-quinone, and possibly the oxidation of DHI (5,6- dihydroxyindole) to indole-5,6 quinone; Belongs to the tyrosinase family (529 aa)

uPA :

urokinase Plasminogen Activator

VCAM1

vascular cell adhesion molecule 1

VDAC1

voltage-dependent anion channel 1

VEGF :

Vascular Endothelial Growth Factor

XD :

Xantin Dehydrogenase

XO :

Xantin Oxidase

ZO-1 :

Zone-Occludin 1

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Adesi intra-abdominal adalah perlengketan tidak normal organ intra-abdomen, dihubungkan oleh jaringan berbentuk pita yang bervaskularisasi dan berinervasi (Vase *et al*, 2010). Adesi intra abdominal merupakan komplikasi pembedahan abdominal yang paling sering, kurang lebih 95% pasien pasca pembedahan abdomen, mengalami adesi (Wei *et al*, 2015). Adesi intra-abdominal menyebabkan komplikasi serius antara lain: obstruksi intestinal, infertilitas pada wanita, nyeri pelvis kronis dan operasi berikutnya menjadi lebih sulit (Molinas *et al*, 2010). Lima belas persen pasien mengalami obstruksi intestinal, perlu operasi ulang dengan mortalitas tinggi 5%-20% dan cenderung rekurensi (Wei *et al*, 2015). Pengalaman peneliti sebagai ahli bedah anak di Banjarmasin, sering menjumpai kasus adesi intra-abdominal dengan penyulit dan komplikasi yang serius. Banyak upaya yang dilakukan untuk mengurangi adesi-intra abdominal, yaitu: pemberian obat anti adesi intra-abdominal, pemberian modulator stres oksidatif (Yilmaz *et al*, 2005) dan modulator inflamasi (Askari *et al*, 2018) dan pembedahan minimal invasif (Aldana *et al*, 2003., Baysal *et al*, 2009). Belum ada metode yang efektif untuk mencegah adesi intra-abdominal, karena mekanisme biologi molekuler adesi intra abdominal yang pasti belum ditemukan (Wei *et al*, 2015).

Laparoskopi merupakan prosedur pembedahan invasif minimal menggunakan kamera dan instrumen bedah yang dimasukkan melalui insisi kecil.

(Aldana *et al*, 2003., Baysal *et al*, 2009). Menurut data Lapdometm By Narvitas tahun 2016, total pembedahan laparoskopi yang dilakukan di seluruh dunia mencapai 15 juta pertahun, dengan peningkatan 8,3%. Didunia, laparoskopi mulai berkembang sejak tahun 1970-an, sedang di Indonesia sejak tahun 1990-an dan cenderung meningkat (Hadibroto, 2007). Di Banjarmasin, pembedahan laparoskopi mulai berkembang sejak tahun 2012. Data bagian bedah Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat menyebutkan, operasi laparoskopi yang dilakukan di Banjarmasin sebagai berikut: tahun 2012: 57 kasus dan kecenderungan meningkat menjadi 518 kasus ditahun 2016. Kedepan, laparoskopi dilakukan pada kasus dengan penyulit dan memerlukan waktu lama (Baysal *et al*, 2009. Lee *et al*, 2013). Laparoskopi mampu menurunkan kejadian adesi dari 95% menjadi 12% (Altinel *et al*, 2014), tetapi adesi intra abdominal belum sepenuhnya dapat diturunkan (Kavic *and* Kavic, 2002).

Stres oksidatif adalah gangguan keseimbangan antara produksi spesies oksigen reaktif (SOR/radikal bebas) dan pertahanan modulator stres oksidatif yang memicu kerusakan jaringan (Betteridge, 2000). Sistem pencernaan menghasilkan modulator stres oksidatif, tetapi jumlahnya tidak mampu mengatasi saat terjadi cedera (Halliwell *and* Whiteman, 2004). Spesies oksigen reaktif mengaktifkan respon inflamasi. Hidrogen peroxidase (H_2O_2) yang dihasilkan terbukti mengaktifkan faktor transkripsi NFkB melalui degradasi IkB (Chelombitko *et al*, 2016). Produksi sitokin yang berlebihan saat respon inflamasi akan memicu adesi intra abdominal (Awonuga *et al*, 2014).

Respon inflamasi merupakan mekanisme pertahanan tubuh (*innate immune*) untuk mengeliminasi benda asing (*non-self*) (Playfair and Chain, 2013.; Mittal *et al*, 2014). Pada respon inflamasi terjadi vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskuler dan fagositosis. Kerusakan sel akibat trauma jaringan segera dieliminasi oleh respon inflamasi, agar tidak berpotensi membahayakan tubuh (Playfair and Chain, 2013).

Respon inflamasi mengaktifkan residen sel intra abdominal, yaitu: makrofag, limfosit, neutrophil, sel mast dan mesotel (Leung *et al*, 2000., Maciver *et al*, 2011., Murray and Wynn, 2011., Sammour, 2011). Sekresi TGF- β yang berlebihan oleh residen sel inflamasi mencetuskan adesi intra-abdominal (Leung *et al*, 2000., Sammour, 2011).

Sel mast dikenal sejak tahun 1863 oleh von Recklinghausen, tetapi banyak peranan sel mast yang belum terungkap dengan jelas. Umur sel mast yang mencapai bulan-tahun, diduga memberikan respon pada trauma berkepanjangan, dan perannya pada kejadian fibrosis (Widjajanto, 2012., de Souza Junior *et al*, 2015). Sel mast mempunyai peran penting pada *innate-immune* dan *adaptive-immune* respon inflamasi. Spesies oksigen reaktif (SOR) mempunyai peranan penting dan berinteraksi dengan reseptor sel mast pada proses degranulasi (Melendez *et al*, 2010., Chelombitko *et al*, 2016). Sel mast memproduksi SOR intraseluler yang memicu degranulasi (Swindle *et al*, 2004). Penelitian terdahulu membuktikan terjadi peningkatan sel mast rongga peritoneal pasca operasi (Hermanowicz *et al*, 2010).

Bawang Dayak (*Eleutherine* sp.) merupakan tanaman herbal, banyak dijumpai di Kalimantan dan bulbus (umbi) nya digunakan untuk pengobatan luka/bahimang (Setyowati, 2010). Bahan aktif bawang Dayak: naphthoquinon dan anthraquinon, flavonoid, tannin dan phenol, yang memiliki kemampuan modulator

inflamasi dan modulator stres oksidatif (Han *et al*, 2008., Song *et al*, 2009). Derivat flavonoid yang berpotensi sebagai stabilisator sel mast manusia (Weng *et al*, 2014). Diharapkan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak mempunyai potensi stabilisator sel mast karena kandungan flavonoid, dan mampu menurunkan skoring adesi intra abdominal pasca laparoskopi.

Adesi intra abdominal masih merupakan masalah serius dalam pembedahan. Walaupun laparoskopi mampu menurunkan kejadian adesi intra-abdominal dari 95% menjadi 12%, namun belum mampu mengatasi masalah klinis adesi intra-abdominal. Faktor stres oksidatif, inflamasi, degranulasi sel mast dan penebalan matrik ekstra seluler (MES), diduga menyebabkan kerusakan sel mesotel yang memicu adesi intra-abdominal. Potensi bawang Dayak sebagai modulator inflamasi dan modulator stres oksidatif diharapkan mampu mencegah adesi intra-abdominal. Berdasarkan latar belakang diatas, hingga saat ini belum ada penelitian tentang potensi bawang Dayak yang memodulasi inflamasi, modulasi stres oksidatif, stabilisator sel mast, untuk menghambat adesi intra abdominal pasca laparoskopi.

1.2. Rumusan Permasalahan

Berdasarkan latar belakang diatas, dirumuskan masalah sebagai berikut:

Apakah ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak mampu menurunkan modulasi inflamasi, modulasi stres oksidatif, jumlah dan degranulasi sel mast, ketebalan MES serta skoring adesi intra-abdominal pasca laparoskopi, pada hewan coba *Rattus norvegicus*.

1.2.1. Sub masalah

Berdasarkan permasalahan diatas, dirumuskan submasalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat perbedaan kadar TGF- β , IL-10 dan rasio TGF- β /IL-10 cairan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi?
2. Apakah terdapat perbedaan kadar *Total Oxidant Status* (TOS), *Total Antioxidant Capacity* (TAC), *Oksidatif Stres Index* (OSI) cairan peritoneal dan kadar MDA jaringan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi?
3. Apakah terdapat perbedaan jumlah sel mast dan persentase degranulasi sel mast, kadar *histamine*, *tryptase* dan *chymase* cairan peritoneal, pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi?
4. Apakah terdapat perbedaan ekspresi *zone-occludin 1* (ZO-1) jaringan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi?
5. Apakah terdapat perbedaan ketebalan matrik ekstra seluler (MES) jaringan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi?

6. Apakah terdapat perbedaan skoring adesi intra-abdominal dan perubahan mikroskopis pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi?

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak terhadap modulasi inflamasi, modulasi stres oksidatif, jumlah dan degranulasi sel mast, ketebalan MES serta skoring adesi intra-abdominal pasca laparoskopi, pada hewan coba *Rattus norvegicus*.

1.3.1. Tujuan Umum

Mempelajari pengaruh ekstrak umbi bawang Dayak dalam menurunkan modulasi inflamasi, modulasi stres oksidatif, jumlah dan degranulasi sel mast, ketebalan MES serta skoring adesi intra-abdominal pasca laparoskopi melalui penurunan jumlah dan degranulasi sel mast.

1.3.2. Tujuan khusus

1. Memperoleh bukti adanya perbedaan kadar TGF- β , IL-10 dan rasio TGF- β /IL-10 cairan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi.
2. Memperoleh bukti adanya perbedaan *Total Oxidant Status* (TOS), *Total Antioxidant Capacity* (TAC), *Oksidative Stress Index* (OSI) cairan peritoneal dan kadar MDA jaringan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi.

3. Memperoleh bukti adanya perbedaan jumlah sel mast dan persentase degranulasi sel mast, kadar *histamine*, *tryptase* dan *chymase* cairan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi.
4. Memperoleh bukti adanya perbedaan ekspresi *zone-occludin 1* (ZO-1) jaringan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi.
5. Memperoleh bukti adanya perbedaan ketebalan matrik ekstra seluler (MES) jaringan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi.
6. Memperoleh bukti adanya perbedaan skoring adesi intra-abdominal dan perubahan mikroskopis pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat teoritis

Menambahkan informasi keilmuan tentang patomekanisme terjadinya adesi intra-abdominal melalui modulasi stres oksidatif, modulasi inflamasi dan stabilisasi sel mast pasca laparoskopi oleh ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak.

1.4.2. Manfaat praktis

- a. Memberikan rekomendasi kepada peneliti selanjutnya tentang ekstrak bawang Dayak pada mekanisme/jalur modulator inflamasi.

- b. Memberikan rekomendasi kepada peneliti selanjutnya tentang ekstrak bawang Dayak pada mekanisme/jalur modulator stres oksidatif.
- c. Memberikan rekomendasi besar tekanan yang aman kepada operator laparoskopi.
- d. Memberikan rekomendasi kepada peneliti laparoskopi untuk melakukan penelitian tahap lanjut hingga pada manusia untuk mencegah komplikasi laparoskopi.
- e. Memberikan rekomendasi kepada departemen pertanian, untuk mengkaji dan memanfaatkan bawang Dayak dari tanaman liar menjadi tanaman budidaya obat sebagai pencegah adesi intra-abdominal pasca laparoskopi.

BAB 2**TINJAUAN KEPUSTAKAAN****2.1. ADESI INTRA ABDOMINAL**

Adesi intra-abdominal adalah perlengketan tidak normal organ intra-abdomen, dihubungkan oleh jaringan berbentuk pita yang bervaskularisasi dan berinnervasi akibat pembedahan. Perlengketan pasca pembedahan, mengakibatkan nyeri pelvis berkepanjangan, sumbatan usus dan infertilitas (Vase *et al*, 2010).

Beberapa tipe trauma pembedahan meningkatkan terjadinya adesi yaitu: cedera serosa, endotoksemia, manipulasi usus, distensi usus, desikasi serosa, iskemia jaringan dan traksi jaringan (Vase *et al*, 2010., Mutsaers *et al*, 2015).

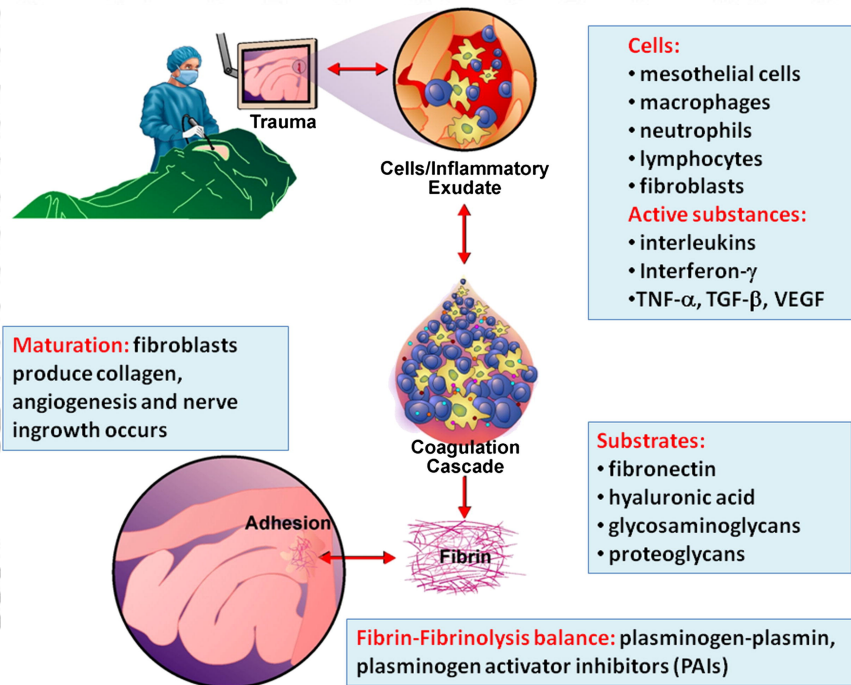
2.1.1. Patogenesis adesi intra abdominal.

Cairan peritoneum normal mengandung plasma protein, terdiri dari mediator kimia (interleukin, interferon- γ , TNF- α , TGF- β , VEGF) dan residen sel (Maciver *et al*, 2011). Penyembuhan peritoneum pasca pembedahan ditentukan 2 proses:

a. Proliferasi dan regenerasi sel mesotelial.

b. Proses fibrinolisis.

Gangguan pada kedua mekanisme di atas, dapat menyebabkan adesi intra abdominal. (gambar 2.1)



Gambar 2.1

Mekanisme adesi intra-abdominal pasca laparoskopi. Cedera peritoneum dan organ intra abdominal lainnya, akan membentuk eksudat yang kaya sitokin pro-inflamatori dan beberapa tipe sel. Sitokin pro-inflamasi dan sel akan mengaktifkan kaskade koagulasi dan fibrin mesh. Fibrin mesh diabsorpsi atau maturasi menjadi jaringan adesi (Dikutip dari Maciver *et al*, 2011)

2.1.1.1 Faktor peritoneum dan seluler

Laparoskopi menyebabkan luruhnya sel mesotel dan terpaparnya membrana basalis dengan sel sekitar. Keadaan ini mencetuskan respon inflamasi lokal dan mengakibatkan sekresi cairan seroanguinus atau eksudat kaya fibrin. Eksudat fibrin merupakan komponen esensial pembentukan deposit fibrin pada penyembuhan peritoneum. Pada keadaan normal deposit fibrin akan mengalami resolusi. Bila deposit fibrin yang menetap, menyebabkan invasi fibroblas dan pembentukan vaskularisasi baru. Fibrin menjadi jaringan fibrous, adesi permanen, dan ditandai

dengan perubahan ketebalan matrik ekstra seluler dan pembentukan vaskularisasi baru (Hellebrekers *and* Kooistra, 2011., Maciver *et al.*, 2011).

Hipoksia menyebabkan konversi normo-fibroblas menjadi adhesif-fibroblas. Adhesif-fibroblas mempunyai aktivitas fibrinolisis lebih rendah dibanding normal-fibroblas. Adhesif-fibroblas meningkatkan beberapa sitokin, faktor koagulasi dan enzim proteolitik yang berperan pada remodeling matrik ekstra seluler (MES). Fibrin terjadi karena aktivasi kaskade koagulasi, saat hemostasis, inflamasi dan penyembuhan jaringan. Aktivasi kaskade koagulasi melalui beberapa jalur. Mekanisme fibrinolisis terjadi agar struktur jaringan kembali normal (Hellebrekers *and* Kooistra, 2011., Lin *and* Hu, 2014).

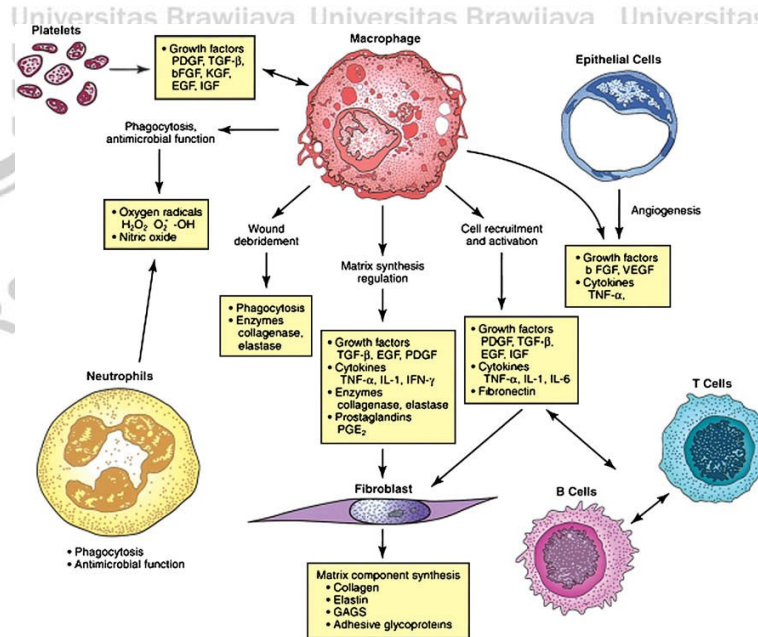
Fibroblas berperan pada terjadinya adesi, jumlahnya meningkat pada minggu ke 2 pasca trauma. Pada minggu ke 3, pembentukan adesi intra-abdominal mencapai puncaknya (Maciver *et al.*, 2011). Fibroblas terdapat di peritoneum normal dan jaringan adesi. Ditemukan perbedaan fenotipe antara normo fibroblas dan adhesif fibroblas, terbukti bahwa efek hipoksia dan TGF- β pada produksi adhesif fibroblas (Rout *et al.*, 2005).

Faktor seluler yaitu: neutrofil, makrofag, limfosit dan mesotel berperan pada cedera peritoneum (Maciver *et al.*, 2011).

Mesotel merupakan residen sel terbanyak dalam rongga intra abdomen. Sekresi mediator yang dilepaskan mesotel, menentukan respon peritoneum terhadap cedera dan berperan pada terjadinya adesi. TGF- β merupakan salah satu mediator yang dilepaskan mesotel (Leung *et al.*, 2000., Sammour, 2011).

Makrofag. Dalam tubuh makrofag menempati rongga tubuh yang strategis.

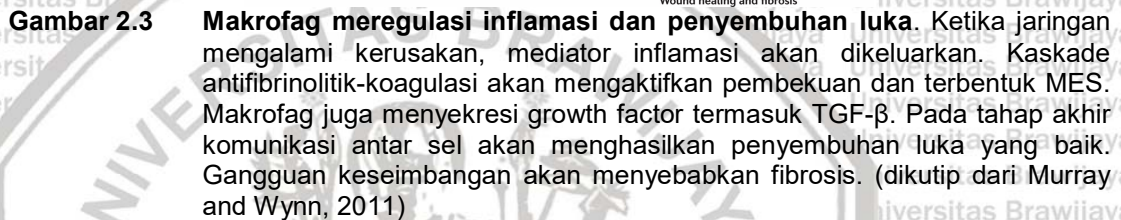
Sebagai residen sel peritoneal, makrofag berperan pada proses ingestif jaringan mati, debris dan memberikan sinyal inflamasi (Gambar 2.2) (Murray and Wynn, 2011)



Gambar 2.2

Interaksi makrofag. Interaksi makrofag dengan sel sekitar dan mediator yang diproduksi. Makrofag berinteraksi dengan sel sekitar, menyekresi beberapa mediator penting pada penyembuhan luka, termasuk TGF- β yang memicu aktifitas fibroblas. (dikutip dari Teller and White, 2011)

Migrasi makrofag pada rongga intra abdomen terjadi pasca laparoskopi (Papparella *et al*, 2013). Residen makrofag akan melakukan fagosit jaringan yang cidera pada respon inflamasi (Sammour *et al*, 2010). Makrofag menyekresi *growth factor* termasuk TGF- β (Murray and Wynn, 2011). Aktivitas makrofag menyebabkan pembentukan kembali jaringan mesotelial (mesotelisasi) pada area trauma (Maciver *et al*, 2011). Aktivitas Makrofag berlebihan menyekresi TGF- β dan memicu terjadinya fibrosis (Teller and White, 2011)



Sel Mast berperan pada proses fisiologis dan patologis dalam tubuh, dijumpai diseluruh tubuh terutama pada *port de entry* di peri-vaskuler, peri-limfatik dan peri-neural (Kalesnikoff and Galli, 2008., Widjanto, 2012). Perbedaan sifat dengan sel hemopoitik lainnya, yaitu: umur sel mast yang mencapai bulan-tahun, diduga memberikan respon berkepanjangan pada trauma, dan berperan pada kejadian fibrosis (Widjanto, 2012., de Souza Junior et al, 2015). Laparosopi menyebabkan peningkatan sel mast pada hari ke 3 pasca operasi dan mencapai puncak hari ke 7. Diduga sel mast berperan pada pembentukan adesi dan proses

remodeling (Hermanowicz *et al*, 2010). Pneumoperitoneum menghasilkan radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$) menyebabkan kerusakan membran sel mast akibat hidrolisis membran fosfolipid. Produksi TGF- β oleh degranulasi sel mast akan menstimulasi proliferasi fibroblas (Wu, 2011., Widjajanto, 2012). Peran sel mast pada proses patologi penyembuhan luka dan terjadinya jaringan parut, dibuktikan dengan ditemukan distribusi sel mast yang berlebihan (Beer *et al*, 1998), *tryptase* dan *histamine* pada jaringan parut (Beer *et al*, 1998., Maciver *et al*., 2011). Penelitian membuktikan bahwa, protease sel mast (*tryptase/chymase*) dapat mencetuskan kejadian jaringan parut. *Trypase/chymase* sel mast terbukti meningkatkan aktifitas TGF- β dan menurunkan afinitas *tight junction* sel, sehingga berpotensi sebagai protein pro-fibrotik (Bankova *et al*, 2014., Dong *et al*, 2014., de Souza Junior *et al*, 2015). Sel mast berperan pada proses patologi penyembuhan luka dan terjadinya jaringan parut. Peningkatan degranulasi sel mast dijumpai pada daerah adesi intra abdominal (Maciver *et al*, 2011).

Sel mast protease mempunyai peranan ganda pada proses inflamasi, sel mast *protease* mampu meningkatkan dan menurunkan inflamasi tergantung pada lingkungan mikro. Peranan sel mast *protease* pada mekanisme pro-inflamasi mengakibatkan ketebalan MES berlebihan (Pejler *et al*, 2010). Sel mast protease (*tryptase dan chymase*) merupakan mediator angiogenik yang kuat pada MES (de Souza Junior *et al*, 2015). Sel mast protease ketebalan MES dan lepasnya epitel (Lin *et al*, 2011).

Sel mast tryptase mengaktifkan *protease-activated receptor* (PAR)-2 dan mengganggu fusi endosome/lysosome sehingga merusak fungsi barier epitel (Li *et al*,

2014). *Tryptase* merupakan poten *growth factor* fibroblas dan memicu terjadinya fibrosis (Payne and Kam, 2004).

Sel mast chymase adalah suatu *chymotrypsin-like serine protease* yang berperan pada aktivasi angiotensin I dan mengaktifkan laten TGF- β . TGF- β aktif akan berikatan dengan fibroblas (Takai *et al*, 2003., Virupakshaiah and Rozindar, 2016).

Secara langsung *chymase* memicu aktivasi PAR-2 (Groschwitz *et al*, 2013), meningkatkan permeabilitas sel epitelial dan struktur protein *tight-junction zone-occludine-1* (ZO-1) (Pejler *et al*, 2010) dan menyebabkan lepasnya ikatan antar sel (Groschwitz *et al*, 2013., Bankova *et al*, 2014). *Chymase* yang berlebihan menyebabkan influk sel inflamasi pada MES dan meningkatkan kejadian fibrosis (Takai *et al*, 2012., Virupakshaiah and Rozindar, 2016). *Chymase* meningkatkan pelepasan TGF- β 1 dan meningkatkan proliferasi fibroblas pada MES (Dong *et al*, 2015).

Degranulasi sel mast

Degranulasi sel mast terjadi karena trauma kimia, tekanan dan dingin (Pearce, 1985., Baratawidjaja and Rengganis, 2014). Trauma fisik, menyebabkan terbukanya kanal Ca^{2+} pada plasma membran (Pearce, 1985., Abbas *et al*, 2015). Influk Ca^{2+} mengakibatkan aktivasi sel mast (Cuong *et al*, 2016). Kehilangan kemampuan homeostasis Ca^{2+} pada sel, mengakibatkan cedera dan kematian sel (Dong *et al*, 2006., Ma and Beaven, 2011).

2.1.1.2 Faktor mediator humoral

Mediator humoral mempunyai peranan penting pada terjadinya adesi intra abdominal. TGF- β merupakan sitokin yang dominan sebagai mediator pro-fibrotik

(Maciver *et al*, 2011., Li *et al*, 2015). TGF- β and sitokin pro-inflammasi lainnya bekerjasama dalam sintesis kolagen (Yoshida *et al*, 2016). TGF- β berperan pada terjadinya adesi intra abdominal (Maciver *et al*, 2011). TGF- β -1 menghambat degradasi MES (Bujak *and* Frangogiannis, 2007). TGF- β berpengaruh pada kekuatan fibrosis (Pohlers *et al*, 2009).

2.2 Laparoskopi

Laparoskopi merupakan prosedur pembedahan minimal invasi, menggunakan kamera dan instrumen bedah yang dimasukkan melalui insisi kecil pada dinding abdomen. Laparoskopi dipakai untuk keperluan diagnostik dan terapeutik (Aldana *et al*, 2003., Baysal *et al*, 2009). Laparoskopi menggantikan laparotomi karena memiliki keuntungan, antara lain : trauma jaringan lebih minimal, masa penyembuhan lebih pendek, luka operasi kecil, nyeri pasca operasi lebih ringan, penyembuhan lebih baik, perdarahan minimal, mobilisasi dini, risiko *wound dehiscence* lebih kecil dan lebih baik secara kosmetik (Unsal *et al*, 2009., Cekic *et al*, 2014).

Untuk mendapatkan visualisasi yang adekuat, diperlukan insuflasi gas karbon dioksida (CO₂) pada rongga abdomen. Peningkatan insuflasi melebihi tekanan fisiologis rongga abdomen, suhu gas CO₂, sifat keasaman CO₂ dan durasi, mengakibatkan perubahan struktur mesotelial peritoneum dan gangguan hemodinamika (Cevrioglu *et al*, 2004., Papparella *et al*, 2013). Pneumoperitoneum menggunakan gas karbon dioksida (CO₂) murni menimbulkan konsekuensi negatif. Peningkatan tekanan intra-abdomen (TIA) menyebabkan iskemia splanknik dan

diikuti oleh cedera reperfusi setelah desuflasi (Baysal *et al*, 2009., Hendrickson, 2012).

Cedera peritoneum akan meninggalkan area denudasi/gundul jaringan peritoneal (Volz *et al*, 1999., Neuhaus and Watson, 2004., Davey *et al*, 2013). Kondisi fisiologis homeostatik tekanan intra-abdominal rongga peritoneum berada pada 0-3 mmHg dan tekanan vena porta 7-10 mmHg (Cevrioglu *et al*, 2004., Sammour, 2011).

Peningkatan tekanan intra-abdomen akibat insuflasi gas CO₂, terbukti menyebabkan perubahan struktur permukaan sel mesotelial (Volz *et al*, 1999., Suematsu *et al*, 2001., Papparella *et al*, 2013). Perubahan karakteristik peritoneum dipengaruhi oleh komponen kimia, temperatur dan kelembaban, besar tekanan, tipe dan durasi gas yang digunakan (Binda and Koninckx, 2009., Supe *et al*, 2010).

Parameter	CO ₂	Helium	Udara biasa	Argon	N ₂ O	Peneliti
Asidosis Respiratori	Tinggi	Kurang	-	Kurang	-	Bongarts <i>et al</i> , 1993 Junghans <i>et al</i> , 1997 Zou <i>et al</i> , 2015
Fungsi Respiratori	Tinggi	Kurang	-	tinggi	-	
Fungsi Hemodinamik	Tinggi	Kurang	-	Tinggi	-	
TNF- α	Rendah	Tinggi	-	-	-	Jacobi <i>et al</i> , 1998
IL-10	Tinggi	Tinggi	-	-	-	
Emboli	Mudah eliminasi	More lethal	-	-	-	Wolf <i>et al</i> , 1994
Eliminasi	< 24 jam	> 48 jam	< 24 jam	-	-	Suematsu <i>et al</i> , 2001
Inflamasi	Sedang	kurang	tinggi	-	-	
Perubahan struktur mesotel	Berat	ringan, tetapi lama pulih	sedang	-	-	Neuhaus <i>et al</i> , 2004

Tabel 2.1 Percobaan laparoskopi dengan beberapa macam gas

Beberapa macam gas telah diteliti sebagai gas insuflator pada laparoskopi, sebagai upaya mengurangi komplikasi akibat gas. Gas CO₂ tetap unggul dibanding dengan gas lain, karena : mudah dieliminasi oleh tubuh, mudah didapat dan bukan merupakan kelompok logam (Bongarts *et al*, 1993., Wolf *et al*, 1994., Junghans *et al*, 1997., Jacobi *et al*, 1998., Suematsu *et al*, 2001., Neuhaus and Watson, 2004., Zou *et al*, 2015).

2.2.1. Perubahan morfologi peritoneum pada laparoskopi

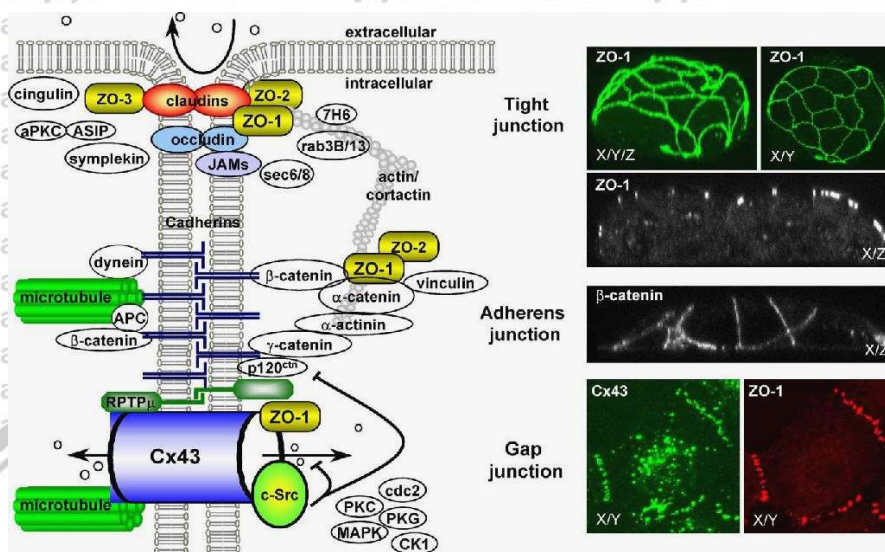
Perubahan struktur peritoneum berupa: penonjolan sel, pelebaran *intercellular junction*, terpaparnya membrana basalis, hingga lepasnya sel mesotel dari membrana basalis (Erikoglu *et al*, 2005., Neuhaus and Watson, 2004., Davey *et al*, 2013)

2.2.2. Mekanisme pelepasan sel mesotel (mesothel detachment) pasca laparoskopi.

Mesotelial merupakan kesatuan sel mesotel terikat pada membrana-basalis, sisi apex bebas dan terpapar dengan matrik ekstra seluler. Sisi lateral sel membentuk ikatan satu dengan yang lain. Dua tipe *anchoring junction* dihubungkan dengan sitoskeleton. Pertama *adheren junction* yang diikat oleh *actin filament*, kedua *desmosomes* yang diikat oleh *intermediate filament*. Pada sisi membrana basalis terdapat *actin-linked-cell-matrix junction* yang terikat oleh *intermediate filament* (Khursheed and Bashyam, 2014., Albert *et al*, 2015).

2.2.2.1 Susunan protein *Intercellular Mesothel Junction*

Cell cell junction disusun oleh protein, perubahan struktur protein akan mengganggu susunan *cell cell junction* dan mengakibatkan lepasnya ikatan antar sel (gambar 2.4) (Giepmans, 2004).



Gambar 2.4 Organisasi Molekuler dan *cell-cell junction* (interaksi antar sel)
Komponen dan protein yang menyusun *cell-cell junction*. Protein ZO-1 merupakan protein yang menyusun *cell-cell junction*. Gambaran *cell cell junction* dengan mikroskop konfokal (dikutip dari Giepmans, 2004).

Tight junction, *desmosome*, *gap junction* dan *adherent junction* semuanya diikatan oleh protein Zone-Occludin-1 (ZO-1). Perubahan struktur ZO-1 akan mengakibatkan lepasnya ikatan antar sel (Giepmans, 2004).

2.2.3. Stres Oksidatif pada laparoskopi

Kondisi fisiologis rongga peritoneum berada pada tekanan intra abdominal sebesar 0-3 mmHg. Peningkatan tekanan intra abdominal akibat insuflasi, akan memicu perubahan struktur peritoneum (Sammour, 2011). Pada tubuh manusia, tekanan intra abdominal sebesar 15 mmHg atau lebih menyebabkan turunya aliran darah pada peritoneum parietal. Pneumoperitoneum diyakini menyebabkan trauma iskemia peritoneum parietal dan organ splanknik (Cevrioglu et al, 2004., Gutt et al, 2004).

Tekanan 10 – 12 mmHg berpotensi terjadi stres oksidatif. Radikal bebas yang terjadi, berpotensi menimbulkan proses patologis termasuk adhesi intra-abdominal (Yiannakoupoulou *et al*, 2013). Spesies Oksigen Reaktif (SOR) adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif (Halliwell dan Whiteman, 2004., Suhartono *et al*, 2007). Peritoneum adalah jaringan kapiler yang luas dan jaringan limfe pada sub-mesotelial jaringan penghubung. Struktur ini menyebabkan peritoneum mensekresikan SOR antara lain: anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), serta radikal hidroksil ($OH\cdot$) sebagai responnya terhadap cedera (Cevrioglu *et al*, 2004., Veekash *et al*, 2010).

Peningkatan tekanan intrabdomen pada laparoskopi menyebabkan pembentukan radikal bebas. Pembentukan radikal bebas menginduksi peroksidase lipid dan menurunkan kapasitas modulator stres oksidatif. Mekanisme pembentukan radikal bebas sesuai dengan fenomena iskemia-reperfusion akibat insuflasi dan desuflasi pneumoperitoneum (Glantzounis *et al*, 2001). Peritoneum tersusun atas jaringan kapiler luas dan jaringan limfe pada sub-mesotelial mampu menyekresikan senyawa oksigen reaktif (SOR). Pembentukan oksidan terjadi dalam rentang waktu 2-5 menit segera setelah reperfusion organ intestinal yang mengalami iskemia (Sasaki and John, 2007). Pembentukan oksidan diyakini berasal dari rantai transpor elektron mitokondria, metabolisme xantin oksidase (XO), sel endotel, prostaglandin, dan neutrofil teraktivasi (Liu *et al*, 2004., Sasaki and John, 2007).

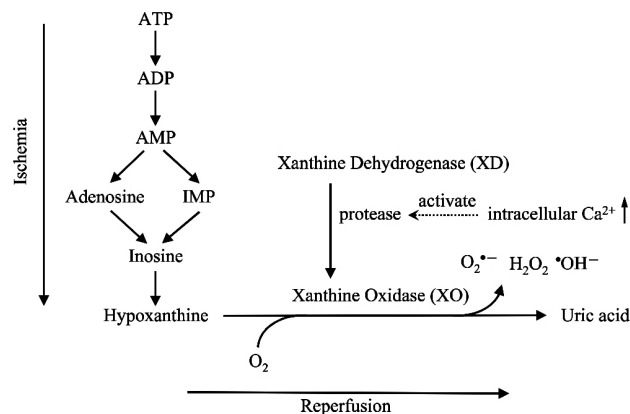
Superoksida memiliki sifat lebih efisien sebagai agen pereduksi dibandingkan oksidasi. Enzim SOD akan mengkatalisis superoksida ($O_2^{\cdot-}$) dan membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2). Superoksida juga berperan dalam

pembentukan radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$) melalui reaksi Haber-Weiss sebagai berikut.

(Sasaki *and* John, 2007):



Senyawa Oksigen Reaktif juga dibentuk melalui reaksi yang dikatalisis oleh enzim xantin oksidase. Mukosa intestinal memiliki kapasitas sangat besar untuk mengoksidasi hipoxantin melalui xantin oksidase yang terdapat pada semua jaringan sehat sebagai xantin dehidrogenase (XD). Pada kondisi iskemia, XD akan dikonversi secara cepat menjadi XO oleh enzim protease yang diaktifkan oleh iskemia (*ischemia-mediated protease*), dan XO dapat mereduksi molekul oksigen menjadi radikal superoksida ($\text{O}_2^{\cdot-}$) serta hidrogen peroksida (H_2O_2) (Sasaki *and* John, 2007). Mekanisme pembentukan radikal bebas melalui XO dijelaskan pada gambar berikut :



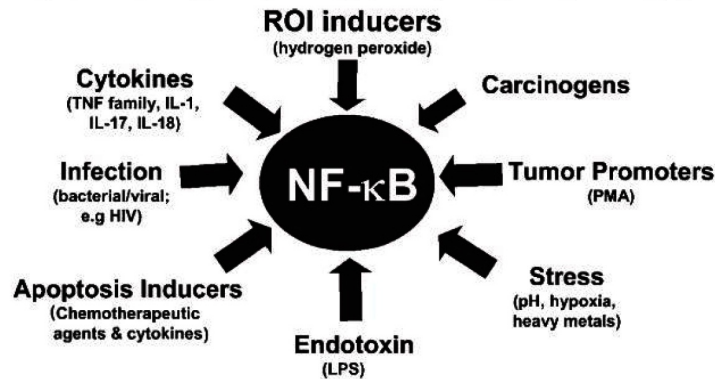
Gambar 2.5 Mekanisme pembentukan radikal bebas oleh xantin oksidase (dikutip dari Sasaki *and* John, 2007)

2.2.4 Mekanisme inflamasi melalui aktivasi NFκB pada laparoskopi.

Aktivasi NFκB dipicu oleh stimulus yang bersifat multipel dan kompleks.

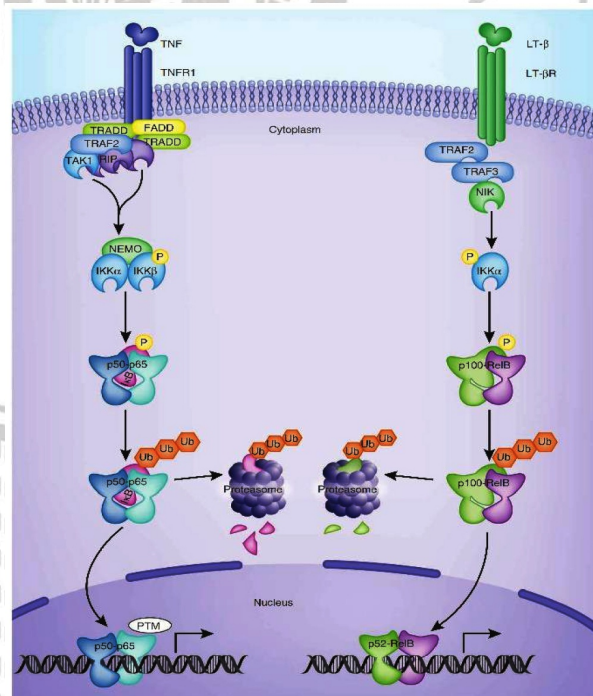
Senyawa oksigen reaktif, stres karena hipoksia, sitokin dapat mengaktifkan NFκB

(Gambar 2.6) (Garg *and* Aggarwal, 2002).



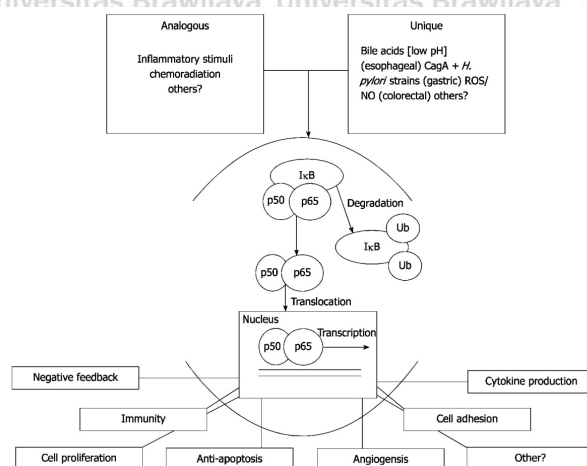
Gambar 2.6 Aktivasi NFκB dipicu oleh berbagai stimulus (dikutip dari, Garg and Aggarwal, 2002)

Aktivasi NFκB menyebabkan translokasi p50 dan p65 ke dalam nucleus melalui jalur canonical dan translokasi p52 dan RelB melalui jalur non canonical ke dalam nukleus (Morgan and Liu, 2011., Oekinghaus *et al*, 2011).



Gambar 2.7 Jalur aktivasi NFκB. Canonical pathway menyebabkan translokasi p50 dan p65 ke dalam nukleus. Noncanonical pathway menyebabkan p52 dan RelB ke dalam nukleus (Dikutip dari Oekinghaus *et al*, 2011).

Stimulus inflamasi (termasuk TGF- β) mencetuskan fosforilasi sisi aktif I κ B dan menyebabkan aktivasi dari IKK α , IKK β dan IKK γ (NEMO). gambar 2.13 (Morgan *and* Liu, 2011., Gambhir *et al*, 2015).



Gambar 2.8 Stimulasi canonical pathway. Stimulasi canonical pathway menyebabkan ekspresi protein yang ditentukan oleh NF κ B. Stimulasi akan menginduksi inflamasi. Senyawa oksigen reaktif (SOR) berperan pada aktivasi NF κ B. (dikutip dari Gambhir *et al*, 2015).

Senyawa oksigen reaktif berinteraksi dengan NF κ B di jalur sinyal NF κ B.

Senyawa oksigen reaktif menyebabkan aktivasi degradasi IKK (Morgan *and* Liu, 2011).

2.3. Bawang Dayak

Bawang Dayak (*Eleutherine* Sp) merupakan tanaman herbal, dengan ciri bulbus (umbi) tanaman berwarna merah. Komposisi daun berpasangan, bersirip ganda, tulang daun sejajar, tepi daun licin dan berbentuk pita. Bunga berukuran mungil, berkelopak lima dan berwarna putih. Bulbus (umbi) berbentuk bulat lonjong, memanjang sebesar biji nangka dan berwarna merah. Bulbus (umbi) berasa pahit dan jika dimakan lidah akan terasa keras seperti minum air panas. Bagian yang digunakan untuk obat adalah daun dan bulbus (umbi) nya (Saleh, 2010). Bawang

Dayak mampu beradaptasi pada berbagai iklim dan struktur tanah. Tanaman ini dapat dibudidayakan dan dipanen dengan cepat (Paramapoin *et al.*, 2008).

Di Kalimantan, bulbus (umbi) bawang Dayak digunakan untuk pengobatan. Penelitian Setyowati *et al* membuktikan bahwa bawang Dayak memiliki manfaat untuk penyembuhan luka (Setyowati, 2010). Analisa fitokimia membuktikan, bawang Dayak mengandung bahan aktif naphthoquinon dan anthraquinon, flavonoid, tannin dan phenol. Bahan aktif diketahui memiliki kemampuan modulator inflamasi dan modulator stres oksidatif (Han *et al*, 2008., Song *et al*, 2009).



Klasifikasi Bawang Dayak (Eleutherine amerinana L merr)

Kingdom	: plantae
Divisi	: spermatophyte
Sub-divisi	: angiospermae
Kelas	: monocotyledonae
Ordo	: liliales
Famili	: iridaceae
Genus	: eleutherine
Spesies	: Eleutherine Americana L. Merr

Diunduh dari
<http://www.ecplaza.net/trade-leads-seller/eleutherine-palmifolia-7806106.html> pada tanggal 28/12/2016

Bawang Dayak diklasifikasikan sebagai berikut: kingdom (*plantae*), divisi (*spermatophyte*), sub divisi (*angiospermae*), kelas (*monocotyledonae*), ordo (*liliales*), famili (*iridaceae*), genus (*eleutherine*), spesies (*Eleutherine Americana L. Merr*).

Bawang Dayak memiliki beberapa nama daerah di Indonesia : si marbawang-bawang (Sumatera Utara), brambang sabrang (Jawa), bawang sabrang (Sunda), bawang

Dayak (Pontianak), bawang hutan (Kalimantan Timur), bawang tiwai (Kutai) (Ifesan et al, 2009., Song et al, 2009).

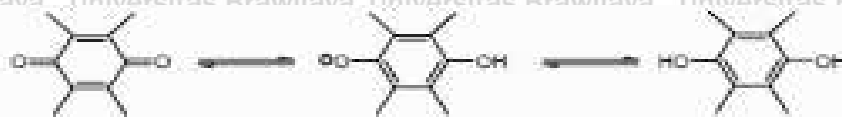


Gambar 2.9 Bulbus (umbi) bawang Dayak. Bulbus (umbi) bawang Dayak berbentuk bulat lonjong, memanjang sebesar biji nangka dan berwarna merah (dikutip dari Nur, 2011).

2.3.1 Bahan aktif bawang Dayak

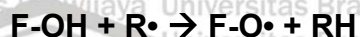
Napthoquinon merupakan metabolit sekunder disintesis melalui jalur asetat dan malonat (plumbagin), jalur kombinasi shikimat/suksinil CoA (lawsone) dan jalur shikimat/melavonat (alkannin) (Babula et al, 2009).

Napthoquinon memiliki struktur dan aktivitas sebagai modulator inflamasi. Napthoquinon sebagai inhibitor kuat terhadap transpor elektron menghambat pelepasan sitokin, *Nucleus Factor kappa Beta* (NF- κ B) (Babula et al, 2009., Pinho et al, 2011). Siklus redoks quinon diawali reduksi satu atau dua elektron. Mekanisme reaksi turunan quinon sebagai modulator stres oksidatif karena kemampuannya sebagai akseptor elektron (Kuntorini, 2013).



Gambar 2.10 Mekanisme Quinon sebagai Modulator stres oksidatif (dikutip dari Kuntorini, 2013)

Penelitian terdahulu membuktikan flavonoid mampu menekan sitokin pro-inflamasi dan merupakan modulator stres oksidatif kuat. Aktivitas modulator stres oksidatifnya karena kemampuan donor Hidrogen. Mekanisme kemampuan modulator stres oksidatif dapat dilihat sebagai berikut (Pinho *et al.*, 2011):



Flavonoid dapat menghambat peroksidase berperan sebagai peredam anion superoksid dan radikal hidroksil. Flavonoid menghambat siklooksigenase dan lipooksigenase yang berperan dalam inflamasi, sehingga terjadi degranulasi neutrofil (Sandhar *et al.*, 2011).

Alkaloid, menghambat pergerakan neutrofil dan monosit dan transformasi limfosit. Kemampuan modulator inflamasinya menekan pelepasan dan aktivitas sitokin inflamasi. **Terpenoid** terbukti menekan aktivitas NF- κ B dan produksi NO secara efektif (Beg *et al.*, 2011).

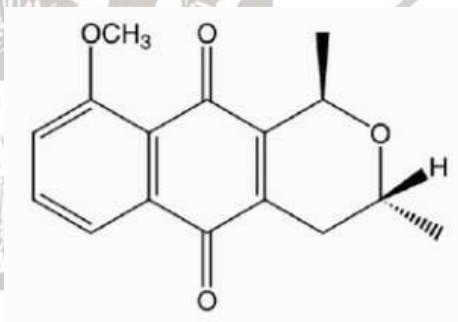
2.3.2 Kemampuan Modulator inflamasi, Modulator stres oksidatif dan potensi penstabil Sel Mast bawang Dayak

Penelitian membuktikan kemampuan modulator stres oksidatif dan modulator inflamasi bawang Dayak karena kandungan fitokimia bawang Dayak antara lain: derivat naftokuinon, flavonoid, alkaloid, glikosida, senyawa fenol, terpenoid.

Efek modulator stres oksidatif. Bawang Dayak mempunyai kemampuan modulator stres oksidatif pada struktur mikro anatomi tubulus seminiferus tikus jantan. Pemberian ekstrak etanol bulbus (umbi) bawang Dayak dengan dosis 60 mg/kg BB dan 90 mg/kg BB meningkatkan jumlah spermatid akibat radikal bebas asap rokok. (Ernawati *and* Nurliani, 2012). Terbukti efek modulator stres oksidatif

ekstrak etanol bulbus (umbi) bawang Dayak menurunkan kerusakan dinding bronkioli dan alveolus paru-paru tikus (Nur, 2011., Nurliani *et al*, 2012).

Aktivitas modulator stres oksidatif berhubungan dengan umur bawang Dayak. Penelitian membuktikan aktivitas modulator stres oksidatif usia tanaman 12 minggu terbukti lebih kuat dibanding usia 6 minggu. Bawang Dayak usia 12 minggu memiliki berkas pengangkut dengan ukuran dan jumlah sel lebih banyak, sehingga transpor dan akumulasi metabolit sekunder lebih baik (Kuntorini, 2013). Senyawa (-)-isoeleutherin, (+)-eleutherin mempunyai antiinflamasi yang kuat (Han *et al*, 2008) mampu menghambat aktivasi transkripsional NF- κ B sebagai faktor penting pada regulasi ekspresi enzim dan gen sitokin pro-inflamasi (Song *et al*, 2009).



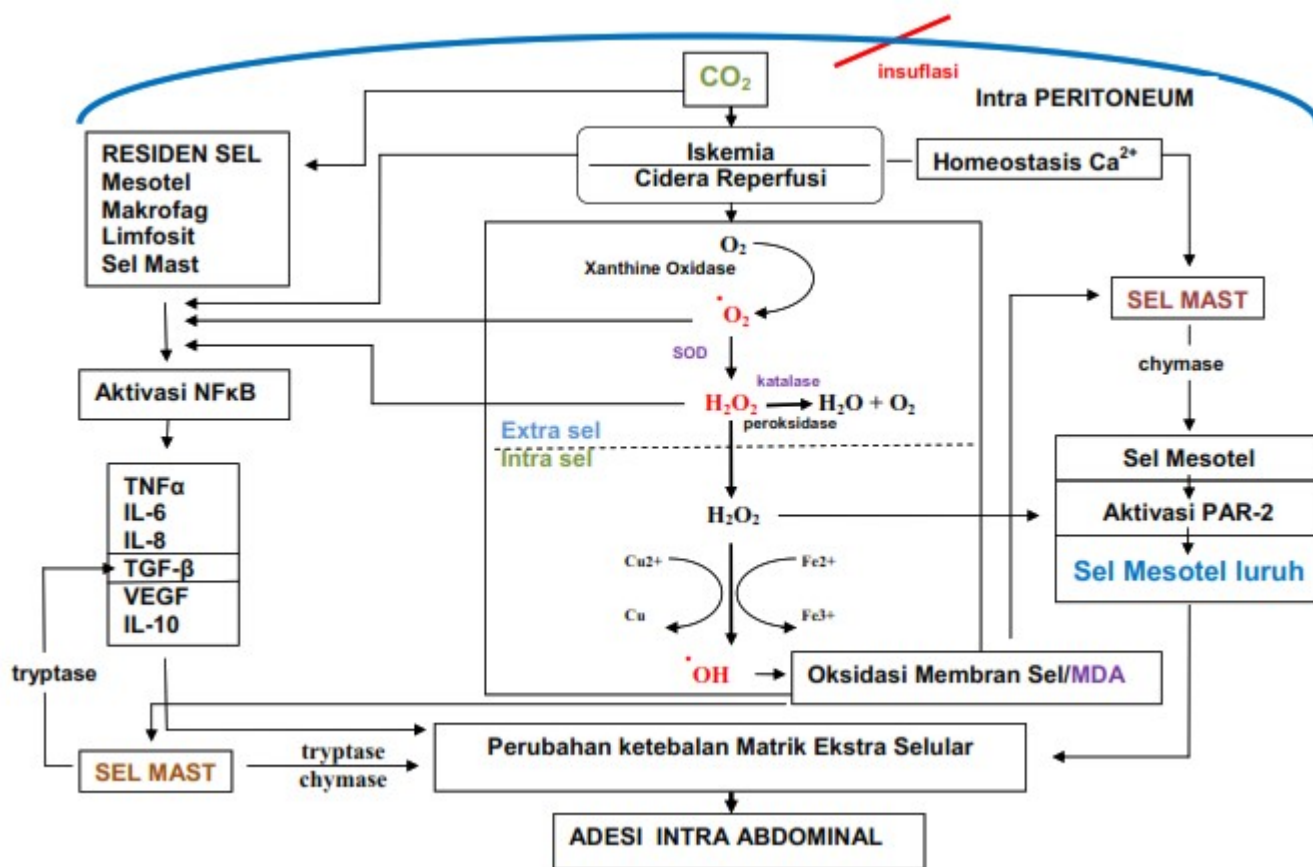
Gambar 2.11 Skema (-)-isoeleutherin. Struktur (-)-isoeleutherin, yang diisolasi dari bulbus (umbi) bawang Dayak (Dikutip dari Song *et al*, 2009).

Derivat naftokuinon bawang Dayak, eleutherine, iso-eleutherine, eleutherol, eleuthone, isoeleuthoside mempunyai efek modulator inflamasinya (Govindappa *et al*, 2011). Derivat flavonoid, 3',4,5,7'-tetrahydroxy-3-methoxy luteolin (methlut), mempunyai potensi inhibitor pada sel mast lebih kuat dibanding luteolin dan cromolyn. Mekanisme methlut melalui inhibisi sekresi β -hexosaminidase dan histamin. (Weng *et al*, 2014).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka teori



Gambar 3.1 Kerangka teori

Pneumoperitoneum

Gas karbon dioksida (CO₂) standar digunakan secara universal pada proses insuflasi pembedahan laparoskopi. Untuk mendapatkan visualisasi yang baik, diperlukan insuflasi gas CO₂. Insuflasi gas CO₂, umumnya dilakukan pada tekanan 10 – 15 mmHg. Tekanan intra-abdominal (TIA) melebihi tekanan fisiologis rongga

abdomen (0 – 3 mmHg) dan tekanan fisiologis vena porta (7 – 10 mmHg) dan terbukti menurunkan perfusi rongga peritoneum secara signifikan (Cevrioglu *et al*, 2004., Gutt *et al*, 2004., Bayzal *et al*, 2009., Sammour, 2011., Papparella *et al*, 2013).

Penurunan perfusi rongga peritoneum menyebabkan iskemia organ dalam rongga peritoneum. Iskemia splanknik mengakibatkan metabolisme anaerob sel, dan terjadi pemecahan *Adenosin Tri Phospat* (ATP) menjadi *Adenosin Di Phospat* (ADP), dan memicu terbentuknya *Hypoxanthine*. Pada kondisi iskemia terjadi pembentukan *Xanthine Oxidase* (XO), yang berasal dari *Xanthine Dehydrogenase* (XD). Perubahan XD menjadi XO, merupakan reaksi yang terjadi karena enzim protease. Enzim protease diaktifkan karena peningkatan kadar kalsium (Ca^{2+}) pada kondisi iskemia. Saat desuflasi, terjadi aliran darah yang kaya oksigen (O_2) ke sirkulasi splanknik. *Hypoxanthine* bereaksi dengan O_2 , membentuk Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) antara lain: superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil (OH). Pembentukan SOR terjadi karena enzim XO (Sasaki *and* John, 2007)

Peningkatan O_2^- memicu aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD), enzim SOD mengkatalis perubahan O_2^- menjadi H_2O_2 (Sasaki dan John, 2007). Molekul OH berasal dari senyawa H_2O_2 melalui reaksi Fenton yang melibatkan logam Fe dan atau reaksi Harber-Weiss yang melibatkan logam Cu, H_2O_2 merupakan oksidan kuat yang stabil dan mampu menembus membran sel (Kant, 2011). Radikal hidroksil (OH) menyebabkan reaksi acak dengan molekul penyusun membran, mengakibatkan kerusakan biologis dengan menstimulasi reaksi struktur rantai lipid membran fosfolipid. Kerusakan membran sel mengakibatkan lepasnya sel serta

organelnya (Sasaki *and* John, 2007., Kant *et al*, 2011). Reaksi peroksidasi lipid pada sel terukur sebagai malonaldehid (MDA).

Omentum mayus merupakan akumulasi jaringan limfoid yang disebut *milky spot*. Pada keadaan normal komposisi *milky spot* mengandung: 70% makrofag, 10% limfosit T, 10% limfosit B dan 10% sel mast. *Milky spot* juga diidentifikasi di beberapa area intra peritoneum. Iskemia dan SOR akan memicu residen sel peritoneal dan menyekresi mediator TGF- β melalui aktivasi NFkB (Sammour *et al*, 2010, Maciver *et al*, 2011., Teller *and* White, 2011., Baratawidjaja *and* Rengganis, 2014., Abbas *et al*, 2015). Peritoneum mengatur proliferasi dan diferensiasi sel residen sebagai pertahanan lokal peritoneum (Kuhry *et al*, 2004).

Hipoksia berpengaruh pada regulasi *growth factor* termasuk TGF- β (Saed *et al*, 2002). TGF- β mempunyai peran penting dalam peningkatan fibroblas dan ekspresi gen, pada pembentukan MES. Fibrosis dipicu melalui peningkatan pembentukan kolagen, sistesa fibronektin dan penurunan degradasi matrik (Shuang, 2015., Yoshida *et al*, 2016). TGF- β memicu residen sel peritoneal termasuk sel mesotel meningkatkan sintesa PAI-1 dan sitokin lainnya, sehingga mempercepat migrasi dan proliferasi adesif fibroblas (Brokelman *et al*, 2011., Zhou *et al*, 2016). TGF- β sebagai sitokin pro-fibrotik dapat digunakan sebagai indikator terjadinya adesi intra abdominal.

Interleukin-10 (IL-10) mempunyai efek multipel dan pleotropik, berperan pada imunoregulasi dan inflamasi. (Mosser *and* Zhank, 2008). IL-10 merupakan sitokin menghambat fibrosis dan menghambat aktifitas NFkB (Sharma *et al*, 2009).

Sel mast sebagai residen sel peritoneal juga memproduksi IL-10 (Grimbaldeston *et*

et al., 2007). Pemberian eksogen IL-10 terbukti menurunkan kejadian adesi intra abdominal pada percobaan tikus (Maciver *et al.*, 2011., Beyene *et al.*, 2015). Sitokin di dalam cairan peritoneal pasca trauma, terbukti mempunyai peran penting dalam pembentukan adesi. Pengukuran TGF- β dan IL-10 cairan peritoneal, dapat dipakai sebagai indikator fibrosis dan anti-fibrosis rongga abdomen (Beyene *et al.*, 2015).

Kerusakan membran sel akibat OH, bisa terjadi pada sel mast sebagai residen sel rongga peritoneum (Sasaki and John, 2007., Kant *et al.*, 2011). Mekanisme lain degranulasi sel mast, terjadi akibat kegagalan hemostasis Ca^{2+} di dalam sel. (Dong *et al.*, 2006., Ma and Beaven, 2011). Degranulasi sel mast mengakibatkan keluarnya granula sel mast, khususnya *tryptase* dan *chymase*. Enzim *tryptase* dan *chymase* berperan pada keseimbangan pembentukan matrik ekstra seluler. Kelebihan enzim diatas menyebabkan pembentukan kolagen berlebihan, sehingga memicu terjadinya adesi intra abdominal. Peningkatan jumlah dan degranulasi sel mast diduga dapat diidentifikasi pada omentum mayus, mesenterium dan peritoneum (Ibrahim *et al.*, 2006., Ibrahim *et al.*, 2008).

Mediator penting cedera reperfusi ialah radikal bebas. Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan sumber radikal bebas saat hipoksia, memicu terbentuknya TGF- β . Peningkatan Ca^{2+} intraseluler sebagai respon metabolisme adaptif intraseluler, akan membentuk kompleks kalsium pirofosfat dan pembentukan asam urat yang dikenal sebagai inflammasom. Inflammasom termasuk molekul – molekul adaptor yang memediasi peningkatan dan sekresi sitokin pro-inflamasi melalui aktivasi NF- κB (Lutz *et al.*, 2010., Ashraf *et al.*, 2012).

Sel mast tryptase dan chymase menstimulasi aktivasi (PAR)-2 dan merusak fungsi barrier epitel. Kedua sel mast protease, mengubah struktur ZO-1 sebagai protein *tight junction*. Perubahan struktur protein tight junction mengakibatkan ikatan antar sel. Pelepasan struktur mesotel peritoneal, akan memicu terjadinya adesi intra abdominal (Pejler *et al.*, 2010., Groschwitz *et al.*, 2013., Li *et al.*, 2014).

Matrik Ekstra Seluler (MES) merupakan komponen penting dari jaringan. MES mempunyai peran penting pada biokimia dan biofisika pada morfogenesis, diferensiasi dan hemostasis jaringan. Penggunaan gas CO₂ standar yang dingin dan kering, mengakibatkan penguapan dan perubahan struktur dari MES. Perubahan struktur MES mengakibatkan perubahan struktur protein MES. Perubahan struktur protein mengakibatkan perubahan proses sinyal serta ekspresi gen yang meningkatkan inflamasi dan sel molekul adesi. Sel inflamasi akan menginfiltrasi struktur MES yang berubah. Perubahan struktur MES akan menarik TGF- β yang akan memicu perubahan fibroblas menjadi mio-fibroblas. Resultan efek dari proses diatas adalah perubahan ketebalan MES yang mengarah pada proses adesi intra peritoneum.

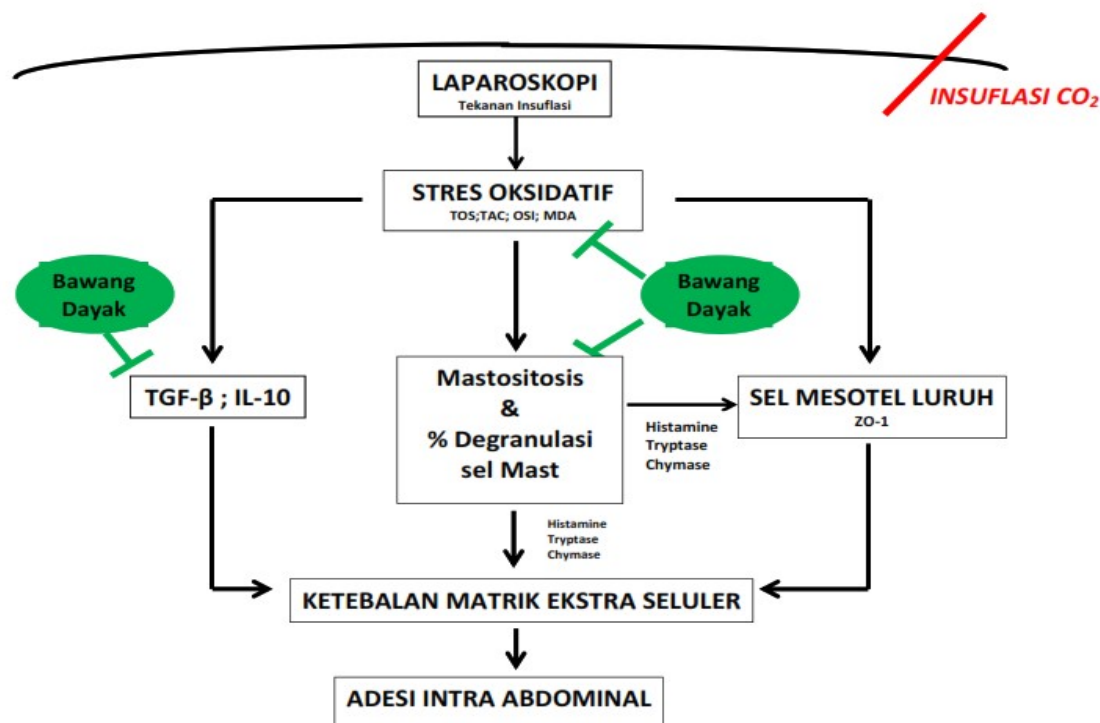
Adesi intra peritoneum adalah perlengketan antar organ intra-abdominal atau perlengketan organ intra-abdominal dengan dinding dalam abdomen. Adesi intra-abdominal terjadi akibat kerusakan peritoneum parietal dan/atau peritoneum viseral. Kerusakan peritoneum mengakibatkan membrana basalis serta MES terpapar dengan jaringan sekitar. Proses diatas akan mengakibatkan perubahan ketebalan MES yang mengarah pada adesi intra peritoneum. Perubahan ketebalan MES diakibatkan akumulasi efek dari: fisik sifat gas CO₂ murni yang dingin dan kering,

stres oksidatif akibat iskemia dan cedera reperfusi, proses inflamasi dan luruhnya sel mesotel dari membrane basalis.

Ekstrak etanol bulbus (umbi) bawang Dayak terbukti memiliki khasiat modulator stres oksidatif yang kuat. Derivat quinon bulbus (umbi) bawang Dayak mempunyai kemampuan sebagai akseptor elektron. Siklus redoks quinon diawali dengan reduksi

satu atau dua elektron. Reduksi satu elektron quinon dikatalase oleh enzim NADPH-sitokrom P450 reduktase, dan menghasilkan semi-quinon yang tidak stabil. Quinon mampu memberikan elektron ke molekul oksigen. Derivat flavonoid sebagai pendonor hidrogen, mampu menghambat peroksidase lipid karena mampu meredam superoksida ($O_2^{\cdot-}$) dan radikal hidroksil ($\cdot OH$). Kemampuan modulator stres oksidatif bulbus (umbi) bawang Dayak menghambat oksidan yang mencetuskan aktivasi NFkB akibat SOR. Derivat quinon, flavonoid dan senyawa polifenol terbukti mempunyai kemampuan modulator inflamasi.

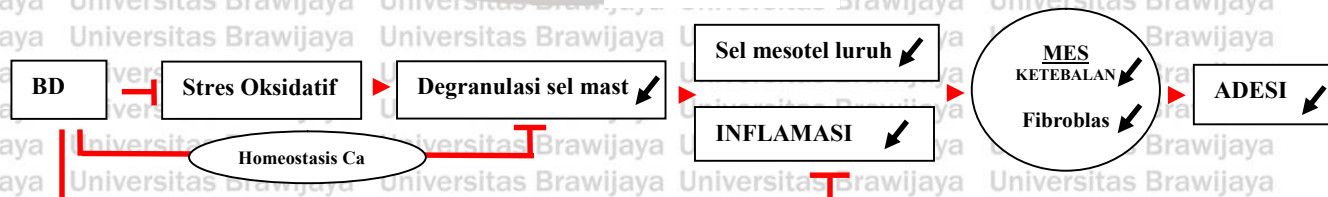
3.2 Kerangka penelitian dan hipotesa



Di disain oleh Peneliti

Gambar 3.2 Kerangka Penelitian

HIPOTESA



Gambar 3.3 Hipotesa penelitian

Insufflasi gas CO₂ dilakukan pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10-12 mmHg disebutkan sebagai tekanan pneumoperitoneum rendah, sedang, dan tinggi. Tekanan insufflasi yang dilakukan melebihi tekanan fisiologis rongga abdomen.

Pneumoperitoneum mengakibatkan penurunan perfusi rongga peritoneum, menyebabkan iskemia splanknik. Iskemia splanknik mengakibatkan pernafasan anaerob sel mesotel peritoneum. Pemecahan ATP menjadi AMP memicu terbentuknya *hypoxanthine*. Peningkatan Ca^{2+} sitosol akibat iskemia jaringan, mengaktifkan enzim protease yang merubah XD menjadi XO. Pada saat desufflasi, terjadi aliran darah yang kaya O₂. Hypoxanthine akan bereaksi dengan O₂ membentuk SOR antara lain: superoksida ($\text{O}_2^{\cdot-}$), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$).

Peningkatan superoksida ($\text{O}_2^{\cdot-}$) memicu peningkatan SOD. Perubahan $\text{O}_2^{\cdot-}$ menjadi H_2O_2 merupakan reaksi katalis oleh enzim SOD. Perubahan molekul H_2O_2 menjadi molekul $\cdot\text{OH}$, melalui reaksi Fenton yang melibatkan logam Fe, dan atau reaksi Harber-Weiss yang melibatkan logam Cu. Molekul H_2O_2 merupakan oksidan kuat yang mampu menembus sel.

Iskemia secara langsung mempengaruhi metabolisme sel mesotel. Gangguan sistem pada membran sel, peningkatan kadar Ca^{2+} dalam sitoplasma memicu luruhnya sel mesotel dari membran basalis. Peningkatan *tryptase* dan *chymase* akibat degranulasi sel mast mengaktifkan (PAR)-2, sehingga terjadi peningkatan permeabilitas epitel. Struktur protein ZO-1 sebagai komponen *tight junction* akan berubah. Perubahan struktur protein mempengaruhi stabilitas ikatan antar, dan menyebabkan lepasnya ikatan antar sel.

Sifat fisik CO₂, iskemia jaringan dan SOR memicu residen sel peritoneum. Molekul $\cdot\text{OH}$ dan molekul H₂O₂ memicu lepasnya ikatan inaktif NF- κ B. Lepasnya ikatan inaktif NF- κ B, menyebabkan translokasi gen p50 dan p65 ke dalam nukleus dan NF- κ B akan teraktifasi. Dengan aktifasi NF- κ B, sitokin proses inflamasi akan dilepaskan dalam rongga peritoneum.

Molekul $\cdot\text{OH}$ menyebabkan oksidasi membran sel melalui peroksidasi lipid, termasuk membran sel mast. Kerusakan dan stimulasi membran sel mast menyebabkan degranulasi sel mast. Granula dalam sel mast akan keluar ke dalam rongga peritoneum, terutama protease. Peningkatan tryptase dan chymase yang merupakan protease utama sel mast, akan mempengaruhi ketebalan matrik ekstra seluler.

Luruh sel mesotel mengakibatkan MES akan terparar. Suhu dingin gas CO₂ menyebabkan evaporasi MES dan memicu terjadinya adesi. Terpaparnya MES menyebabkan perubahan susunan protein matrik, yang memicu aktifasi proses inflamasi.

Perubahan ketebalan MES akan memicu terjadinya adesi intra-peritoneum. Peran penting MES pada morfogenesis, deferensiasi, dan hemostasis jaringan, ditentukan oleh susunan biokimia dan biofisika. Perubahan ketebalan MES menyebabkan perubahan proses sinyal dan ekspresi gen inflamasi dan adesi.

Efek modulator stres oksidatif ekstrak etanol bulbus (umbi) bawang Dayak diharapkan mampu menghambat stres oksidatif pada pembedahan laparoskopi. Derivat quinon sebagai akseptor elektron dan derivat flavonoid pendonor hidrogen menurunkan gangguan ekspresi gen APC. Kemampuan modulator stres oksidatif

ekstrak etanol bulbus (umbi) bawang Dayak menghambat perubahan transkripsi gen NFkB, diharapkan menurunkan derajat inflamasi pasca laparoskopi. Ditambah kemampuan senyawa polifenol sebagai modulator inflamasi, diharapkan perubahan biokimia MES tidak terlalu besar. Diharapkan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak mengandung senyawa derivat flavonoid, 3',4,5,7'-tetrahydroxy-3-methoxy luteolin (methlut), dan terbukti mempunyai potensi stabiliser pada sel mast manusia.

3.3 Hipotesis penelitian

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah, kerangka teori dan kerangka penelitian diajukan hipotesis penelitian sebagai berikut:

Ada penurunan jumlah dan degranulasi sel mast, serta skoring adesi intra abdominal kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.

3.3.1 Sub-hipotesis penelitian

1. Ada penurunan kadar TGF- β , IL-10 dan rasio TGF- β / IL-10 cairan peritoneal pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.
2. Ada penurunan kadar Total Oxidant Status (TOS), Total Antioxidant Capacity (TAC) cairan peritoneal, Oksidatif Stres Indek (OSI) dan kadar MDA jaringan peritoneum pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.
3. Ada penurunan jumlah sel mast dan persentase degranulasi sel mast, kadar *histamine*, *tryptase* dan *chymase* cairan peritoneal pada

kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.

4. Ada penurunan ekspresi *zone-occludin 1* (ZO-1) jaringan peritoneal pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.

5. Ada penurunan ketebalan matrik ekstra seluler (MES) jaringan peritoneal pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.

6. Ada penurunan skoring adesi intra-abdominal dan perubahan mikroskopis pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.

BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis desain penelitian

Merupakan penelitian eksperimental dengan *randomised post test only control group design*.

4.2 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan di, Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Ulin/Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin bulan Agustus 2018 – Mei 2019.

4.3 Sampel penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur *Sprague Dawley* dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Kriteria inklusi: umur 20-25 minggu, berat 200 - 250 gram, sehat dan sesuai kebutuhan (Sengupta, 2013). Kriteria eksklusi: mati selama penelitian (putus uji) dan diganti dengan tikus yang memenuhi kriteria inklusi.

4.4 Penentuan besar sampel penelitian.

Besaran sampel penelitian penelitian eksperimental dihitung berdasarkan rumus Federer sebagai berikut:

$$\{(t-1).(r-1)\} \geq 15$$

$$\{(4-1).(r-1)\} \geq 15$$

$$r-1 \geq 5 ; r \geq 4$$

konversi risiko drop out: $f = 20\%$

t : jumlah perlakuan/kelompok subyek r : replikasi/jumlah sampel per kelompok

4.5 Randomisasi

Subyek atau unit eksperimen dibagi dalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, secara acak sederhana (*simple random*). Menggunakan kode penomoran dan dilakukan undian.

4.6 Variabel penelitian

4.6.1 Variabel bebas

Tekanan insuflasi gas CO₂

Kadar ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak

4.6.2 Variable tergantung

Kadar sitokin TGF- β , IL-10 dan rasio TGF- β /IL-10 cairan peritoneal.

Kadar TOS, TAC, OSI cairan peritoneal, dan kadar MDA jaringan peritoneal.

Jumlah dan persentase degranulasi sel mast, pada jaringan peritoneum, mesenterium dan omentum.

Kadar *histamine*, *tryptase* dan *chymase* cairan peritoneal.

Derajat luruhnya sel mesotel, dengan menghitung ekspresi ZO-1 (*Zona Occludin-1*) jaringan peritoneal.

Derajat perubahan ketebalan matrik ekstra seluler (MES) jaringan peritoneal.

Skoring adesi intra abdominal secara makroskopis dan perubahan mikroskopis jaringan peritoneal: sel mesotel, sel PMN, sel fibroblas, vaskuler dan ketebalan glikokalik.

4.7 Definisi operasional.

4.7.1 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dari laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, merupakan hewan coba tikus galur *Sprague Dawley* dewasa (3 bulan) dengan berat badan 200 – 250 gram, dipilih kelamin jantan untuk menghindari fase estrus (Sengupta, 2013).

Sebelum mendapat perlakuan, tikus dilakukan aklimatisasi selama 2 minggu, memberikan kondisi fisik dan psikologik yang sama, agar tikus beradaptasi. Selama proses ini, tikus diberi pakan dan minum air mineral yang sama. Pada setiap pembedahan, hewan coba dilakukan anestesi menggunakan ketamin 50mg/kgBB intramuskular pada paha. Pada terminasi, tikus dimasukkan kedalam wadah tertutup berisi kapas yang dibasahi larutan eter dan dilakukan dislokasi leher. Tindakan nekropsi dilakukan setelah denyut jantung hilang dan tikus tidak bernafas.

4.7.2 Laparoskopi merupakan prosedur pembedahan invasif minimal menggunakan kamera dan instrumen bedah yang dimasukkan melalui insisi kecil. (Aldana *et al*, 2003). Insuflasi adalah tindakan memasukkan gas CO₂ ke dalam rongga peritoneal tikus dengan tekanan tertentu dan waktu tertentu. (Baysal *et al*, 2009., Hendrickson, 2012). Tekanan yang diberikan adalah 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12mmHg. Tekanan tersebut merupakan tekanan yang lazim digunakan pada lapaorskopi, dan merupakan tekanan rendah, sedang dan tinggi, dan tekanan yang disesuaikan/konversi pada tikus (Avital *et al*, 2008., Papparella *et al*, 2013). Area pembedahan di kulit abdomen dilakukan pencukuran dan desinfeksi menggunakan larutan betadin dan

alkohol. Kelompok tikus yang diinsuflasi akan dianestesi dengan menggunakan ketamine intra muskuler di paha dengan dosis 50 mg/kg berat badan. Tikus diletakkan di tempat operasi dan diberi alas. Insuflasi dilakukan dengan memasukkan gas CO₂ melalui kanula (Surflo IV catheter 18 G), diinsersi pada linea mediana abdomen tikus. Gas CO₂ dialirkan dari insuflator laparoskopik otomatis (Gimmi CO₂-Insufflator) dan diatur sesuai kebutuhan tiap kelompok (Sammour, 2011).

Pasca laparoscopi adalah masa 2 jam setelah pembedahan untuk memonitor komplikasi pasca laparoscopi. Dilakukan evaluasi kesadaran, tanda vital, sampai dengan kembali ke kondisi normal.

4.7.3 Gas karbon dioksida (CO₂) digunakan sebagai gas insuflator, merupakan gas CO₂ standar dengan suhu dingin bertekanan tinggi dan kelembaban rendah (kering). (Baysal *et al.*, 2009., Sammour *et al.*, 2009). Gas CO₂ berasal dari PT Aneka Gas Samator Malang.

4.7.4 Mediator inflamasi meliputi, TGF- β , dan IL-10. TGF- β merupakan sitokin dan *growth factor* pemicu fibrotik, dan IL-10 merupakan sitokin penanda anti-fibrosis. Sampel adalah cairan peritoneal dan diukur menggunakan metode *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) (Cloud Clone ELISA Kit for Interleukin 10 (IL-10) for *Rattus norvegicus* (Rat) SEA056Ra dan Cloud Clone ELISA Kit for Transforming Growth Factor (TGF- β 1) species *Rattus norvegicus* (Rat) SEA124Ra). Hasil yang diperoleh dihitung dalam satuan ng/ml, dan dianalisis rasio TGF- β /IL-10 sebagai indeks inflamasi.

4.7.5 Pengukuran radikal bebas oksigen sebaiknya dilakukan secara kumulatif. Semua komponen SOR dapat diukur dengan Hidrogen peroksida/*Total Oxidant Status* (TOS), merupakan metode mudah dan praktis (Erel, 2005, Wei *et al.*, 2010). Pengukuran TOS cairan peritoneal dilakukan dengan metode kolorimetri menggunakan kit komersial Biovision *Hydrogen Peroxide Colorimetric/Fluorometric Assay Kit* K265-200. Absorben sampel dibaca dengan tehnik spektrofotometer pada panjang gelombang 570 nm sebagai sampel blanko. Hasil pengukuran diaplikasikan pada kurva standar untuk menilai konsentrasi hidrogen peroksida dalam satuan **nmol**. *Total Antioxidant Capacity* (TAC) diukur menggunakan sampel cairan peritoneal dengan pengenceran dengan metode kolorimetri menggunakan kit komersial Biovision *Total Antioxidant Capacity Colorimetric Assay Kit* K265200. Absorben diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 570 nm. Hasil pengukuran diplot pada kurva standar untuk menghitung konsentrasi trolox, dan dinyatakan dalam nmol/ul atau Trolox equivalent. Dalam keadaan normal, pembentukan SOR akan diregulasi oleh keseimbangan oksidan dan modulator stres oksidatif dalam tubuh. TOS adalah indikator status oksidasi dalam tubuh, dan TAC adalah indikator kemampuan kompensasi tubuh dalam mengatasi stres oksidatif. Sedangkan parameter keseimbangan fisiologis oksidatif dinyatakan oleh rasio antara TOS:TAC. Rasio TOS:TAC dikenal sebagai Oxidative Stress Index (OSI) (Yazici *et al.*, 2014). OSI merupakan indikator stress oksidatif yang sebenarnya (Baltacioglu *et al.*, 2014). OSI dihitung sebagai berikut :

$OSI = \frac{TOS, \mu\text{mol/L}}{TAC, \text{mmol Trolox Equiv/L}} \times 100$

Indikator lipid peroksidasi digunakan kadar MDA jaringan peritoneal. MDA merupakan indikator utama dan terbaik yang paling sering digunakan pada penelitian (Wei *et al*, 2010., Kiran *et al*, 2016). Pemeriksaan MDA jaringan menggunakan jaringan peritoneal segar 10mg, dicuci dengan PBS dingin.

Pemeriksaan menggunakan metode *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dengan kit komersial Cloud-Clone Corp. ELISA Kit for Malondialdehyde (MDA) for pan-species CEA597Ge. Hasil dibaca dengan absorbansi 450nm dan dikalkulasi menggunakan kurva standar menghasilkan konsentrasi MDA dalam ng/mL.

4.7.6 Keluarnya granulo-granul akibat kerusakan sel mast disebut degranulasi sel mast. Granul metakromatik teridentifikasi berwarna ungu, pada pewarnaan *toluidine blue*. Sel mast yang intak adalah sel mast yang diam, sel mast yang aktif adalah sel mast mengeluarkan mediator (Gilfillan and Tkaczyk, 2006., Abbas *et al*, 2015).

Pengamatan sel mast dilakukan pada jaringan peritoneum, mesenterium dan omentum. Pengamatan jaringan menggunakan metode *in vivo intra vital* (Kubes *et al*, 1993, Ibrahim *et al*, 2006). Pengukuran degranulasi sel mast dilakukan pada jaringan peritoneum, mesenterium dan omentum.

Peningkatan secara signifikan dijumpai pada hari ke 7 pasca pembedahan abdominal (Hermanowics *et al*, 2010). Setelah hewan coba dilakukan terminasi, dilakukan insisi midline abdomen sampai dengan bagian paru.

Dilakukan pengambilan jaringan peritoneum, mesenterium dan omentum

yang memiliki pembuluh darah. Jaringan dibersihkan dengan larutan fisiologis hingga bebas dari bercak darah dan mucus. Jaringan direntangkan pada gelas preparat, dan dikeringan/diinkubasi pada suhu 70⁰ C selama 3 menit. Selanjutnya jaringan ditetesi dengan toluidin blue selama 5 menit, dibilas dengan air mengalir dan dikering seperti tehnik diatas (Kubes *et al*, 1983, Ibrahim *et al*, 2008). Segera dilakukan pengamatan dengan mikroskop dan pengambilan gambar. Sel mast dihitung menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100 kali dalam area 300 X 300 µm oleh 3 orang pengamat (dalam supervisi ahli patologi anatomi) pada masing-masing preparat dan diambil rerata. Dilakukan penghitungan sel mast yang intak dan sel mast terdegranulasi dan dihitung rerata pada 10 lapangan pandang. Persentase sel mast terdegranulasi dihitung dengan cara:

$$\% \text{ degranulasi} = \frac{\text{Jumlah sel mast terdegranulasi}}{\text{Jumlah sel mast terdegranulasi} + \text{jumlah sel mast intak}} \times 100\%$$

Selain histamin, sel mast mengandung *tryptase* dan *chymase* dalam presentasi yang cukup besar. *Tryptase* adalah protease utama pada granula sel mast. Peningkatan *tryptase* merupakan karakteristik dan penanda degranulasi sel mast. *Tyrptase* juga diproduksi oleh basofil, tetapi dalam jumlah yang sangat sedikit, sebanyak 300-700 kali lebih kecil dibanding sel mast (Storjord *and* Nielsen, 2008). *Chymase* mempunyai peranan penting pada kejadian keloid kulit. *Chymase* mengaktifkan fibroblas melalui TGF-β dan memicu produksi ekstraseluler matrik (Dong *et al*, 2015., Wang *et al*, 2015). *Chymase* juga berperan penting pada kejadian fibrosis pada jaringan

paru dan peritoneum (Kosanovic *et al*, 2013., Virupahshaiah *and* Rozindar, 2016)

Pengukuran *histamine*, *tryptase* dan *chymase* cairan peritoneal dilakukan dengan metode Enzyme-linked immunosorbant assay menggunakan kit komersial Cloud-clone corp. ELISA Kit for Chymase 1, Mast Cell (CMA1) for Rat SEG515Ra, Cloud-clone corp. ELISA Kit for Histamine (HA) for pan species CEA927Ge dan Cloud-clone corp. ELISA Kit for Tryptase (TPS) for Rat SEB070Ra. Cairan peritoneal dikumpulkan setelah dilakukan lavase menggunakan 10 ml NaCl 0,9% hangat dan steril. Setelah terpapar selama 30 detik, cairan peritoneal di hisap dengan semprit steril dan dilakukan sentifuse dengan kecepatan 240 RCF selama 10 menit pada suhu 4^o C. Supernatan disimpan pada suhu -80^o C dan ditambah koktail protease inhibitor (P8340; Sigma Aldrich, St Louis, MAU, USA) dengan perbandingan (1:100), untuk mencegah degradasi protein oleh protease endogen. (The *et al*, 2008., Hermanowicz *et al*, 2010).

Stabilisator sel mast adalah bahan yang mampu mencegah terjadinya degranulasi sel mast dan lepasnya mediator sel mast.

4.7.7 Perubahan ketebalan MES mempengaruhi *signaling* lingkungan mikro peritoneal. Perubahan MES meningkatkan inflamasi, peningkatan transformasi fibroblas yang mengarah pada fibrosis. Perubahan ketebalan MES diukur menggunakan metode pewarnaan histokimia *Masson trichrome stain*, berdasarkan produksi dan deposisi kolagen Trichrome Stain (*Connective Tissue Stain*) Skytec TRM-1-IFU). Hasil dilakukan kwantifikasi

dengan *ImageJ software*. Prosedur pewarnaan histokimia *Masson trichrome stain* sebagai berikut:

Deparafinisasi merupakan bagian yang penting dan dilakukan hidrasi dengan air suling. Panaskan Bouin fluid dalam bak air untuk 56-64°C dalam lemari

asam atau daerah yang berventilasi baik. Tempatkan slide dalam cairan

Bouin yang dipanaskan selama 60 menit diikuti dengan periode pendinginan

10 menit. Bilas slide dalam air keran sampai benar-benar bersih. Bilas sekali

lagi dengan air suling. Campur sama banyak Weigert (A) dan Weigert (B)

dan noda slide dengan Weigert Iron Hematoksilin selama 5 menit. Bilas slide

dalam menjalankan air keran selama 2 menit. Gunakan Biebrich Scarlet/Acid

Fuchsin selama 15 menit. Bilas slide dalam air suling. Bedakan di

fosfomolibdat/fosfotungstat Asam Solusi selama 10-15 menit atau sampai

kolagen tidak merah. Tanpa membilas, menerapkan aniline Biru Solusi untuk

meluncur selama 5-10 menit. Bilas slide dalam air suling. Gunakan Acetic

Acid Solution (1%) selama 3-5 menit.

dehidrasi sangat cepat dalam 2 perubahan dari 95% Alkohol, diikuti oleh

Absolute Alkohol. Hapus dengan *Xylene* atau *Xylene Substitutue* dan

ikat/mount dengan resin sintesis.

4.7.8 Sel mesotel luruh adalah lepasnya sel mesotel dari membrana-basalis.

Tryptase dan *chymase* menyebabkan lepasnya ikatan antar sel terutama

pada *tight junction*. *Tryptase* dan *chymase* mengaktifkan reseptor PAR-2,

sehingga terjadi perubahan struktur protein ZO-1. Perubahan protein ZO-1

menyebabkan lepasnya ikatan antar sel. Peningkatan ZO-1 pada ruang inter

seluler/sitoplasma merupakan indikator lepasnya ikatan antar sel. (Pejler *et al*, 2010., Groschwitz *et al*, 2013., Bankova *et al*, 2014). Pemeriksaan ZO-1 menggunakan metode Imunohistokimia jaringan peritoneal dengan anti ZO-1 tight junction antibodi (Santa Cruz ZO-1 antibody Sc-33725).

4.7.9 Adesi intra peritoneal adalah perlengketan organ padat, usus, omentum dan dinding abdomen selama proses penyembuhan (Kavic *and* Kavic, 2002).

Perlengketan merupakan kondisi patologis yang dibentuk oleh jaringan ikat dengan ketebalan bervariasi, lapisan fibrous yang tebal mengandung pembuluh darah dan saraf, atau perlengketan langsung permukaan 2 organ (Basbug *et al*, 2011., Abbas *and* Mohamed, 2012., Coccolini *et al*, 2013., Poehnert *et al*, 2015).

Anti adesi adalah bahan yang diberikan secara oral atau intra peritoneal yang digunakan untuk mencegah adesi intra abdominal. Anti adesi mencegah ikatan antar sel.

Berdasarkan studi kepustakaan, dibuat modifikasi pembuatan skoring adesi yang dapat diterapkan secara akurat. Modifikasi skoring dari beberapa peneliti adalah sebagai berikut :

Skoring Skala adesi secara makroskopis

0	Tidak dijumpai adesi
1	Adesi tipis, mudah dipisahkan, sedikit dan teratur.
2	Adesi tebal terbatas pada satu area, mudah dipisahkan dengan intensitas sedang, dijumpai awal vaskularisasi.
3	Adesi tebal, luas, tidak bisa dipisahkan secara tumpul, dipisahkan secara tajam, vaskularisasi tebal.
4	Adesi tebal dan luas, melibatkan dinding anterior dan posterior abdomen, Padat dan dipisahkan secara tajam, vaskularisasi sangat tebal.

Tabel 4.1 **Modifikasi skoring skala adesi** (Abbas *and* Mohamed, 2012., Altinel *et al*, 2014., Sahbaz *et al*, 2015)

Modifikasi skoring yang dibuat masih sulit diterapkan secara klinis. Peneliti mencoba menyusun skoring yang dapat diterapkan secara klinis dengan mudah.

Skoring Adesi Makroskopis		
Area Adesi	Derajat keparahan Adesi	Perdarahan saat deseksi
0 : tidak dijumpai adesi	0 : tidak dijumpai adesi	0 : tidak dijumpai adesi
1 : < 25% area adesi	1 : tidak ada deseksi tajam, mudah dipisahkan secara tumpul,	1 : tidak berdarah saat deseksi
2 : 25 – 50% area adesi	2 : deseksi tajam < 50%	2 : darah berhenti spontan saat deseksi
3 : > 50% area adesi	3 : deseksi tajam > 50%	3 : darah tidak berhenti spontan saat deseksi

Tabel 4.2 Skoring skala adesi metode UB-ULM

4.7.10 Ekstrak bulbus (umbi) Bawang Dayak

Ekstrak etanol bulbus (umbi) bawang Dayak dibuat dari simplisia bulbus (umbi) bawang Dayak. Sampel bulbus (umbi) bawang Dayak diambil dari kebun di Kabupaten Pulang Pisau. Bulbus (umbi) dipanen saat berusia 12 minggu, dan dilakukan determinasi di UPT Materia Medica Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur Kota Batu, untuk mendapatkan sertifikasi spesies *Eleutherine americana* L merr. Pembuatan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak dilakukan dengan cara maserasi di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang. Penentuan senyawa aktif ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang menggunakan teknik *liquid chromatography*.

Bulbus (umbi) bawang Dayak dirajang dengan ketebalan 1 mm, kemudian dimasukkan kedalam oven 50⁰ C selama 6 jam. Simplisia di haluskan kemudian ditimbang 500 gr, ditambah dengan pelarut etanol 70 ml hingga pelarut setinggi 1 cm diatas permukaan sampel. Ekstraksi dilakukan 3X24 jam dan penggantian pelarut dilakukan tiap hari. Pelarut diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40⁰ C sampai pelarut tidak menguap

lagi. Filtrat diuapkan diatas waterbath sehingga dihasilkan 12 gr ekstrak.

Ekstrak disterilkan dengan metode filtrasi dengan membran berdiameter 0,22- μ m. Kelompok perlakuan diberikan ekstrak etanol bulbus (umbi)

bawang Dayak dengan dosis 30 mg/kg bb; 60 mg/kg bb dan 90 mg/kg bb

melalui sonde lambung (Ernawati and Nurliani, 2012). Perlakuan diberikan

secara oral menggunakan sonde lambung menggunakan pelarut aquadest.

Pemberian ekstrak bawang dayak diberikan setiap hari selama 54 hari sebelum pembedahan.

4.7.11 Hyaluronic Acids/Carboxy Methyl Cellulose (Mediclor)

Mediclor merupakan barrier steril dan tranparan yang mengandung 2 anion

polisakarida yaitu: sodium hyaluronate (HA) dan sodium

carboxymethylcellulose (CMC). Mediclor (HA/CMC) terbukti menurunkan

kejadian adesi, ekstensi dan derajat keparahan adesi pasca laparoskopi.

Pemberian Mediclor diberikan intraperitoneal setelah dilakukan

pneumoperitoneum, dengan dosis 5ml/kgBB (Ha *et al.*, 2016).

4.8 Prosedur pengumpulan dan pengolahan sampel

Dilakukan identifikasi sampel yang terkumpul dengan memberi label.

4.9 Alur penelitian

Penelitian dilakukan dalam 3 tahap, yaitu: penelitian insilico (tahap1), tahap 2 dan tahap 3.

4.10 Persetujuan Komite Etik Penelitian

Penelitian ini akan diusulkan untuk mendapatkan persetujuan etik dari

Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lambung

Mangkurat Banjarmasin. Penelitian secara *in vivo* menggunakan hewan coba *Rattus norvegicus*. Subyek penelitian diperlakukan sebaik mungkin, tidak menyakiti saat perlakuan dan digunakan anastesi.

4.11 Analisis data.

4.11.1 Uji prasyarat parametrik

Untuk membuktikan hipotesis, data yang diperoleh diuji statistik komparasi.

Uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan uji varians *Levene's Test*.

4.11.2 Uji komparasi

Uji Anova adalah uji perbandingan rerata variabel terukur pada kelompok kontrol dan perlakuan. Pada penelitian tahap 2 dan tahap 3 data dianalisis dengan one way ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% dan uji *post hoc* LSD untuk melihat perbedaan antar kelompok bila berdistribusi normal dan data homogeny.

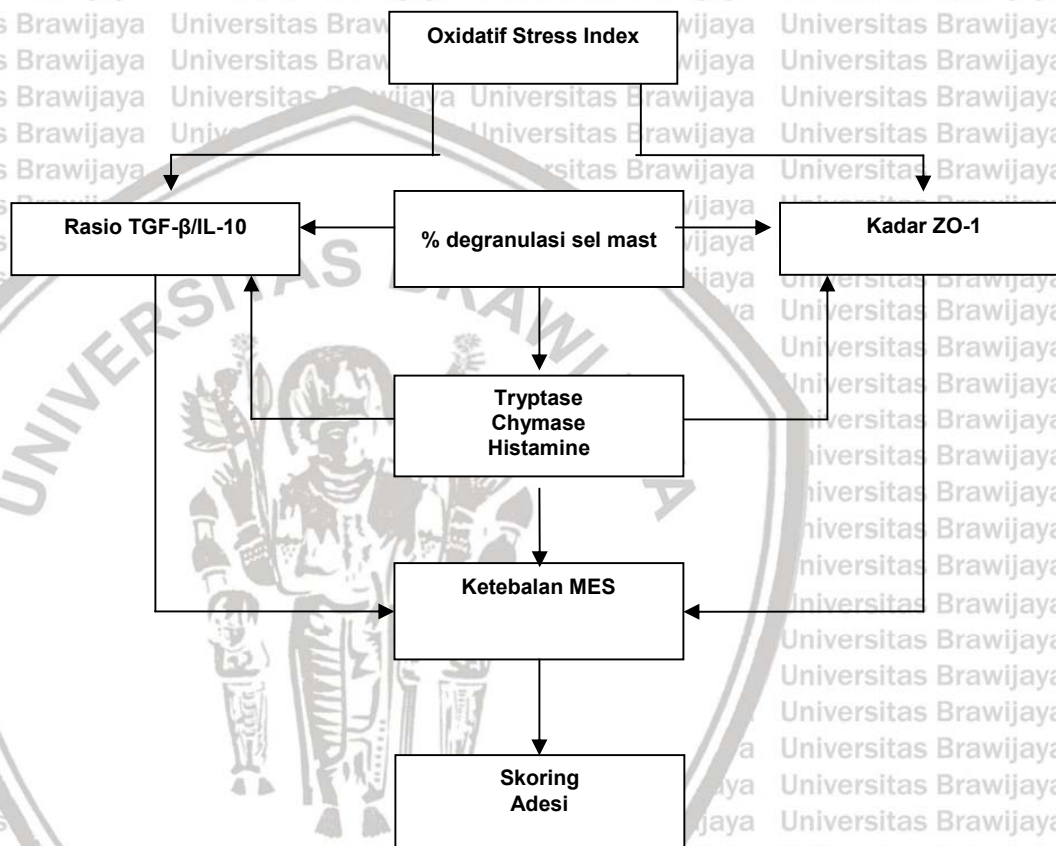
Uji Welch Robust Tests of Equality of Means dengan tingkat kepercayaan 95% dan uji Post Hoc Games-Howell Tests untuk melihat perbedaan antar kelompok bila data berdistribusi normal dan tidak homogeny.

Uji non parametrik Kruskal Wallis dengan tingkat kepercayaan 95% dan uji uji post Hoc Mann Whitney untuk melihat perbedaan antar kelompok bila data berdistribusi tidak normal

4.11.3 Uji analisis jalur (*path analysis*)

Bila hasil analisa penelitian tahap 3 memenuhi persyaratan untuk dilakukan analisis, uji analisis jalur digunakan untuk mengetahui hubungan kausal antar

variabel yang sesuai kerangka konsep. Uji analisis jalur didasarkan adanya korelasi yang signifikan antar variabel terukur, dengan memperhatikan nilai-nilai koefisiennya.



BAB 5 HASIL PENELITIAN

PENELITIAN INSILIKO/TAHAP 1

5.1 Pendahuluan

Bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) banyak digunakan sebagai modulator inflamasi dan penyembuh luka/*bahimang* oleh masyarakat Dayak di Kalimantan (Setyowati, 2010). Berdasarkan analisa fitokimia, bioaktif yang terkandung didalamnya mempunyai kemampuan modulator inflamasi dan modulator stres oksidatif (Han *et al*, 2008., Song *et al*., 2019). Penelitian sebelumnya membuktikan bioaktif bawang Dayak turunan naphthoquinon mempunyai aktivitas modulator inflamasi yang kuat (Babula *et al*, 2009., Pinho *et al*, 2011) dan *scavenging* SOR (Pinto *and* de Castro, 2009). Turunan Flavonoid mempunyai aktivitas modulator stres oksidatif melalui mekanisme donor hidrogen (Grael *et al*, 2010., Sandhar *et al*, 2011). Penelitian sebelumnya membuktikan turunan alkaloid, glikosida dan terpenoid mempunyai aktivitas modulator inflamasi yang poten (Beg *et al*, 2011). Prosedur laparoskopi menyebabkan cedera reperfusi dan pembentukan SOR (Baysal *et al*, 2009., Hendrickson, 2012), sehingga terjadi lepasnya/*detachment* sel mesotel dan area denudasi (Volz *et al*, 1999., Suematsu *et al*, 2001., Neuhaus *and* Watson, 2004). Cedera mesotelium memicu proses inflamasi, bila berlebihan berpotensi terjadi adesi intra-abdominal. Menarik untuk diteliti, apakah ekstrak bawang Dayak berpotensi menurunkan jumlah dan degranulasi sel mast sebagai anti adesi intra abdominal pasca laparoskopi.

Belum diketahui jalur (*pathway*) baru ekstrak bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) sebagai modulator stres oksidatif, pengoptimal fisiologi inflamasi, stabilisator sel mast pada pencegahan adesi intra-abdominal. Diharapkan ditemukan jalur (*pathway*) baru ekstrak bawang Dayak menurunkan jumlah dan degranulasi sel mast dalam pencegah adesi intra-abdominal.

5.2 Perumusan Masalah

5.2.1 Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dirumuskan masalah sebagai berikut:

Apakah secara komputasi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) mampu menurunkan jumlah dan degranulasi sel mast dan serta adesi intra-abdominal pasca laparoskopi?

5.2.2 Sub Masalah

1. Apakah secara komputasi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) mempunyai peranan sebagai modulator inflamasi.
2. Apakah secara komputasi peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) mempunyai peranan sebagai modulator stres oksidatif.
3. Apakah secara komputasi peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) mempunyai peranan sebagai anti adesi, melalui interaksi dengan enzim *tryptase*.

4. Apakah secara komputasi peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) mempunyai peranan sebagai anti adesi, melalui interaksi dengan enzim *chymase*.
5. Apakah secara komputasi peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) mempunyai peranan sebagai anti adesi, melalui interaksi dengan enzim *histamine relase inhibitor*.
6. Apakah secara komputasi peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) mempunyai peranan sebagai stabilisator sel mast melalui mekanisme *calcium channel (voltage-sensitive) inhibitor* dan *activator*.

5.3 Tujuan Penelitian Insiliko

Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi secara komputasi peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) dalam menurunkan jumlah sel dan degranulasi sel mast serta adesi intra-abdominal pasca laparoskopi.

5.3.1 Tujuan Umum

Mempelajari dan memprediksi secara komputasi, pengaruh ekstrak umbi bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) dalam menurunkan jumlah dan degranulasi sel mast, serta adesi intra-abdominal pasca laparoskopi.

5.3.2 Tujuan Khusus

1. Memperoleh nilai prediksi secara komputasi peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) sebagai modulator inflamasi.

2. Memperoleh nilai prediksi secara komputasi peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) sebagai modulator stres oksidatif.
3. Memperoleh nilai prediksi secara komputasi peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) sebagai anti adesi, melalui interaksi dengan enzim *tryptase*.
4. Memperoleh nilai prediksi secara komputasi peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) sebagai anti adesi, melalui interaksi dengan enzim *chymase*.
5. Memperoleh nilai prediksi secara komputasi peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) sebagai anti adesi, melalui interaksi dengan enzim *histamine release inhibitor*.
6. Memperoleh nilai prediksi secara komputasi peranan ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) sebagai stabilisator sel mast, melalui mekanisme *calcium channel (voltage-sensitive)*.

5.4 Metodologi penelitian

5.4.1 Interaksi senyawa aktif bawang Dayak terhadap potensi modulator inflamasi, potensi modulator stres oksidatif, enzim *Tryptase*, *Chymase*, *Histamine release inhibitor* dan stabilisator sel mast melalui mekanisme *Calcium (Ca²⁺) Channel*.

Identifikasi senyawa aktif bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr). Penelitian dilakukan dengan pencarian sekuen asam amino dan struktur komponen aktif bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr). Struktur SMILES

dan 3D komponen senyawa aktif *Eleutherine americana* L. Merr diperoleh dari *PubChem Open Chemistry Database*, selanjutnya diunduh dan dianalisa. Didapatkan 14 senyawa aktif, yaitu: triterpenoid, naphthol, anthraquinone, eleuthoside B, eleutheroside A, eleutherol, isoeleutherine, elecanacin, eleutherine, dihydroeleutherinol, eleutherinone/eleutherinol, hongconin, naphthoquinone dan isoeleutherol.

Prediksi Aktivitas biologi. Prediksi aktivitas biologi dilakukan menggunakan PASS SERVER <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>, berdasarkan pendekatan SAR (*structure activity relationship*). Apabila senyawa memiliki struktur dan gugus aktif yang sama maka diprediksikan memiliki aktivitas yang sama. Skoring PASS SERVER menggunakan konstanta (Pa), yaitu *probability activity*, dengan batas ambang 0,7. Apabila $Pa > 0,7$ maka hasil prediksi secara komputasi tidak akan jauh berbeda apabila diuji secara laboratorium (Goel *et al*, 2011). Aktivitas biologi yang dianalisis yaitu: modulator inflamasi, modulator stres oksidatif, *tryptase inhibitor*, *chymase inhibitor*, *histamine release inhibitor*, *Calcium channel (voltage-sensitive) inhibitor*, dan *calcium channel (voltage-sensitive) activator*. Sehingga potensi senyawa aktif bisa diprediksikan mekanisme kerjanya.

Prediksi Protein Target. Senyawa aktif yang paling berpotensi kemudian dianalisis protein targetnya menggunakan HIT-PICK(<http://mips.helmholtz-muenchen.de/hitpick/>). *Targeted-focused library* pendekatan yang digunakan untuk mencari target potensi protein dari suatu kumpulan senyawa baru. Prinsipnya mencari kesamaan gugus fungsi dan struktur dari senyawa baru dengan senyawa yang sudah diketahui protein targetnya (Malo *et al*, 2006). Protein target tersebut

dianalisis mekanisme pathway kerjanya. Sehingga dapat dipelajari proses biologi yang terganggu bila obat berikatan dengan protein target.

Molecular Docking digunakan untuk mempelajari mekanisme inhibisi/aktivasi suatu senyawa terhadap protein target tertentu. Senyawa bahan alam yang paling potensial dan protein target yang paling besar kemungkinan berinteraksi, dipelajari secara detail menggunakan program *Molecular Docking PyRx 0.8*. Proses *docking* menggunakan autodock-vina dan dilakukan secara spesifik pada sisi aktif protein target. *Molecular docking* dapat memprediksikan afinitas pengikatan suatu senyawa terhadap protein target tertentu (Trott *et al*, 2010). Semakin tinggi afinitas maka potensi obat akan semakin baik.

Prediksi pathway interaksi protein. Digunakan yaitu StringDB (<http://string-db.org>) untuk menganalisis protein yang menjadi target dianalisis interaksinya dengan protein yang terlibat dalam suatu *pathway* tertentu. String database digunakan untuk mempelajari interaksi *protein-protein functional menus*. String memfasilitasi analisis proses biologi yang melibatkan protein (Szkarczyk *et al*, 2015). Metode penelitian bertujuan, untuk mengusulkan pathway baru yang diinduksi.

Interaksi molekuler dan visualisasi. Komplek protein dan senyawa aktif dianalisis lebih lanjut terkait asam amino yang berinteraksi menggunakan program LIGPLOT+ dan proses visualisasi menggunakan PYMOL (<http://pymol.org>) untuk menyajikan data (Laskowski, 2011).

5.5 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Biokomputasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam jurusan Biologi Universitas Brawijaya Malang.

5.6 Bahan dan Alat

Proses pengambilan data dilakukan komputerisasi menggunakan Lenovo ideapad S210 touch, microsoft window 10 home single language, intel® core™ i3-3217U, 1.80 GHz, 64 bit operation system, 488 GB HDD dan 4.00 GB. PASS SERVER, HIT-PICK, Molecular Docking PyRx 0.8, Autodock Vina, Sting DB, LIGPLOT+ dan PYMOL.

5.7 Manfaat penelitian

Diperoleh prediksi bahan aktif bawang Dayak *Eleutherine americana* L. merr sebagai anti adesi intra abdominal pasca laparoskopi melalui jalur modulator stres oksidatif, modulator inflamasi dan penstabilan sel mast. Nilai prediksi penelitian insiliko dijadi pedoman pada penelitian tahap berikutnya.

5.8 Hipotesis penelitian

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah, kerangka teori dan kerangka penelitian diajukan hipotesis penelitian sebagai berikut:

Ada peningkatan nilai prediksi kekuatan ikatan bioaktif bawang Dayak dengan protein target pada sel mast dan protein target yang berhubungan dengan skoring adesi intra abdominal.

5.8.1 Sub-hipotesis penelitian

1. Ada peningkatan nilai prediksi kadar kekuatan ikatan bioaktif bawang Dayak dengan protein target inflamasi TGF- β dan NFkB
2. Ada peningkatan nilai prediksi kadar kekuatan ikatan bioaktif bawang Dayak dengan protein target *xanthine oxidase*.

3. Ada peningkatan nilai prediksi kadar kekuatan ikatan bioaktif bawang Dayak dengan protein target *tryptase*.
4. Ada peningkatan nilai prediksi kadar kekuatan ikatan bioaktif bawang Dayak dengan protein target *chymase*.
5. Ada peningkatan nilai prediksi kadar kekuatan ikatan bioaktif bawang Dayak dengan protein target *histamine*.
6. Ada peningkatan nilai prediksi kadar kekuatan ikatan bioaktif bawang Dayak dengan protein target Ca^{2+} channel.

5.9 Hasil, Analisis dan Pembahasan

5.9.1a. Determinasi spesies *Eleutherine Americana L Merr.*

Determinasi spesies bawang Dayak penelitian ini adalah spesies *Eleutherine Americana L Merr.*

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Labor No 87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/050/102.7/2017
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Bawang Dayak**

Memohon permohonan saudara.

Nama : dr. HERY POERWOSANTA, SpB, SpBA(K), Fics
NIM : 1370701099111962
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman bawang dayak

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Liliales
Famili	: Liliaceae
Genus	: <i>Eleutherine</i>
Spesies	: <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr
Nama Umum	: Bawang sabrang, bawang tiwai, bawang dayak, bawang bertian, bawang kapal, bawang kambo, bawang merah hutan, brambang sabrang.

Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-12b-13a-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59b-62b-72b-73a-75a-76b-333b-334b-355a-336e-337b-338b-341b-342b-343b-344a-1a-2a-2b-4a-5a-6a-1

2. Morfologi : Habitus: Herba, semaiung, tinggi 30-40 cm. Batang: Semu, umbi bertapi bulat telur, merah. Daun: Tangkai, bentuk pita, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, hijau. Bunga: Majemuk, tumbuh di ujung batang, panjang tangkai ±40 cm, bentuk silindris, kelopak terdiri dari dua daun kelopak, hijau kekuningan, mahkota terdiri dari empat daun mahkota, lepas, panjang ±5 mm, putih, benang sari empat kepala sari kuning, putih bentuk jarum, panjang ±4 mm, putih kekuningan. Akar: Serabut, coklat muda.

3. Nama Sempit : *Eleutherine Bulbus/ Umbi Bawang Sabrang*

4. Kandungan : *Eleutherine americana* mengandung flavonoida, alkaloid, saponin, iriterpenoid, steroid, glikosida, tannin, dan polifenol.

5. Penggunaan : Perawatan

6. Daftar Pustaka :
 • Anonim. http://www.warstek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/nasman_elutidepen/112.pdf, diakses tanggal 23 Oktober 2010.
 • Backer, C.A. & Balhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
 • Backer, C.A. & Balhuizen Van Den Brink, R.C. 1968. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol. III. N.V.P. Noordhoff, Groningen.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batik 02 Februari 2017
Dinas Kesehatan
UPT Materia Medica Batu
Dr. HERY POERWOSANTA, SpB, SpBA(K), Fics
NIP. 196201099111962

Gambar 5.1 Determinasi bawang Dayak UPT Materia Medica.

5.9.1b Hasil Identifikasi senyawa aktif bawang Dayak.

Berdasarkan PubChem Open Chemistry Database diperoleh data 14 bio-aktif bawang Dayak. Diunduh dan dianalisa struktur SMILE, 3D komponen senyawanya, Human Intestinal Absorption (HIA+) dan dosis letal. Didapatkan data pada tabel 5.1 sebagai berikut:

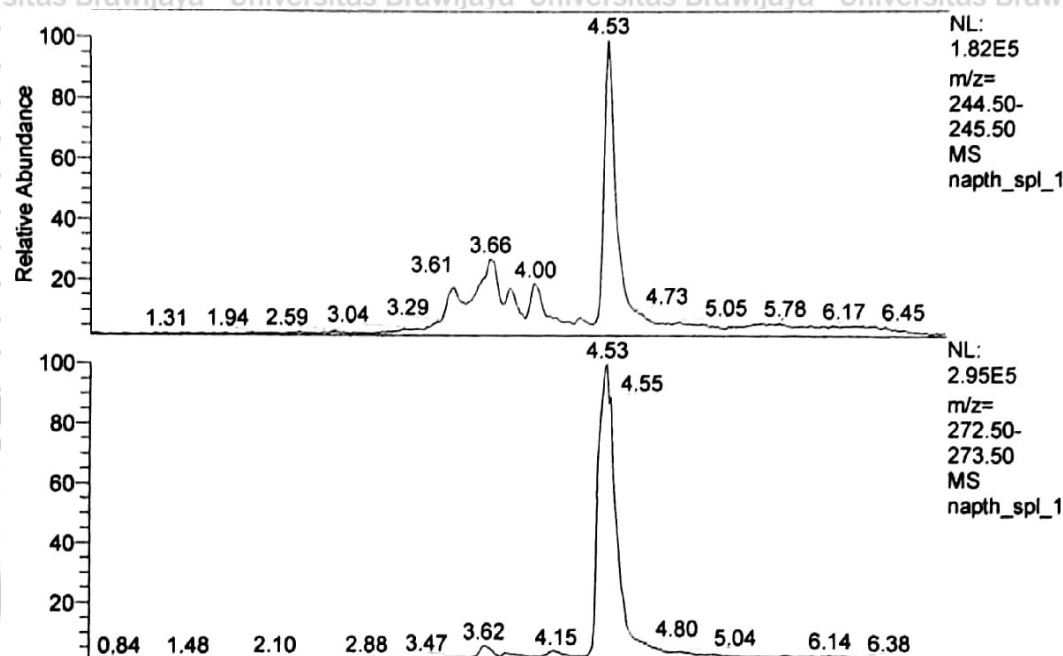
Tabel 5.1 Senyawa aktif, Pubchem CID dan Canonical SMILES

No	Nama Senyawa	CID	Canonical SMILES	HIA+	LD50 (Mol/kg)
1.	triterpenoid	451674	<chem>CC1(CCC2(CCC3(C(=CCC4C3(CCC5C4(CCC(C5(C)COS(=O)(=O)O)O)C)C)C2C1)C)C(=O)O)C</chem>	0.9840	2.4620
2.	naphthol	8663	<chem>C1=CC=C2C=C(C(=CC2=C1)O</chem>	1.0000	1.8556
3.	anthraquinone	6780	<chem>C1=CC=C2C(=C1)C(=O)C3=CC=CC=C3C2=O</chem>	1.0000	2.7726
4.	eleuthoside B	95224384	<chem>CC1C2=C(C(=C3C=CC=C(C3=C2OC4C(C(C(C(O4)COC5C(C(C(C(O5)CO)O)O)O)O)O)C)C(=O)O1</chem>	0.5342	2.5761
5.	eleutheroside A	101855622	<chem>CC1=CC(=O)C2=C(C(=C3C=C(C(=C(C3=C2O1)O)OC4C(C(C(C(O4)CO)O)O)O)C</chem>	0.6505	2.3027
6.	eleutherol	120697	<chem>CC1C2=C(C(=C3C=CC=C(C3=C2O)OC)C(=O)O1</chem>	0.9838	3.0288
7.	isoeleutherine	10445924	<chem>CC1CC2=C(C(O1)C)C(=O)C3=C(C2=O)C=CC=C3OC</chem>	0.9920	2.8741
8.	elecanacin	102091822	<chem>CC1CC2C(C(C2O1)C(=O)C4=C(C3=O)C=CC=C4OC</chem>	0.9963	2.6281
9.	eleutherine	10166	<chem>CC1CC2=C(C(O1)C)C(=O)C3=C(C2=O)C=CC=C3OC</chem>	0.9920	2.8741
10.	dihydroeleutherinol	102473740	<chem>CC1CC(=O)C2=C(C(=C3C=C(C(=C(C3=C2O1)O)O)C</chem>	0.9637	2.3861
11.	Eleutherinol/ eleutherinone	15559106	<chem>CC1=CC(=O)C2=C(C(=C3C=C(C(=C(C3=C2O1)O)O)C</chem>	0.9722	2.1674
12.	hongconin	110108147	<chem>CC1C2=C(C3=C(C(=CC=C3OC)C(=C2C(=O)C(O1)C)O)O</chem>	0.9524	2.9636
13.	naphthoquinone	8530	<chem>C1=CC=C2C(=O)C=CC(=O)C2=C1</chem>	1.0000	2.8888
14.	isoeleutherol	10800314	<chem>CC1C2=C(C(=C3C=CC=C(C3=C2O)OC)C(=O)O1</chem>	0.9838	3.0288

5.9.1c Hasil analisa senyawa aktif bawang Dayak.

Analisis senyawa aktif dikerjakan dengan metode LCMS (Liquid Chromatography Mass Spectrometry). Prinsip dasar metode LCMS: ekstrak encer diionisasi sehingga terseparasi pada *fase static* dan *fase mobile*. Senyawa aktif terekam sesuai masing-masing *mass to charge ratio* (m/z) dan retensi waktunya (rt), sehingga dapat dibandingkan dengan referensi (Ardrey, 2003). Pada penelitian ini, hasil analisis LCMS dari ekstrak kasar bawang Dayak didapatkan 3 senyawa yang

dominan yakni isoeleutherol (m/z 244.50; rt 4.00), eleutherol (m/z 245.00; rt 4.53) dan eleutherine (m/z 272.00; rt 4.53) (Gambar 5.2).

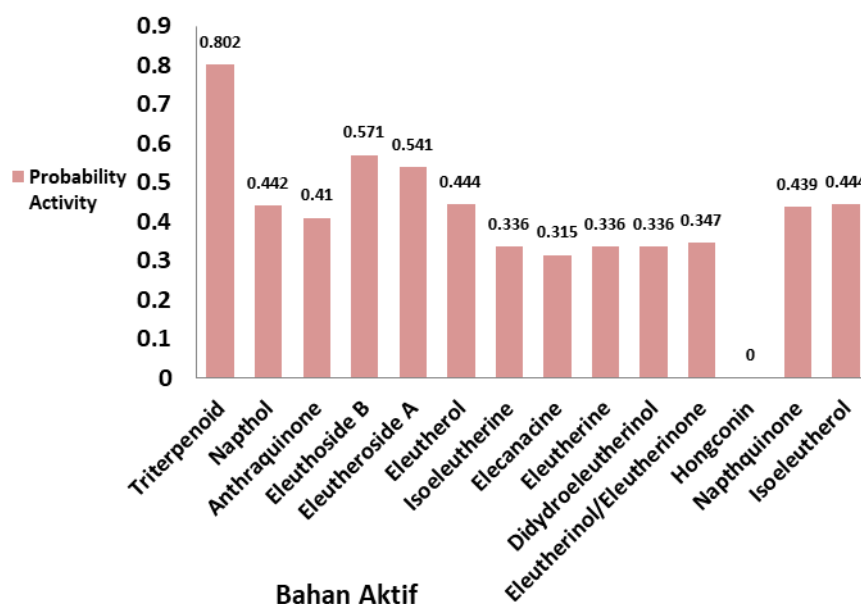


Gambar 5.2 Analisis LCMS Ekstrak Etanol 96% Umbi Bawang Dayak (atas) senyawa isoeleutherol pada rt 4.00 dan eleutherol pada rt 4.53; (bawah) senyawa eleutherine pada rt 4.53

Hasil ekstraksi sesuai dengan penelitian Setiawan dan Febriyanti yang menyatakan bahwa pelarut etanol 96% dapat mengekstrak senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin, dan triterpenoid paling baik dibanding pelarut lain (Setiawan and Febrianti, 2017). Penelitian sebelumnya menunjukkan hasil analisis LCMS ekstrak etanol 96% bawang Dayak menunjukkan senyawa dengan berat molekul yang sama, 272, dan dari hasil pengukuran spectrum NMR isolat merupakan turunan senyawa kromen yaitu 9-methoxy-1,3-dimethyl-3,4-dihydro-1H-benzo [g] isochromene-5,10-dione, C₁₄H₁₆O₄ (eleutherine) (Suroto, 2018).

5.9.2a Hasil prediksi aktivitas biologi bawang Dayak sebagai modulator inflamasi

Prediksi aktivitas biologi sebagai modulator inflamasi dilakukan menggunakan PASS SERVER <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>, berdasarkan pendekatan SAR (*structure activity relationship*) didapatkan Triterpenoid (0.802), eleuthoside B (0.571) dan eleutherol (0.541) mempunyai aktivitas biologi yang terbaik sebagai modulator inflamasi (gambar 5.3).

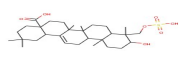
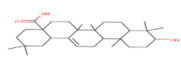
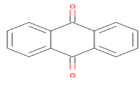
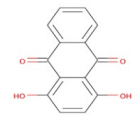
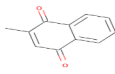


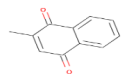
Gambar 5.3 Hasil prediksi aktivitas bawang Dayak sebagai modulator inflamasi menggunakan PASS SERVER. Triterpenoid (0.802), Eleuthoside B (0.571) dan Eleutherol (0.541) mempunyai kemampuan sebagai modulator inflamasi.

Untuk menilai prediksi protein target digunakan *HITPICK Target Prediction*. Didapatkan 2 target yang paling potensial yaitu NR1H4 dan ESR2. Triterpenoid yang merupakan salah satu bio-aktif bawang Dayak, diprediksi menggunakan HITPICK dapat mentarget Protein NR1H4 dengan presisi 94.8 % dan similaritas dengan senyawa yang terbukti mentarget protein tersebut sebesar 76%

NR1H4 (*nuclear receptor subfamily 1, group H, member 4*) merupakan protein yang berperan untuk regulasi inflamasi. NR1H4 terlibat pada penurunan ekspresi sitokin pro-inflamasi dan berperan sebagai modulator inflamasi.

Tabel 5.2 Analisis HITPICK bioaktif bawang Dayak dengan protein target modulator inflamasi. Triterpenoid bekerja pada protein target NR1H4 dan Napthol pada ESR2.

	ID	Target	Precision(%)	Tc similarity
Triterpenoid	query_1.	NR1H4	94.8	0.76
				
	Similar compound: CID000010494			
				
Antraquinone	query_3.	TOP1	77	0.56
				
	Similar compound: CID000006688			
				
naphthoquinone	query_13.	GGCX	77	0.53
				
	Similar compound: CID000004055			
				
naphthoquinone	query_13	VKORC1	54.3	0.53
				
	Similar compound: CID000004055			



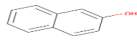
naphthol

query_2

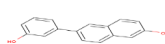
ESR2

53.3

0.48



Similar compound:
CID010192730



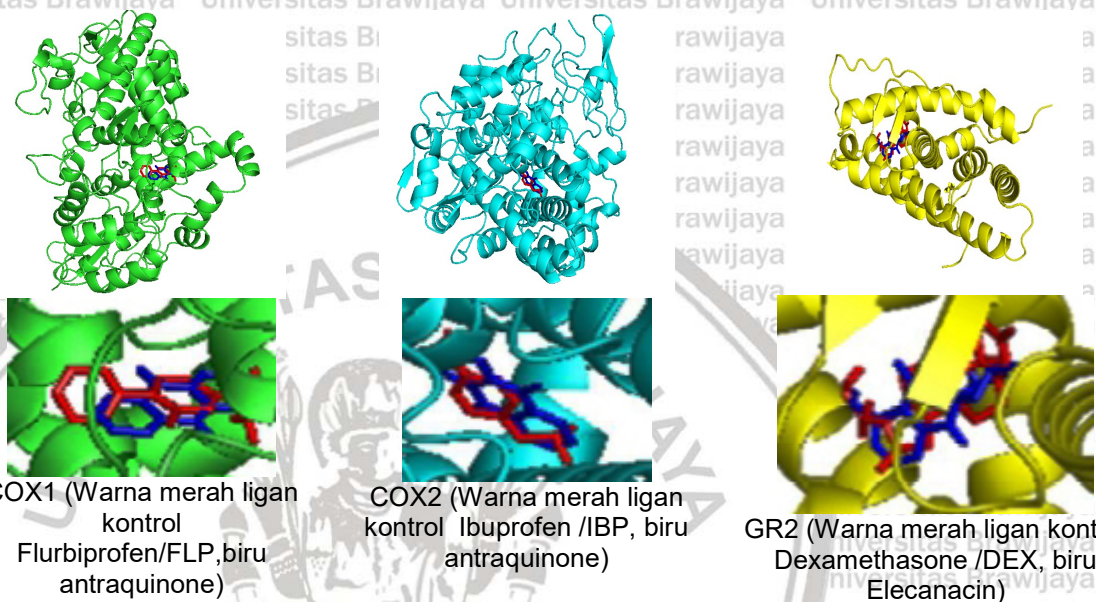
Analisis *docking* menggunakan program Autodock PyrX 9.5 bertujuan mengetahui *binding affinity* yang terjadi antara reseptor dan ligan. Tujuan analisa adalah mengetahui kekuatan ikatan dengan skor tertinggi dari hasil *docking*. Semakin negatif semakin kuat ikatan yang terjadi. Dexametason digunakan sebagai kontrol modulator inflamasi. Empat belas senyawa aktif bawang Dayak dibandingkan dengan sisi aktif kontrol. Elecanacine dan anthraquinone merupakan senyawa yang paling potensial berperan sebagai modulator inflamasi berdasarkan kekuatan ikatan dengan protein targetnya (table 5.3).

Tabel 5.3 Hasil Autodock PyrX 9.5 binding affinity bawang Dayak sebagai modulator inflamasi. Antraquinone mendekati kemampuan Flurbiprofen/flp sebagai anti COX1 dan Ibuprofen/ibp sebagai anti COX2. Elecanacin mendekati kemampuan Dexamethasone/dex.

	Binding Affinity (kkal/mol)	rmsd/ub	rmsd/lb
cox_1_flp_anthraquinone	-8.5	0	0
cox_1_flp_flp	-9.3	0	0
cox2_ibp_anthraquinone	-8.4	0	0
cox2_ibp_ibp	-7.7	0	0
gr_dex_elecanacin	-8.9	0	0
gr_dex_dex	-12.6	0	0

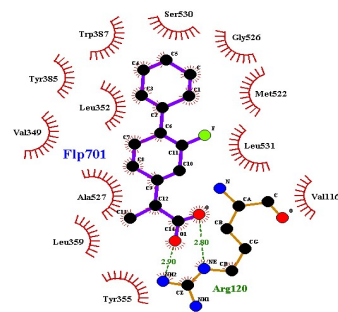
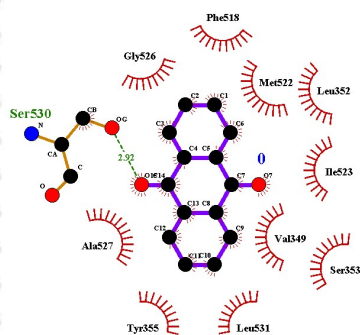
Program Ligplot digunakan untuk melakukan analisis kontribusi asam amino yang berikatan antara reseptor dan ligan. Asam amino yang berinteraksi warna biru

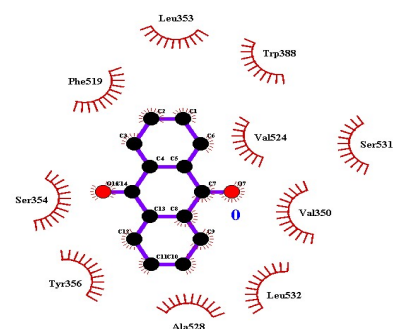
adalah ikatan hydrogen (warna biru) dan ikatan hidrofobik (warna merah). (gambar 5.4)



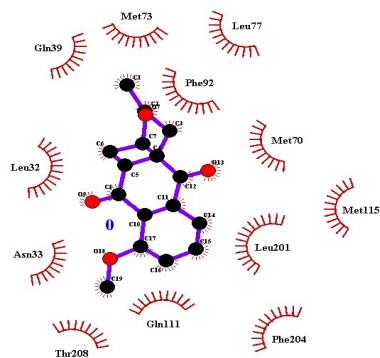
Gambar 5.4 Interaksi asam amino reseptor-ligan

- A. GR2 Warna merah ligan kontrol Dexamethasone /DEX, biru Elecanacin
 B. COX1 Warna merah ligan kontrol Flurbiprofen/FLP, biru antraquinone
 C. COX2 Warna merah ligan kontrol Ibuprofen /IBP, biru antraquinone

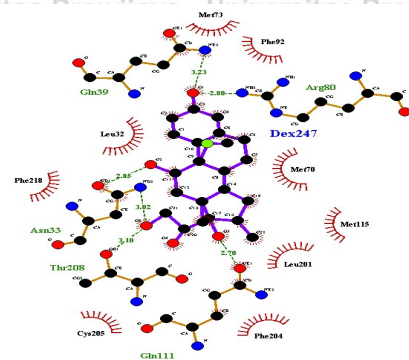




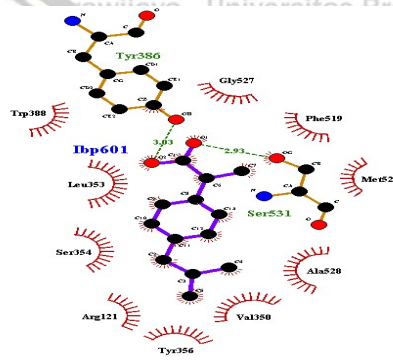
COX-1 antraquinone



GR eleIBP



gr DEX



IBP COX 2

Gambar 5.5

Visualisasi interaksi ligan dan reseptor. Visualisasi interaksi bioaktif bawang Dayak dengan reseptor modulator inflamasi

Hasil analisa dibuktikan adanya ikatan hidrofobik dan hidrogen antara reseptor dan ligan (tabel 5.4)

Tabel 5.4

Reseptor modulator inflamasi, ligan bioaktif bawang Dayak dan ikatan kimia. Ikatan bioaktif bawang Dayak disusun oleh protein dengan ikatan hidrofobik dan hydrogen.

Reseptor	Ligan	Ikatan hidrofobik	Ikatan hidrogen
COX1	FLP	Ser530, Gly526, Met522, Leu531, Val116, Tyr355, Leu356, Val349, Leu352, Tyr385, Trp387	Arg120
	Antraquinone	Ala527, Tyr355, Leu531, Ser353, Val349, Ile523, Met522, Phe518, Leu352	Ser530
COX2	IBP	Trp388, Leu353, Ser354, Arg121, Tyr356, Val350, Ala528, Met523, Phe519, Gly527	Tyr386, Ser531
	Antraquinone	Leu353, Trp388, Val524, Val350,	

GR

DEX

Elecanacin

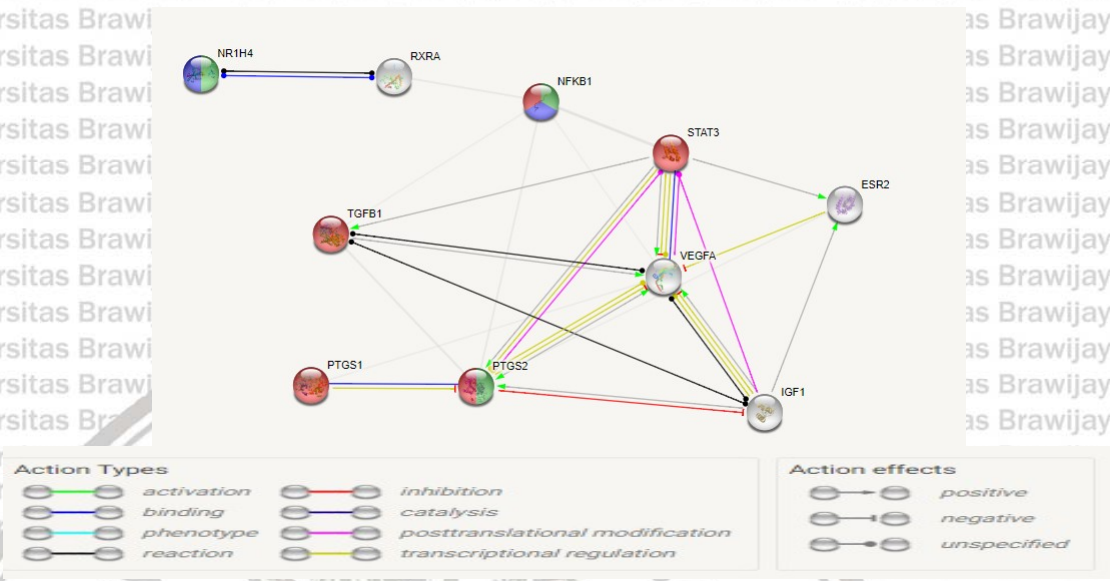
Ser351, Leu352, Ala528, Tyr356,
Ser354, Phe519
Met73, Phe92, Met70, Met115,
Leu201, Phe204, Cys205, Phe218,
Leu32
Met73, Leu77, Phe92, Met70,
Met115, Leu201, Phe204, Gln111,
Thr208, Asn33, Leu32, Gln39

Gln111, Asn33,
Thr208, Gln39,
Arg80

Analisa *STITCH Pathway Prediction* dilakukan untuk menilai pendekatan senyawa – protein antara bio-aktif bawang Dayak dengan TGF- β , ternyata kedua protein tersebut tidak dapat berikatan secara langsung. Perlu dilakukan pendekatan *protein–protein interaction* dengan program STRING (gambar 5.6)

Hasil analisa STRING didapatkan tidak dijumpai interaksi protein target dengan reseptor TGF- β . Aktivitas faktor transkripsi NF κ B, merupakan bagian dari persinyalan RANK-RANKL. Analisis alternatif dilakukan untuk mencari peran senyawa aktif bawang Dayak terhadap jalur persinyalan klasik NF κ B, yang melibatkan aktivitas kompleks I κ B kinase (I κ K) pada proses fosforilasi inhibitor NF κ B (I κ B) yang menyebabkan I κ B terdegradasi melalui proses ubiquitinasi, dan NF κ B selanjutnya dapat bertranslokasi menuju nukleus dan mengaktifkan transkripsi dari gen-gen targetnya (Liu *et al*, 2015)

Tahap awal dilakukan docking antara senyawa aktif bawang Dayak dengan kompleks NF κ B-I κ B, dan didapatkan bahwa senyawa yang paling mudah berinteraksi dengan kompleks NF κ B-I κ B adalah triterpenoid (tabel 5.5)



Gambar 5.6 Analisa STRING bawang Dayak sebagai modulator inflamasi. Triterpenoid mempunyai kemampuan modulator inflamasi yang paling baik berdasarkan metode STRING.

Tabel 5.5 Docking senyawa aktif bawang Dayak terhadap aktivitas faktor transkripsi NFkB. Kemampuan Triterpenoid dan eleutherin berikatan dengan baik pada protein target NFkB-IkB.

Molekul	Binding energy
NFkB, IkB - triterpenoid	-334.62 kJ/mol
NFkB, IkB - eleutherin	-231.16 kJ/mol
NFkB, IkB - elecanacin	-219.92 kJ/mol
NFkB, IkB - eleutherol	-218.21 kJ/mol
NFkB, IkB - isoeleutherin	-217.38 kJ/mol
NFkB, IkB - eleutherinol	-201.37 kJ/mol
NFkB, IkB - anthraquinone	-173.80 kJ/mol
NFkB, IkB - naphthol	-160.28 kJ/mol



Senyawa-senyawa tersebut yaitu: naphthol, anthraquinone, eleutherol, triterpenoid, elecanacin, dan isoeleutherin. Besarnya *binding energy* yang dibutuhkan untuk interaksi dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 *Binding energy* senyawa aktif bawang Dayak terhadap aktivitas faktor transkripsi NFκB-IKK. Napthol, anthraquinone dan eleutherol meningkatkan kemampuan ikatan NFκB-IKK.

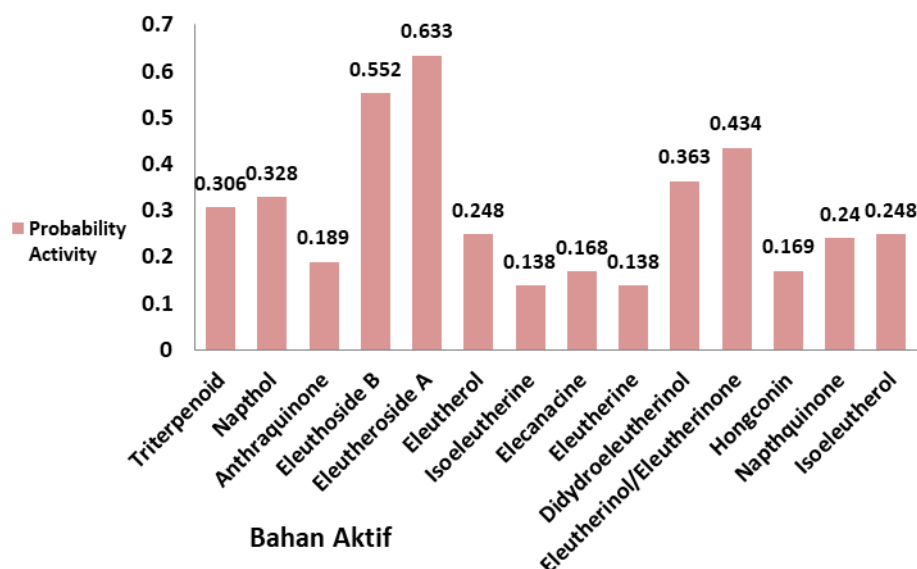
70

Potensi bawang Dayak sebagai modulator inflamasi diprediksi melalui mekanisme aktivasi transkripsi NF κ B. Mendukung penelitian sebelumnya, iso-eleutherine menghambat sitokin inflamasi melalui mekanisme transkripsi NF- κ B (Song *et al.*, 2009). Berbeda dengan penelitian sebelumnya, ekstrak bawang Dayak mampu berikatan dengan TGF- β (Upadhyay *et al.*, 2013).

Pada penelitian ini didapatkan temuan, bahwa ekstrak bawang Dayak yang diteliti mengandung iso-eleutherol, eleutherol dan eleutherine dengan kadar tinggi. Ketiga senyawa aktif tersebut tidak mampu berikatan dengan protein target TGF- β . Potensi eleutherol sebagai modulator inflamasi karena mampu berikatan dengan protein target pada jalur NF κ B. Triterpenoid, eleuthoside B dan eleutheroside A mempunyai potensi modulator inflamasi yang tinggi, tetapi kadarnya rendah dan tidak mampu berikatan dengan protein target TGF- β dan NF κ B.

5.9.2b Hasil prediksi aktivitas biologi sebagai modulator stres oksidatif

Prediksi aktivitas biologi sebagai modulator stres oksidatif, dilakukan menggunakan PASS SERVER <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>, berdasarkan pendekatan SAR (*Structure Activity Relationship*) didapatkan Eleutheroside A (0.633), eleuthoside B (0.552) dan eleutherinol/eleutherinone (0.434) mempunyai aktivitas biologi yang terbaik sebagai modulator stres oksidatif (gambar 5.8).



Gambar 5.8

Hasil prediksi aktivitas biologi bawang Dayak sebagai modulator stres oksidatif menggunakan PASS SERVER. Eleutheroside A (0.633), Eleuthoside B (0.552) dan Eleutherinal/Eleutherinone (0.434) diprediksi mempunyai kemampuan modulator stres oksidatif yang paling baik.

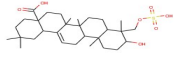
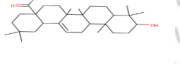
Xanthine Oxidase (PDB ID 3NFY) adalah protein yang berperan pada stres oksidatif akibat iskemia. Analisis *docking* dilakukan untuk mengetahui *binding affinity* antara reseptor dan ligan. Program Autodock PyrX 9.5 digunakan untuk mengetahui kekuatan ikatan adalah skor tertinggi dari hasil docking. Semakin negatif hasil docking maka semakin kuat ikatan yang terjadi. Quercetin merupakan senyawa modulator stres oksidatif yang terbukti menghambat stres oksidatif melalui target protein xanthine oxidase. Empat belas senyawa aktif bawang Dayak dibandingkan dengan sisi aktif XO yang telah berikatan dengan quercetin (kontrol). Napthoquinone merupakan senyawa yang paling potensial pada bawang Dayak untuk mencegah stres oksidatif dan berperan sebagai modulator stres oksidatif (tabel 5.7)

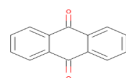
Tabel 5.7 Hasil Autodock PyrX 9.5 binding affinity bawang Dayak sebagai modulator stres oksidatif. Napthoquinone mempunyai kemampuan paling dibandingkan quercentine baik sebagai kontrol modulator stres oksidatif.

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	msd/lb
xanthineoxidase_iseleutherol	-6.6	0	0
xanthineoxidase_napthoquinone	-8.2	0	0
xanthineoxidase_hongconin	-7	0	0
xanthineoxidase_eleutherinol	-7.2	0	0
xanthineoxidase_dihydroeleutherinol	-6.8	0	0
xanthineoxidase_eleutherine	-7.1	0	0
xanthineoxidase_electanacin	-5.9	0	0
xanthineoxidase_iseleutherine	-7.1	0	0
xanthineoxidase_eleutherol	-6.6	0	0
xanthineoxidase_eleutheroside_a	-5.7	0	0
xanthineoxidase_eleuthoside_b	-0.3	0	0
xanthineoxidase_anthraquinone	-7.5	0	0
xanthineoxidase_naphthol	-7.9	0	0
xanthineoxidase_triterpenoid	14.7	0	0
xanthineoxidase_que_fix	-8.3	0	0

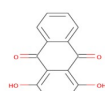
Bio-aktif bawang Dayak diprediksi terlebih dahulu dengan menggunakan HITPICK dan SWISS Target Prediction. Hasil pendekatan HITPICK didapatkan data sebagai berikut (tabel 5.8).

Tabel 5.8 Pendekatan HITPICK bawang Dayak sebagai modulator stres oksidatif. Kemiripan struktur Triterpenoid dengan NR1H4 dan Antraquinone dengan TOP1 sehingga bahan aktif dapat berikatan.

Triterpenoid	ID query_1.	Target NR1H4	Precision(%) 94.8	Tc similarity 0.76
				
	Similar compound: CID000010494			
				
Antraquinone	query_3.	TOP1	77	0.56



Similar compound:
CID000006688



Napthoquinone

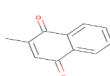
query_13.

GGCX 77

0.53



Similar compound:
CID000004055



Napthoquinone

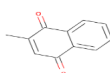
query_13

VKORC 54.3
1

0.53



Similar compound:
CID000004055

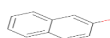


Napththol

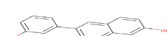
query_2

ESR2 53.3

0.48

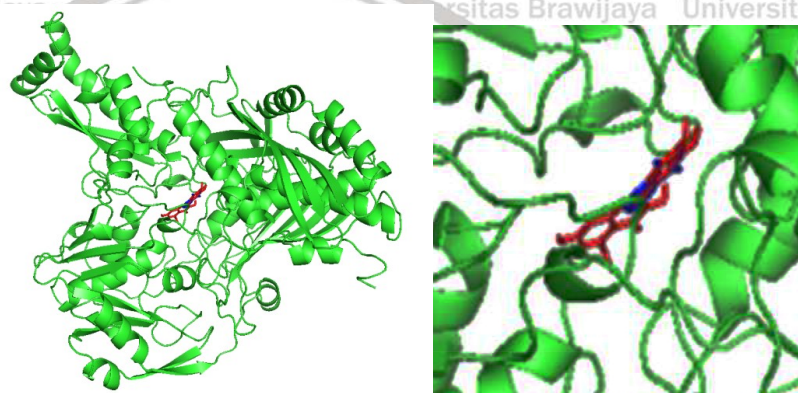


Similar compound:
CID010192730



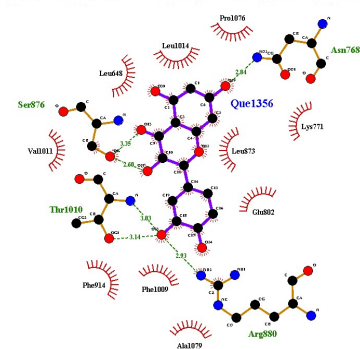
Pada pendekatan senyawa-protein dengan STITCH *Pathway Prediction*,
ikatan bio-aktif bawang Dayak dengan protein target kurang baik. Perlu dilakukan
pendekatan *protein-protein interaction* dengan program STRING.

Analisis *docking* menggunakan program Autodock PyrX 9.5 bertujuan mengetahui *binding affinity* yang terjadi antara reseptor dan ligan. Analisa dilakukan untuk menilai kontribusi asam amino pada ikatan reseptor dan ligan. Asam amino yang berinteraksi pada ikatan berwarna hijau adalah ikatan hydrogen dan hitam adalah ikatan hidrofobik. (gambar 5.9).

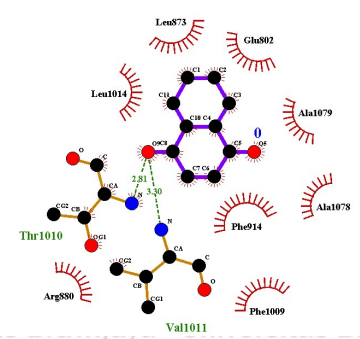


Gambar 5.9 Ikatan bioaktif dengan protein target Xanthine Oxidase (Biru Naphthoquinone, Merah Quercetin). Naphthoquinone berikatan dengan XO pada sisi aktif XO

Berdasarkan analisa Ligplot senyawa aktif bawang Dayak terdapat persamaan protein Quercetin (kontrol) dan Naphthoquinone. Kesamaan protein memperkuat ikatan hidrofobik (Leu1014, Glu802, Phe 1009) dan ikatan hydrogen (Thr1010) (tabel 5.9).



XO-Quercetin



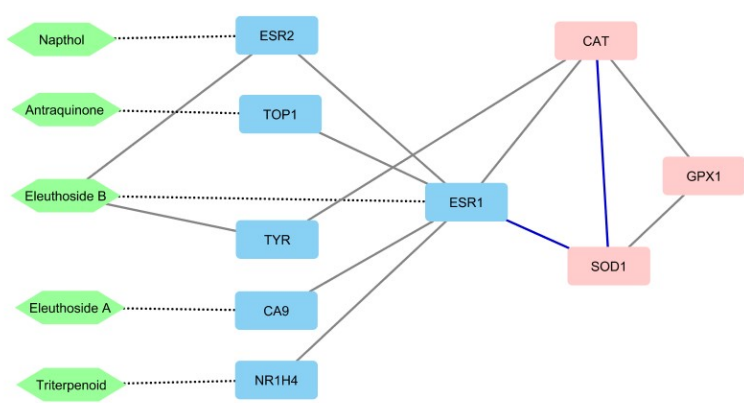
XO-Nathoquinone

Gambar 5.10 Interaksi ligan dan reseptor senyawa aktif bawang Dayak sebagai modulator stres oksidatif. Ikatan bahan aktif dengan protein target didukung oleh ikatan hidrofobik dan hydrogen.

Tabel 5.9 Kesamaan protein dengan ikatan hidrofobik dan ikatan hidrogen

Reseptor	Ligand	Ikatan hidrofobik	Ikatan hidrogen
Xanthine Oxidase	Quercetin	Leu648, Leu1014 , Pro1076, Lys771, Leu873, Glu802 , Ala1079, Phe1009 , Phe914, Val1011	SER876, Thr1010 , Arg880, Asn768
	Napthoquinone	Leu873, Leu1014 , Glu802 , Ala1079, Phe914, Ala1078, Phe1009 , Arg880	Val1011, Thr1010

Pada pendekatan senyawa–protein dengan *STITCH Pathway Prediction*, ikatan senyawa aktif bawang Dayak dengan protein target kurang baik. Perlu dilakukan pendekatan *protein–protein interaction* dengan program STRING.



Gambar 5.11 Analisa STRING senyawa aktif bawang Dayak sebagai modulator stres oksidatif. Bahan aktif bekerja melalui protein perantara sebagai aktifitas modulator stres oksidatif.

Tabel 5.10 Interaksi bioaktif bawang Dayak dengan protein target modulator stres oksidatif

Uniprot ID	Gene Code	ChEMBL ID	By Homology	Probability	Number of sim. cmpds (3D)	Number of sim. cmpds (D2)	Target Class
Q92731	ESR2	CHEMBL242	Yes	0.37	2	3	Transcription Factor

Interaksi antara senyawa bawang Dayak dengan protein modulator stres oksidatif: CAT (Catalase), SOD1 (superoxide dismutase 1), dan GPX1 (Glutathione Peroxidase 1) diperantarai oleh ESR2. ESR2 merupakan target dari Eleuthoside B dengan nilai prediksi 0.37. Sehingga bawang Dayak diprediksi dapat terlibat dalam induksi protein yang berperan sebagai modulator stres oksidatif secara tidak langsung.

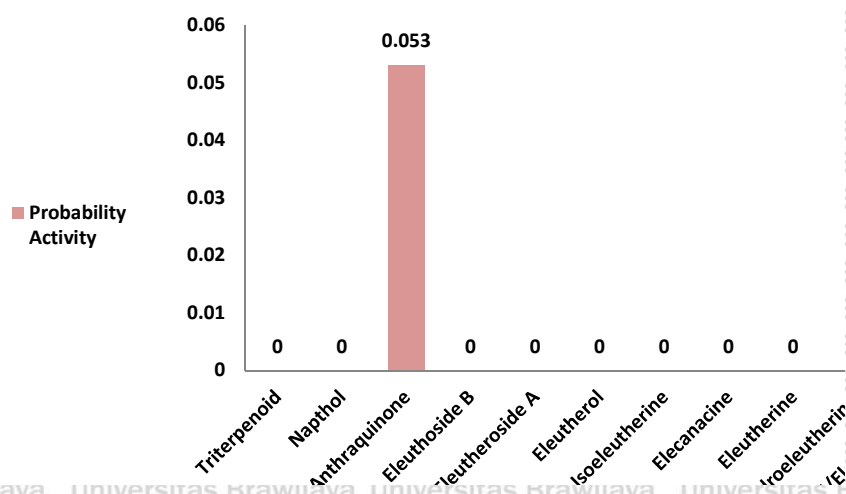
Mendukung penelitian sebelumnya, ekstrak bawang Dayak mempunyai kemampuan sebagai modulator stres oksidatif. Napthoquinone mempunyai aktifitas scavenging SOR ($O_2^{\bullet}$, $\bullet OH$, $BuOO^{\bullet}$) (Yoshida et al., 2014). Senyawa aktif (-)-

isoeleutherin (Han *et al.*, 2008) triterpenoids (Cai *et al.*, 2019) dan anthraquinone mempunyai potensi modulator stres oksidatif yang kuat (Han *et al.*, 2019). Pada penelitian ini didapatkan senyawa eleutherine mempunyai kadar yang tinggi dan mampu berikatan dengan protein target *xanthine-oxidase*.

5.9.2c Hasil prediksi sebagai anti adhesi melalui enzim *Tryptase*.

Pada pendekatan PASS SERVER, anthraquinone (Pa 0,053) mempunyai kemampuan yang sangat kecil (Pa<0,3) sebagai *tryptase inhibitor*.

Berdasarkan HIT-PICK dan *molecular docking*, tidak dijumpai senyawa aktif bulbus (umbi) bawang Dayak yang mampu berikatan lebih baik dengan protein *tryptase inhibitor*, dibandingkan dengan kontrol *tryptase* (Ba -12,1). Dari hasil komputasi dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif bulbus (umbi) bawang Dayak tidak dapat bereaksi dengan *tryptase inhibitor*.



Gambar 5.12 *Probability activity tryptase inhibitor*. Pada pendekatan PASS SERVER didapatkan anthraquinone (Pa 0,053) mempunyai kemampuan yang sangat kecil sebagai *tryptase inhibitor*.

Tabel 5.11 Probability activity tryptase inhibitor, pada prediksi protein target terhadap enzim tryptase, eleuthoside B (Ba -8,8) diprediksi mampu berikatan dengan protein *tryptase inhibitor* dibawah kontrol *tryptase*.

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
kontrol tryptase	-12.1	0	0
eleuthoside B	-8.8	0	0
triterpenoid	-8.6	0	0
dihydroeleutherinol	-8.1	0	0
Eleutheroside A	-8	0	0
eleutherinone/ Eleutherinol	-7.5	0	0
anthraquinone	-7.4	0	0
hongconin	-7.1	0	0
elecanacin	-7	0	0
isoeleutherine	-6.9	0	0
eleutherine	-6.9	0	0
eleutherol	-6.7	0	0
isoeleutherol	-6.7	0	0
naphthoquinone	-6	0	0
naphthol	-5.9	0	0

Berbeda dengan penelitian sebelumnya, pemberian anthraquinone menghambat aktivasi tryptase (Garcia-Vilas *et al.*, 2015). Pada penelitian ini tidak dijumpai senyawa aktif bawang Dayak yang mempunyai kemampuan sebagai *tryptase inhibitor*. Hal ini diduga karena belum ada data penelitian tentang ekstrak bawang Dayak sebagai *tryptase inhibitor*.

5.9.2d Hasil prediksi sebagai anti adhesi melalui enzim *chymase*.

Triterpenoid mempunyai kemampuan *binding affinity* yang lebih baik dibanding kontrol *chymase* pada pendekatan *HIT-PICK* dan *molecular docking*. Tetapi pada pendekatan PASS SERVER, triterpenoid tidak mempunyai aktifitas sebagai *chymase inhibitor*. Anthraquinone (Pa 0,068) dan naphthoquinone (Pa 0,066) mempunyai kemampuan yang sangat kecil ($Pa < 0,3$) sebagai *chymase inhibitor*. Dapat disimpulkan senyawa aktif bawang Dayak tidak mempunyai potensi sebagai *chymase inhibitor*.



Probability activity chymase inhibitor. Pada pendekatan PASS SERVER didapatkan anthraquinone (Pa 0,068) dan npathoquinone (Pa 0,066) mempunyai kemampuan yang sangat kecil sebagai *chymase inhibitor*.

Probability activity chymase inhibitor, prediksi protein target terhadap enzim chymase inhibitor, triterpenoid (Ba -7,7) diprediksi mampu berikatan dengan protein *chymase inhibitor* diatas kontrol *chymase* (Ba -7,6).

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
triterpenoid	-7.7	0	0
kontrolchymase	-7.6	0	0
eleuthoside B	-7.5	0	0
anthraquinone	-7.2	0	0
dihydroeleutherinol	-7.1	0	0
eleutheroside A	-7.1	0	0
eleutherine	-6.7	0	0
hongconin	-6.7	0	0
isoeleutherine	-6.7	0	0
eleutherinone/eleutherinol	-6.6	0	0
elecanacin	-6.6	0	0
isoeleuthero	-6.6	0	0
eleuthero	-6.6	0	0
naphthoquinone	-6.3	0	0
naphthol	-5.8	0	0

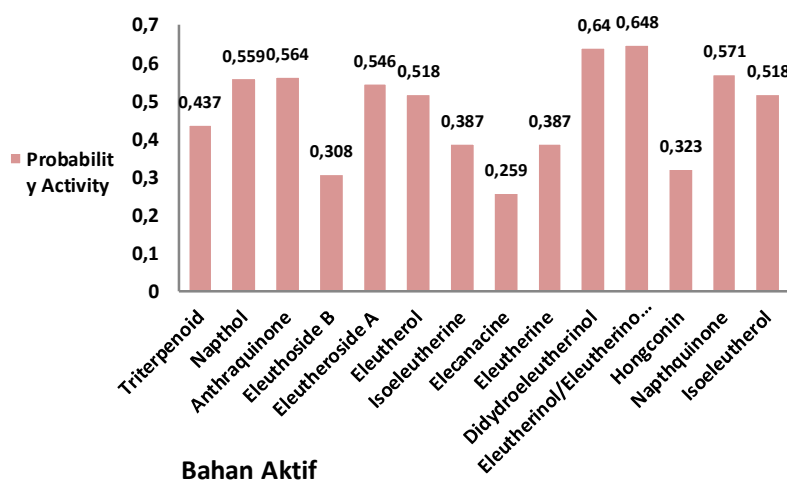
80

dan naphthoquinone (Pa 0.066) mempunyai aktivitas yang sangat kecil sebagai *chymase inhibitor*. Triterpenoid, eleuthoside B dan anthraquinone mampu berikatan dengan protein target *chymase* dibanding dengan kontrol *chymase*, tetapi tidak memiliki aktivitas sebagai *chymase inhibitor*.

5.9.2e Hasil prediksi sebagai anti adhesi melalui enzim *histamine release inhibitor*.

Pada pendekatan prediksi aktivitas biologi menggunakan PASS-SERVER didapatkan 2 senyawa aktif bawang Dayak sebagai *histamine release inhibitor*, yaitu: eleutherinone/eleutherinol (Pa 0,648) dan dihydroeleutherinol (Pa 0,640).

Pendekatan HIT-PICK dan *molecular docking* dengan pembandingan doxepine sebagai kontrol *histamine*, tidak didapatkan senyawa aktif yang berpotensi lebih baik dibanding doxepine sebagai kontrol *histamine* (Ba -11). Naphthol (Ba -8,1) mempunyai kemampuan yang paling baik diantara senyawa aktif bawang Dayak.



Gambar 5.14 *Probability activity sebagai enzim histamine release inhibitor.* Eleutherinol (0.648), dihydroeleutherinol (0.64) dan naphthol (0.599) mempunyai kemampuan yang paling baik sebagai histamine release inhibitor.

Table 5.13 Prediksi protein target terhadap enzim histamine release inhibitor. Tidak ada bahan aktif bahan Dayak yang mempunyai kemampuan lebih baik disbanding control pada protein target *histamine*

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
eleuthoside_b	-1.6	0	0
hongconin	-5.1	0	0
eleutherine	-5.5	0	0
isoeleutherine	-5.5	0	0
eleutherinoside_a	-5.6	0	0
dihydroeleutherinol	-5.8	0	0
eleutherol	-6.5	0	0
isoeleutherol	-6.5	0	0
eleutherinol/eutherinone	-6.7	0	0
elecacin	-6.8	0	0
anthraquinone	-7.5	0	0
naphthoquinone	-7.9	0	0
naphthol	-8.1	0	0
control	-11	0	0
triterpenoid	22.9	0	0

Walaupun eleutherinone/eleutherinol (Pa 0,648) dan dihydroeleutherinol (Pa 0,640) mempunyai aktifitas yang baik sebagai *histamine release inhibitor*, tetapi ke 2 senyawa tersebut tidak mempunyai kemampuan ikatan dengan protein target *histamine release inhibitor*. Sedangkan naphthol walaupun mempunyai kemampuan ikatan yang cukup baik dengan protein *histamine release inhibitor*, tetapi tidak mampu berikatan dengan *histamine release inhibitor*.

Pada pendekatan PASS SERVER eleutherinol/eleutherinone (Pa 0.648) dan dihydroeleutherinol (Pa 0.640) diprediksi mempunyai aktivitas *histamine release inhibitor*. Tetapi kedua senyawa tersebut tidak mampu berikatan dengan baik pada protein target *histamine release inhibitor* dibanding kontrol.

5.9.2f Hasil prediksi sebagai anti adhesi melalui enzim *calcium channel*.

Pada pendekatan prediksi aktivitas biologi menggunakan PASS-SERVER tidak didapatkan aktivitas bulbus (umbi) bawang Dayak sebagai *calcium channel*

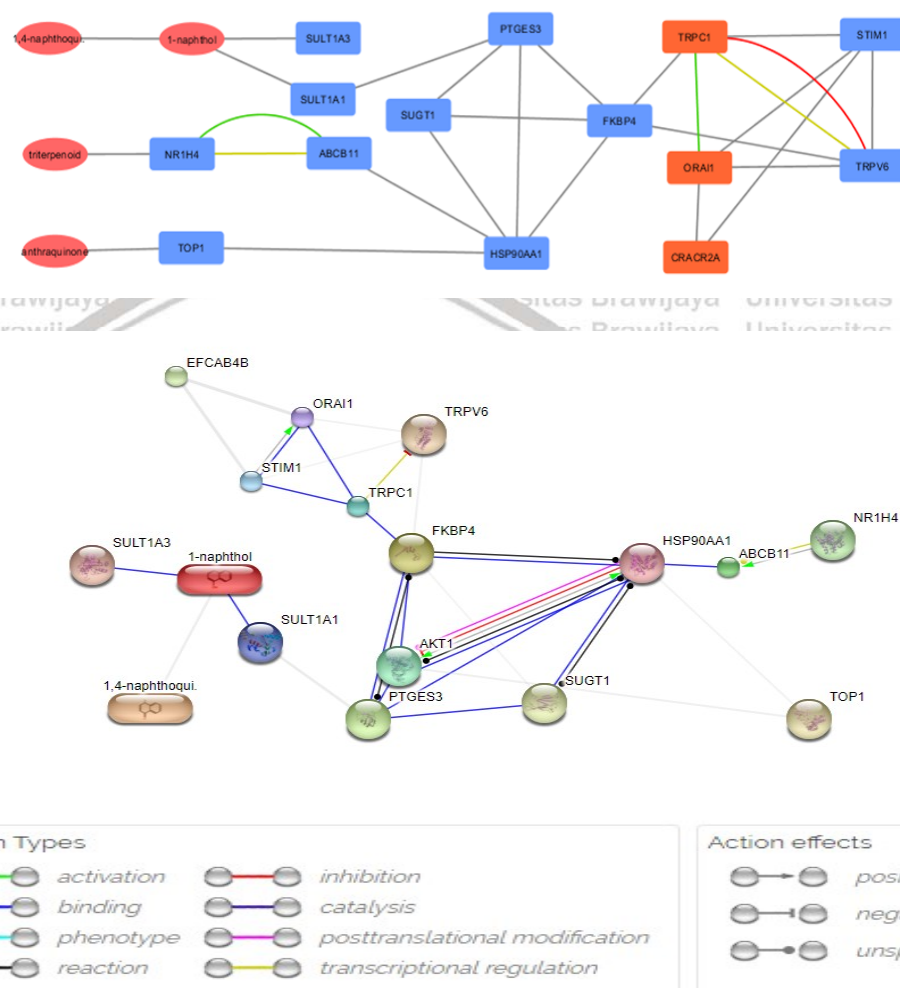
inhibitor atau *blocker*. Diduga tidak adanya aktifitas sebagai *calcium channel inhibitor/blocker* karena belum ada data penelitian yang cukup pada bawang Dayak. Pendekatan HIT-PICK dan *molecular docking* dengan pembandingan nomodipine sebagai kontrol *calcium blocker*, didapat 2 senyawa aktif yang berpotensi sebagai *calcium channel blocker*, yaitu : triterpenoid dan anthraquinone.

Tabel 5.14

Prediksi *Calcium inhibitor/blocker*. Berdasarkan PASS SERVER tidak ditemukan data probability activity bulbus (umbi) bawang Dayak sebagai *calcium channel inhibitor* atau *blocker*. Berdasarkan pendekatan HIT-PICK, 2 senyawa aktif: triterpenoid dan anthraquinone mempunyai potensi lebih baik sebagai *calcium blocker* dibanding dengan kontrol nomodipine (A+B)

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
triterpenoid	-7.1	0	0
anthraquinone	-6.7	0	0
eleutherinone/eleutherinol	-6.5	0	0
elecanacin	-6.3	0	0
eleutherinoside A	-6.3	0	0
dihydroeleutherinol	-6.2	0	0
eleutherine	-6.1	0	0
isoeleutherine	-6.1	0	0
antraquinone	-6	0	0
isoeleutherol	-6	0	0
eleuthoside B	-6	0	0
control_nomodipine	-5.8	0	0
eleutherol	-5.8	0	0
hongconin	-5.6	0	0
naphthol	-5.4	0	0
naphthoquinone	-5.2	0	0

STITCH analysis dilakukan pada naphthol, anthraquinone dan triterpenoid pada TRPC1, ORA11 and CRAC sebagai *calcium channel* pada membran sel. Analisis dilakukan untuk medeteksi potensi senyawa aktif bulbus (umbi) bawang Dayak sebagai *calcium channel inhibitor*.



Gambar 5.15 Analisis STITCH bioaktif bawang Dayak pada protein target TRPC1, ORAI1 dan CRAC kanal calcium

Interaksi protein *calcium channel inhibitor* mampu berinteraksi dengan protein inhibitor (TRPC1, ORAI1, CRACR2A) melalui perantara beberapa protein.

Senyawa 1,4 Naphthoquinone berinteraksi dengan protein SULTIA1 dan PTGES3, selanjutnya dengan protein HSP90AA1 dan mampu berinteraksi dengan protein *calcium channel inhibitor*. Anthraquinone berinteraksi melalui protein TOP1 dan HSP90AA1. Berdasarkan analisa target protein HITPICK, dapat disimpulkan bahwa

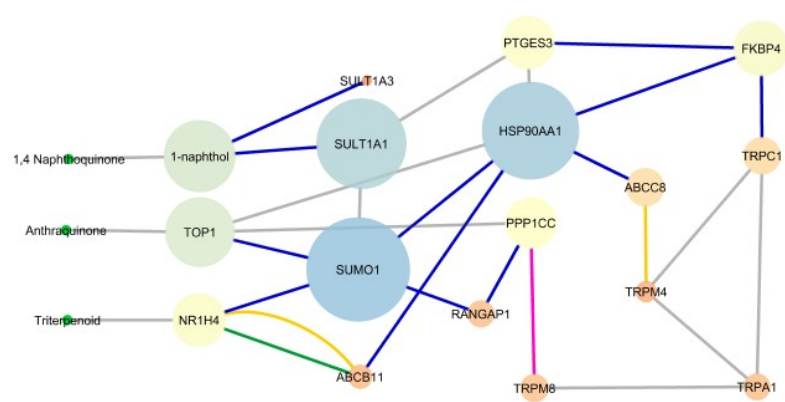
protein NR1H4 merupakan protein target Napthoquinone. NR1H4 mengaktifkan ekspresi dari protein ABCB11, kemudian berikatan dengan protein HSP90AA1 untuk berinteraksi dengan protein *calcium channel inhibitor* melalui FKBP4. TRPV6 dan TRPC1 merupakan protein *calcium channel* pada membran sel yang dihambat agar kadar calcium dalam sitosol menjadi stabil.

Tabel 5.15 Average shortes path length pada kanal calcium membran sel

Protein Target	Average shortes path length
TRPC1	2.82352941
EFCAB4B	4.41176471
ORAI1	3.52941176

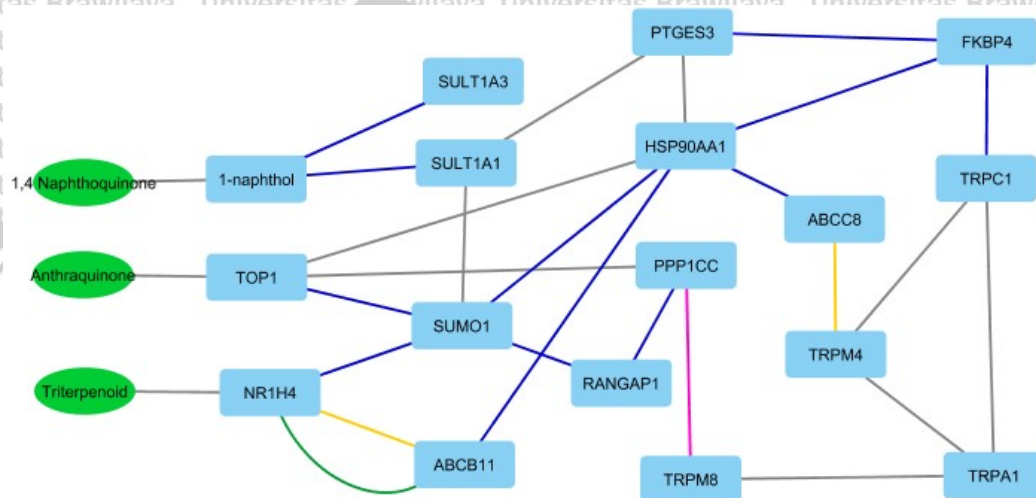
Average shortest path length analysis merupakan analisis untuk mengetahui jalur tercepat dan terefektif dari suatu network pathway, TRPC1 diprediksi merupakan protein yang paling cepat berinteraksi dengan napthoquinone.

STITCH analysis dilakukan pada naphthol, anthraquinone dan triterpenoid pada TRPM4 dan TRPM8 sebagai *calcium channel* pada membran sel yang sensitif oleh rangsangan mekanik tekanan dan dingin.



Gambar 5.16 Analisis STITCH bioaktif bawang Dayak pada protein target TRPM4 dan TRPM8 kanal calcium inhibitor

Berdasarkan analisa protein utama, SUMO1 dan HSP90AA1 merupakan protein mediator yang banyak dilewati untuk interaksi *calcium channel*. Semakin besar ukuran dan semakin gelap warna visualisasi protein tersebut, maka semakin dominan peranan protein tersebut pada interaksi *calcium inhibitor*.



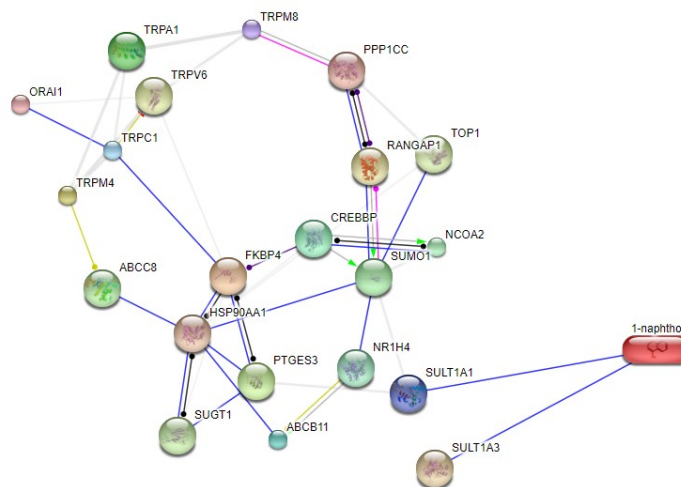
Gambar 5.17 Interaksi bioaktif bawang Dayak dengan protein mediator dengan protein target kanal *calcium inhibitor*

Interaksi protein calcium inhibitor mampu berinteraksi dengan protein inhibitor (TRPM4, TRPM8) melalui perantara beberapa protein. Senyawa 1,4-Naphthoquinone berinteraksi dengan protein SULTIA1 dan PTGES3. Sehingga protein HSP90AA1 dan ABCC8 mampu berinteraksi dengan protein calcium inhibitor. Anthraquinone berinteraksi dengan protein calcium inhibitor melalui TOP1, SUMO1 dan HSP90AA1. NR1H4 merupakan protein target triterpenoid dari analisa target protein HITPICK. NR1H4 mengaktifkan ekspresi protein ABCB11, selanjutnya berikatan dengan protein HSP90AA1 untuk berinteraksi dengan protein calcium inhibitor melalui FKBP4. HSP90AA1 berikatan dengan ABCC8 dan diprediksi memiliki interaksi *transcriptional regulation* dengan TRPM8.

Tabel 5.16 Analisis jalur bioaktif bawang Dayak dengan TRPM4 dan TRPM8

Protein Target	Average shortes path length
TRPM4	3.26315789
TRPM8	3.31578947

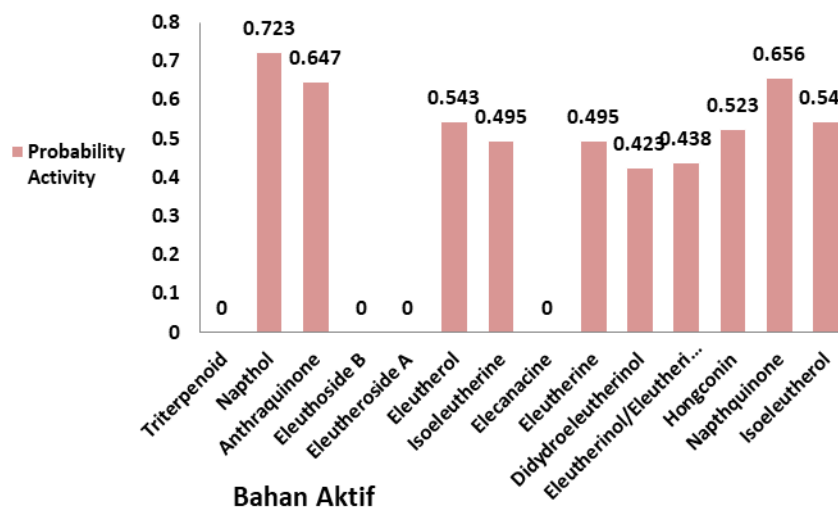
Average shrorestest path length analysis merupakan analisis untuk mengetahui jalur tercepat dan terefektif dari suatu *network pathway*, TRPM4 diprediksi merupakan protein yang paling cepat berinteraksi dengan senyawa aktif bulbus (umbi) bawang Dayak.



Gambar 5.18 Analisis Average shrorestest path length analysis dengan TRPM4 dan TRPM 8 inhibitor kanal calcium

Berbeda dengan potensi sebagai calcium channel activator, didapatkan 3 senyawa aktif bulbus (umbi) bawang Dayak yaitu: naphthol (Pa 0,723), anthraquinone (Pa 0,647) dan naphthoquinone (Pa 0,656), yang berpotensi paling baik sebagai *calcium channel activator*. Berdasarkan temuan penelitian komputasi ini, didapatkan potensi jalur baru aktifitas bulbus (umbi) bawang Dayak sebagai penstabil sel termasuk sel mast, melalui aktifitasnya pada protein membran sel. Maka penelitian

difokuskan pada aktifitas bulbus (umbi) bawang Dayak pada protein calcium channel homeostasis, merupakan keterbaruan penelitian insiliko.

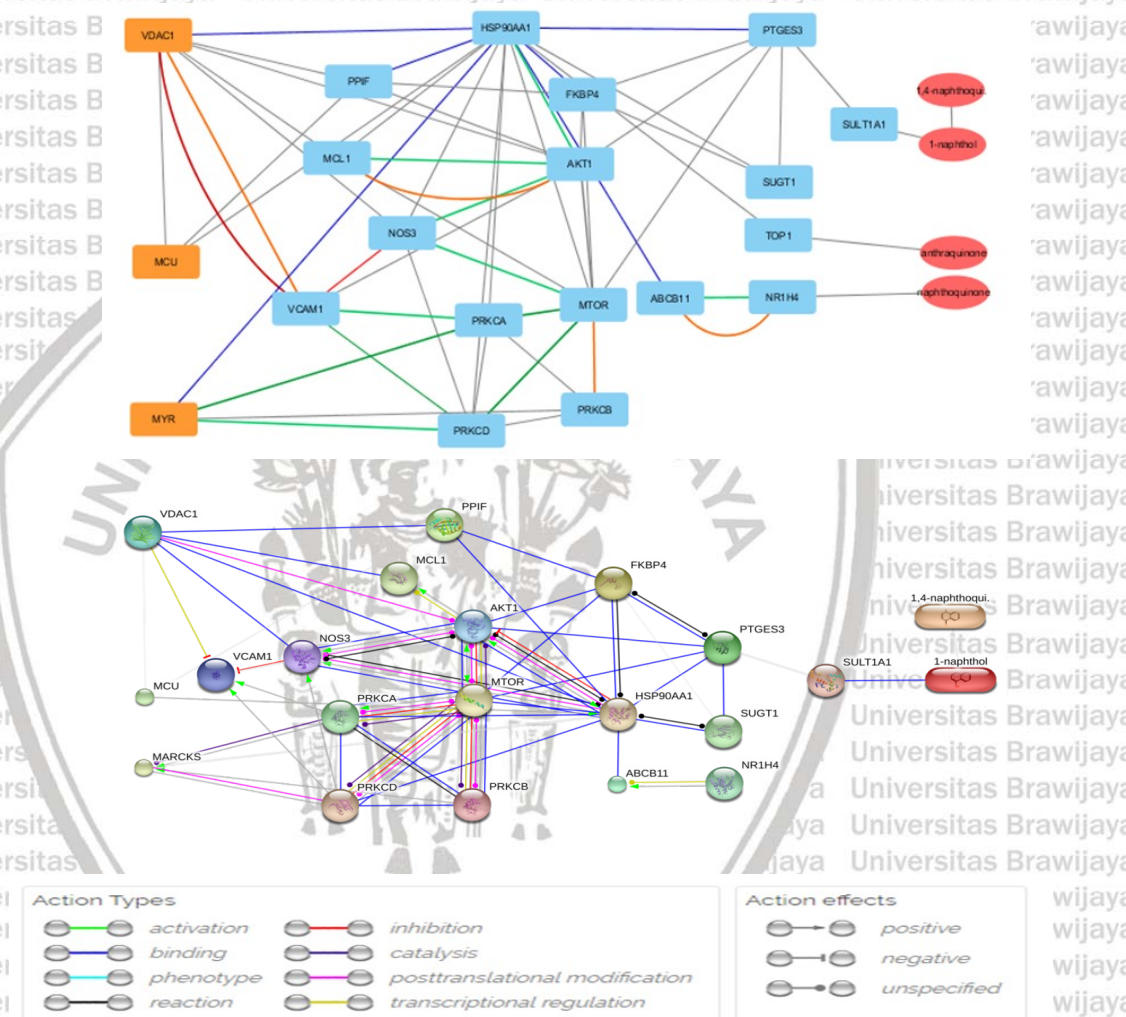


Gambar 5.19

Prediksi *calcium channel activator*. Berdasarkan pendekatan PASS SERVER didapatkan 3 senyawa aktif: naphthol, anthraquinone dan naphthoquinone mempunyai potensi lebih baik sebagai *calcium channel activator* (Ca^{2+})

Berdasarkan hasil analisis STITCH, senyawa aktif bulbus (umbi) bawang Dayak naphthoquinone, anthraquinone, dan naphthol mampu berinteraksi dengan protein calcium activator membran mitokondria (VDAC1, MCU, MARCKS/MYR) melalui perantara beberapa protein. 1,4 Naphthoquinone berinteraksi dengan protein SULTIA1 dan PTGES3 kemudian dengan protein HSP90AA1 dan akhirnya mampu berinteraksi dengan protein *calcium activator*. Anthraquinone berinteraksi melalui TOP1 dan HSP90AA1. Berdasarkan analisa target protein HITPICK, NR1H4 merupakan protein target dari Naphthoquinone. NR1H4 dapat mengaktifkan ekspresi dari protein ABCB11, kemudian berikatan dengan protein HSP90AA1 untuk berinteraksi dengan protein *calcium activator*. VCAM1 merupakan protein *calcium*

channel pada membran yang dihambat oleh *calcium channel* mitokondria (VDAC1) agar kadar *calcium* menjadi stabil.



Gambar 5.20 Analisis STITCH bioaktif bawang Dayak dengan *activator channel* *calcium* mitokondria VDAC1, MCU dan MARCKS

Tabel 5.17 Analisis average shortest path length bioaktif bawang Dayak dengan *activator* kanal *calcium* mitokondria VDAC1, MCU dan MARCKS

Protein Target	Average shortest path length
VDAC1	2.05
MCU	2.25
MARCKS	2.15

Hasil *average shortest path length analysis*, VDAC1 diprediksi merupakan protein yang paling cepat jalurnya untuk berinteraksi dengan senyawa aktif bulbus (umbi) bawang Dayak sebagai *calcium channel activator*.

Pada penelitian didapatkan temuan baru potensi ekstrak bawang Dayak dalam stabilisasi sel termasuk sel mast melalui homeostasis ion Ca^{2+} . Laparoskopi menyebabkan cedera reperfusi dan stres oksidatif (Veekash *et al.*, 2010., Sammour, 2011). Ekstrak bawang Dayak mampu mencegah aktivasi: TRPM2 yang diaktifkan oleh oksidan, TRPM4 dan TRPM8 yang diaktifkan oleh perubahan suhu dan tekanan, dan TRPC1, ORAI1, CRACR2A yang mampu berikatan dengan naphthoquinone dan anthraquinone. Kanal VDAC1, MCU, dan MARCKS mitokondria, diaktifkan oleh naphthoquinone dan anthraquinone sehingga mampu menyerap ion Ca^{2+} kedalam mitokondria. Dengan diserapnya ion Ca^{2+} dalam mitokondria maka kadar Ca^{2+} dalam sitoplasma menjadi stabil.

PENELITIAN TAHAP 2

6.1 Pendahuluan

Laparoskopi memerlukan insuflasi gas CO₂ untuk mendapatkan visualisasi yang baik. Umumnya insuflasi dilakukan pada tekanan 10–12 mmHg yang berpotensi terjadinya iskemia splanknik karena lebih tinggi dari tekanan fisiologis rongga peritoneum. Saat desuflasi dapat terjadi cedera reperfusi, sehingga terjadi stres oksidatif (Baysal *et al*, 2009., Sammour, 2011., Hendrickson, 2012). Pada hewan coba tekanan diatas 5 mmHg menyebabkan gangguan fisiologi paru. Pada manusia tekanan diatas 12 mmHg menimbulkan *Intra Abdominal Hypertensi* (IAH) dan tekanan diatas 20 mmHg menimbulkan *Abdominal Compartment Syndrome* (ACS) (Avital *et al.*, 2009, Hatipoglu *et al.*, 2014).

Belum ada penelitian tentang besar tekanan dan pengaruh pada perubahan mikroskopis, perubahan sel mast dan scoring adesi intra-abdominal. Penelitian ini diharapkan dapat menentukan tekanan laparoskopi yang menyebabkan perubahan patologis pada rongga peritoneum dari aspek: derajat inflamasi, derajat stres oksidatif, derajat degranulasi sel mast, perubahan sel mesotelial, perubahan matrik ekstra seluler dan derajat adesi. Diharapkan dapat memberikan rekomendasi tekanan yang optimal pada laparoskopi.

Berdasarkan penjelasan pada latar belakang, penelitian tahap 2 didapatkan rumusan masalah dan submasalah sebagai berikut:

6.2 Perumusan Masalah tahap 2

6.2.1 Masalah Penelitian

Apakah terdapat perbedaan skoring adesi intra abdominal kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi.

6.2.2 Sub Masalah Penelitian

1. Apakah terdapat perbedaan kadar TGF β , IL-10 dan rasio TGF- β /IL-10 cairan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi ?
2. Apakah terdapat perbedaan kadar *Total Oxidant Status* (TOS), *Total Antioxidant Capacity* (TAC), Oksidatif Stes Indek (OSI) cairan peritoneal dan kadar MDA jaringan peritoneum pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi ?
3. Apakah terdapat perbedaan jumlah sel mast dan persentase degranulasi sel mast, kadar *histamine*, *tryptase* dan *chymase* cairan peritoneal, pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi ?
4. Apakah terdapat perbedaan ekspresi *zone occludin-1* (ZO-1) jaringan peritoneum pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang

diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi ?

5. Apakah terdapat perbedaan ketebalan matrik ekstra seluler (MES) pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi ?

6. Apakah terdapat perbedaan skoring adesi intra-abdominal dan perubahan mikroskopis kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi ?

6.3 Tujuan Penelitian tahap 2

6.3.1 Tujuan Umum

Secara umum penelitian tahap bertujuan memperoleh bukti:

Terdapat perbedaan skoring adesi intra abdominal kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi dan derajat adesi paling berat pada tekanan 12 mmHg.

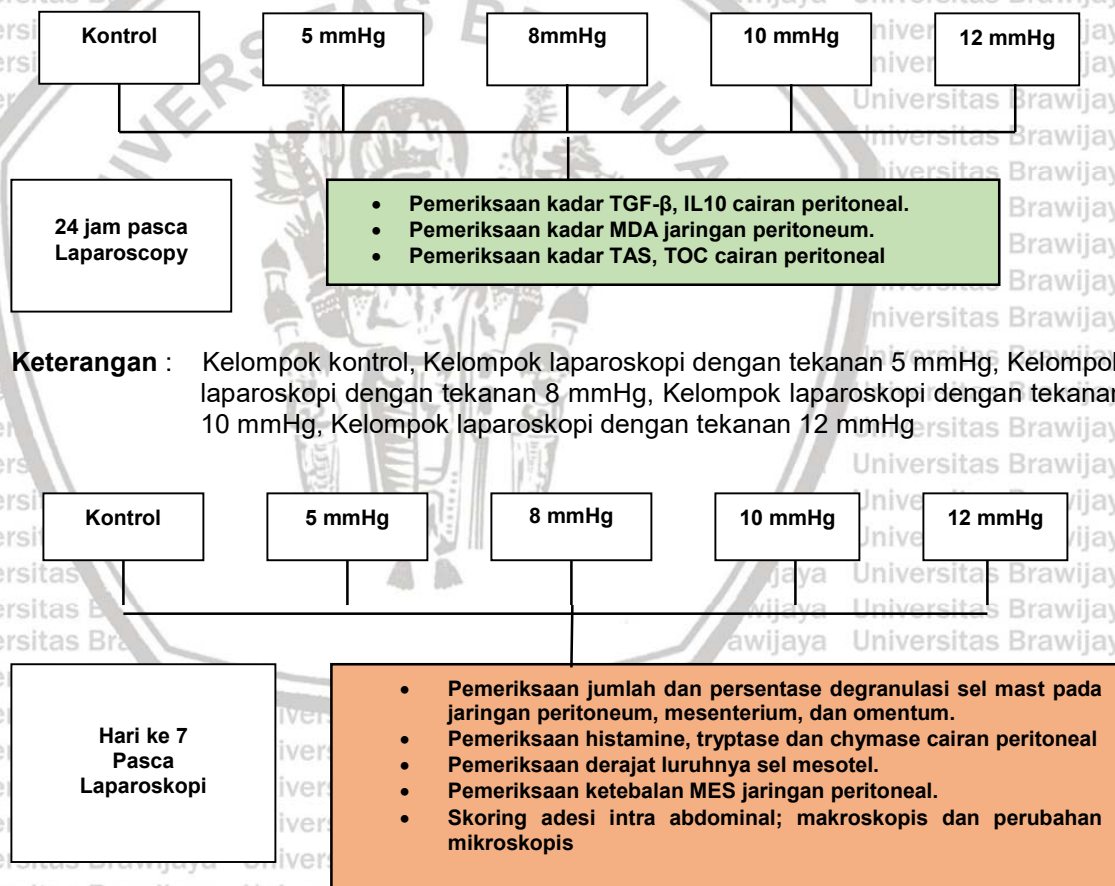
6.3.2 Tujuan Khusus

1. Memperoleh bukti ada perbedaan kadar TGF β , IL-10 dan rasio TGF- β /IL-10 cairan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi.

2. Memperoleh bukti ada perbedaan kadar *Total Oxidant Status* (TOS), *Total Antioxidant Capacity* (TAC), Oksidatif Stres Indek (OSI) cairan peritoneal dan kadar MDA jaringan peritoneum pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi.
3. Memperoleh bukti ada perbedaan jumlah sel mast dan persentase degranulasi sel mast, kadar *histamine*, *tryptase* dan *chymase* cairan peritoneal, pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi.
4. Memperoleh bukti ada perbedaan ekspresi *zone occludin 1* (ZO-1) jaringan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi.
5. Memperoleh bukti ada perbedaan ketebalan matrik ekstra seluler (MES) pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi.
6. Memperoleh bukti ada perbedaan skoring adesi intra abdominal dan perubahan mikroskopis kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi pada tekanan 5 mmHg, 8 mmHg, 10 mmHg dan 12 mmHg pasca laparoskopi.

6.4 Manfaat dan Alur Penelitian tahap 2

Memperoleh bukti tekanan insuflasi tekanan 10 mmHg menyebabkan skoring adesi intra-abdominal paling berat, untuk dijadikan dasar pada penelitian tahap 3. Berdasarkan perhitungan jumlah sampel, maka jumlah sampel tiap kelompok adalah 6.



Keterangan: Kelompok kontrol, Kelompok laparосkopi dengan tekanan 5 mmHg, Kelompok laparосkopi dengan tekanan 8 mmHg, Kelompok laparосkopi dengan tekanan 10 mmHg.; Kelompok laparосkopi dengan tekanan 12 mmHg.

6.5 Hipotesis penelitian tahap 2

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah, kerangka teori dan kerangka penelitian diajukan hipotesis penelitian sebagai berikut:

Ada peningkatan jumlah dan degranulasi sel mast, serta skoring adesi intra abdominal kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi 10 mmHg dibanding kelompok kontrol.

6.5.1 Sub-hipotesis penelitian

1. Ada peningkatan kadar TGF- β , IL-10 dan rasio TGF- β / IL-10 cairan peritoneal pada kelompok perlakuan kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi 10 mmHg dibanding kelompok kontrol.
2. Ada peningkatan kadar *Total Oxidant Status* (TOS), *Total Antioxidant Capacity* (TAC) cairan peritoneal, *Oxidative Stress Index* (OSI) dan kadar MDA jaringan peritoneum kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi 10 mmHg dibanding kelompok kontrol.
3. Ada peningkatan jumlah sel mast dan persentase degranulasi sel mast, kadar *histamine*, *tryptase* dan *chymase* cairan peritoneal kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi 10 mmHg dibanding kelompok kontrol.
4. Ada peningkatan ekspresi *zone-occludin 1* (ZO-1) jaringan peritoneal kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi 10 mmHg dibanding kelompok kontrol.

5. Ada peningkatan ketebalan matrik ekstra seluler (MES) jaringan peritoneal kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi 10 mmHg dibanding kelompok kontrol.
6. Ada peningkatan scoring adhesi intra-abdominal dan perubahan mikrokopis kelompok perlakuan yang diberikan tekanan insuflasi 10 mmHg dibanding kelompok kontrol.

6.6 Hasil dan Analisa penelitian tahap 2

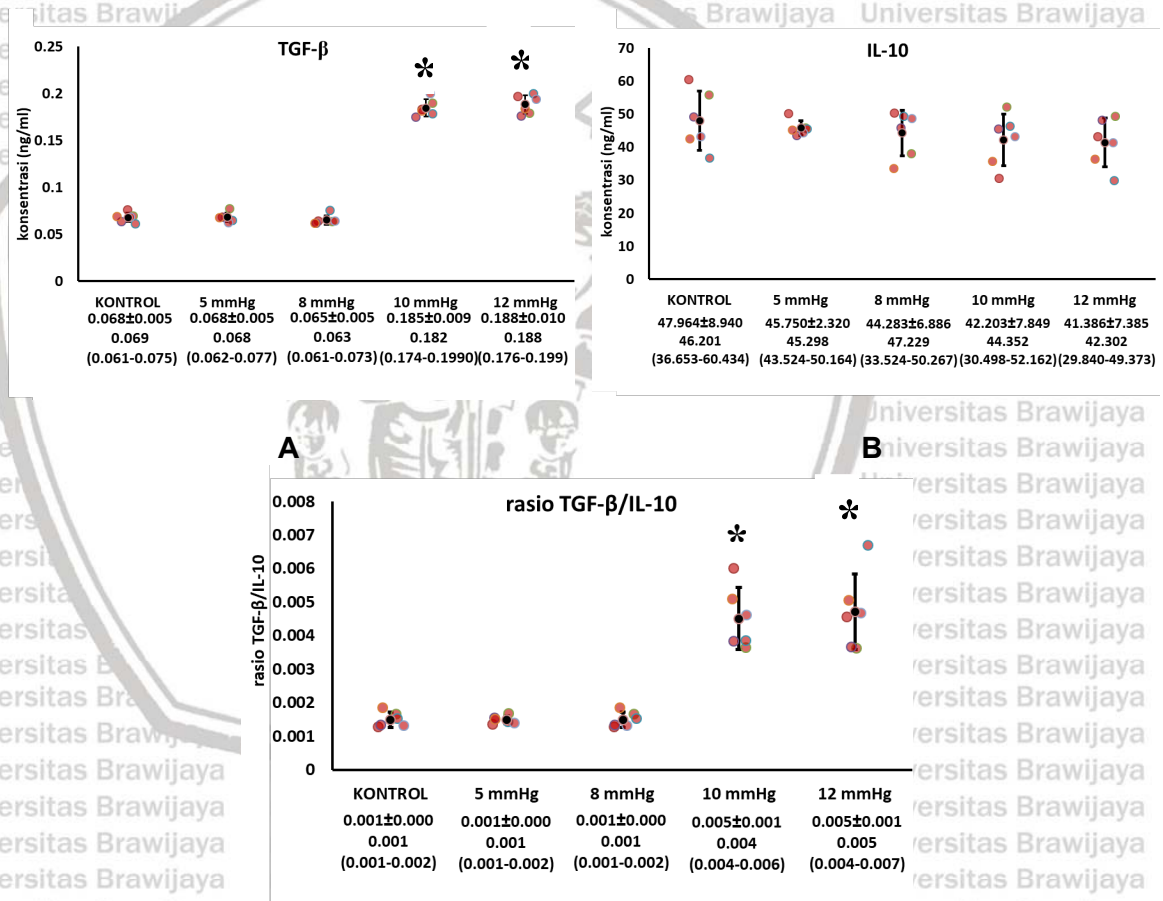
6.6.1 Profil inflamasi pasca pemberian tekanan

Mendukung penelitian sebelumnya: bahwa pneumo-peritoneum melebihi tekanan vena porta (7-10 mmHg) mengakibatkan hipoksia, cedera reperfusi (Sammour *et al.*, 2009.; Patel and Yadav, 2016) dan stres oksidatif, kerusakan sel mesotel dan residen sel rongga abdomen (Sammour *et al.*, 2009). Sebagai respon cedera sel, tubuh mengaktifkan respon inflamasi untuk mengeliminasi sel yang rusak (Arung *et al*, 2011., Sammour, 2011). Reson inflamasi memicu peningkatan sel mast dan memicu produksi TGF- β (Pribadi *et al*, 2016., Maciver *et al*, 2011., Sammour, 2011). Vasodilatasi mempermudah rekrutmen sel fagosit untuk mengeliminasi sel yang rusak (Teller and White, 2011.; Widjanto, 2012).



Gambar 6.1 Hubungan TGF- β dan SOR. TGF- β memicu pembentukan SOR dan SOR mengaktifkan TGF- β laten (dikutip dari Liu and Desai, 2015)

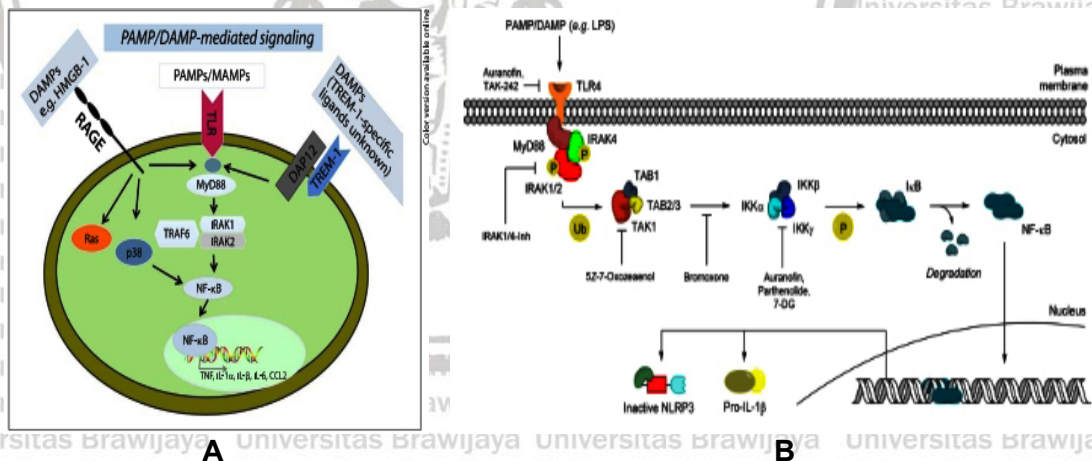
Histamine berperan penting pada mekanisme vasodilatasi, sedang TGF- β merupakan *growth factor* terpenting proliferasi. TGF- β meningkatkan proliferasi dan transformasi fibroblas mengakibatkan peningkatan ketebalan MES (Teller *and* White, 2011). SOR mengaktifkan TGF- β dan menginduksi ekspresi gen TGF- β . Sebaliknya TGF- β memicu terjadinya SOR (Gambar 6.1) (Liu *and* Desai, 2015).



Grafik 6.1

Kadar TGF- β , N=6, menggunakan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, * $p < 0.05$ vs kontrol (A); IL-10 Kadar IL-10 cairan peritoneal N=6, menggunakan uji Anova dan Post Hoc LSD $p > 0.05$ vs kontrol (B); cairan peritoneal dan rasio TGF- β /IL-10 N=6, menggunakan uji Welch Robust Tests of Equality of Means dan Post Hoc Games-Howell, * $p < 0.05$ vs kontrol (C), kelompok Kontrol; tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

Terbukti tekanan 10 mmHg atau lebih pada *Rattus norvegicus*, menyebabkan cedera reperfusi yang memicu kerusakan sel mesotel, dengan indikator lepasnya sel mesotel dari membrana basalis. Kerusakan sistem mesotelial, mensekresi *Damage Associated Molecular Patterns* (DAMPs) dan mencetuskan respon inflamasi dalam rangka homeostasis (Gambar 6.2). Respon inflamasi menyebabkan sekresi TGF- β berlebihan (Grafik 6.1A). Residen sel bertanggung jawab pada respon inflamasi dan berperan aktif secara otokrin dan parakrin pada proses penyembuhan jaringan, proses regenerasi dan fibrosis. Respon inflamasi harus dikendalikan dengan baik agar proses penyembuhan berjalan dengan baik untuk menghindari kerusakan jaringan dan fibrosis. Mekanisme ini tergantung dari lingkungan mikro, jenis dan beratnya trauma (Wynn and Vannella, 2016).



Gambar 6.2 Aktivasi NFκB pasca cedera reperfusi. Molekul DAMPs yang terjadi pasca cedera reperfusi, mengaktifkan respon inflamasi melalui jalur NFκB. DAMP melalui jalur pensinyalan RAGE (A) (dikutip dari Balwin *et al.*, 2015) dan melalui reseptor TLR4 (B) (dikutip dari Mueller *et al.*, 2012)

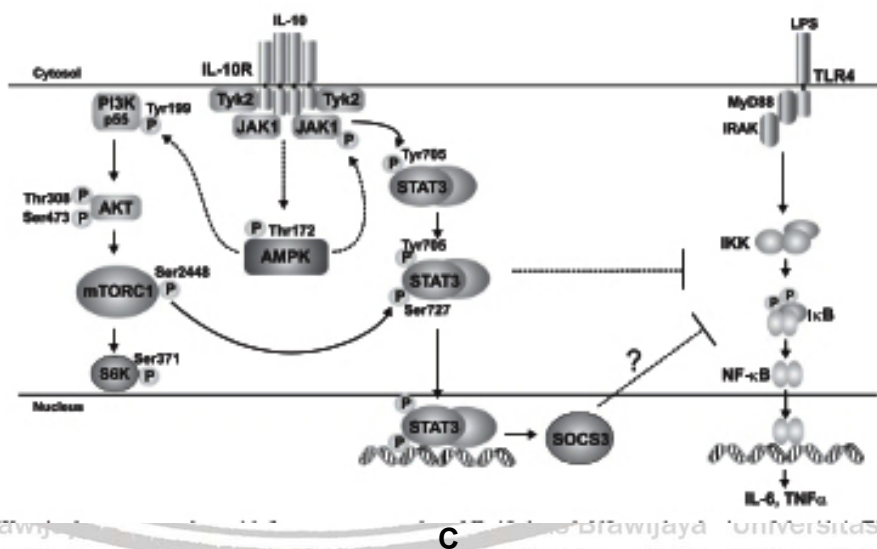
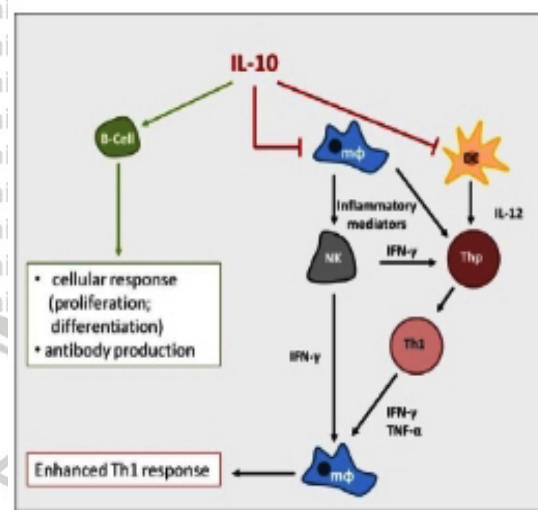
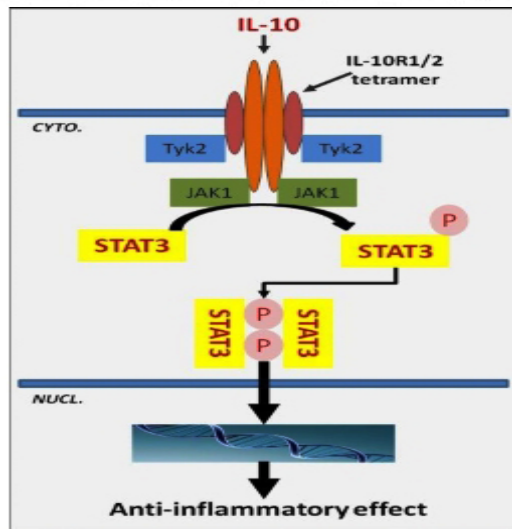
TGF- β berperan ganda, dalam keadaan normal TGF- β akan meregulasi respon inflamasi dan proses penyembuhan. Pada kondisi patologis, sekresi TGF- β yang berlebihan memicu respon inflamasi melalui aktivasi NFκB. TGF- β memicu

TGF- β sehingga terjadi mesotelial transformasi yang mengarah fibrosis (Yung and Chang, 2012).

Penelitian sebelumnya terbukti terjadi perbedaan bermakna kadar IL-10 (Cheong *et al.*, 2001, Saxena *et al.*, 2015 Mataram, 2016). IL-10 merupakan regulator proses inflamasi yang dimodulasi oleh jaringan mesotelial (Sammour *et al.*, 2010).

Efek modulator inflamasi IL-10 bekerja melalui blokade gen inflamasi yang mengkode sitokin, kemokin, *cell-surface protein* dan molekul lainnya (Murray, 2009). IL-10 meregulasi makrofag (Cao *et al.*, 2015., Hou *et al.*, 2017) melalui reseptornya (Opal and DePalo, 2000). IL-10 merupakan imuno-regulator melalui degradasi gen sitokin proinflamasi (Beghdadi *et al.*, 2011). Tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar IL-10 pada penelitian ini. Diduga SOR menyebabkan perubahan reseptor IL-10 pada sel residen rongga abdomen yang berperan pada respon inflamasi sehingga tidak mampu mengikat IL-10. Diduga SOR menyebabkan kerusakan gen IL-10 sehingga respon inflamasi tinggi. Diduga IL-10 yang diproduksi tidak mampu berikatan dengan sel target, sehingga kadar bebas dalam cairan peritoneal tetap tinggi (Grafik 6.1B).

IL-10 merupakan sitokin modulator negatif inflamasi yang berkerja pada reseptor spesifik sel. Ikatan IL-10 pada reseptornya memicu pembentukan gen modulator inflamasi melalui jalur intraseluler STAT3. Peningkatan kadar IL-10 mengekspresikan respon inflamasi yang tinggi. Kadar dalam rentang normal memberikan respon yang baik (Fioranelli and Grazia, 2014). Jalur aktivasi IL-10 terjadi pada respon inflamasi yang sangat besar (Zhu *et al.*, 2014) (Gambar 6.3). Diduga respon inflamasi yang disebabkan minimal invasif laparoskopi tidak mengaktifkan jalur IL-10 sehingga kadar IL-10 sehingga tidak didapatkan perbedaan bermakna dengan kontrol.



Gambar 6.3

Aktivasi IL-10. Setelah IL-10 terikat pada reseptor, melalui jalur STAT3 terjadi migrasi STAT3 ke nukleus dan terbentuk gen modulator inflamasi (A). IL-10 menjaga keseimbangan sitokin pro dan modulator inflamasi. Respon inflamasi diaktifkan melalui sel B, IL-10 menghambat IFN- γ melalui sel Th1 (B) (dikutip dari Fioranelli and Grazia, 2014). IL-10 mengaktifkan modulator inflamasi melalui jalur JAK/STAT (C) (dikutip dari Zhu et al., 2014).

Mekanisme yang lain, diduga stres oksidatif menyebabkan kerusakan gen yang memblokir koding inflamasi sehingga respon inflamasi tinggi (Grafik 6.1.B)

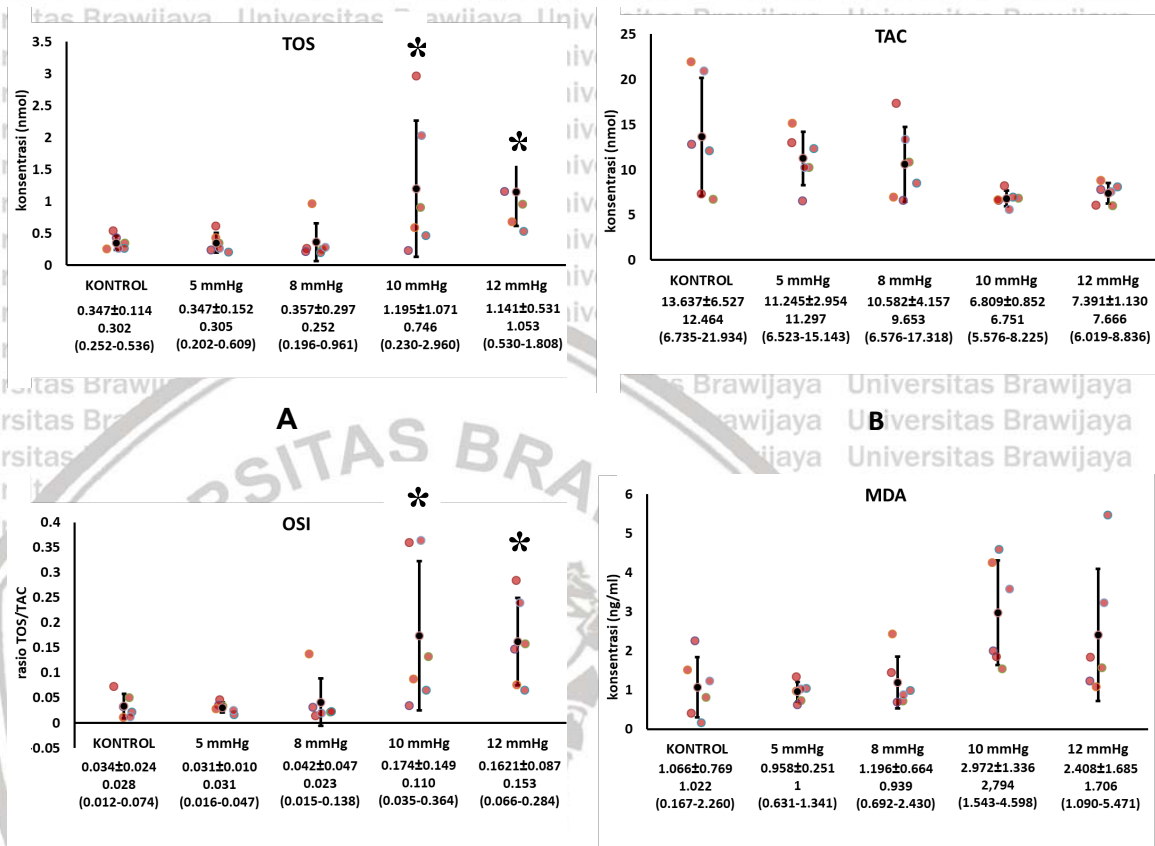
TGF- β merupakan sitokin pencetus fibrosis, sedangkan IL-10 merupakan sitokin yang menekan fibrosis. Peningkatan kadar TGF- β berhubungan dengan

trauma yang signifikan untuk memicu respon inflamasi. Peningkatan kadar IL-10 sebagai penanda adanya respon modulator inflamasi yang menurunkan fibrosis. Bila rasio TGF- β /IL-10 menurun, respon inflamasi yang terjadi mengarah pada penyembuhan jaringan. Bila rasio meningkat respon inflamasi mengarah fibrosis.

Penelitian ini membuktikan terjadi peningkatan rasio TGF- β /IL-10 cairan peritoneal secara bermakna. Hal ini disebabkan karena peningkatan kadar TGF- β sebagai sitokin pencetus adesi dipicu SOR dan respon inflamasi. Peningkatan rasio TGF- β /IL-10 sebagai indikator inflamasi yang mengarah pada adesi dan penebalan MES (Grafik 6.1 C)

6.6.2 Profil stres oksidatif pasca pemberian tekanan

Mendukung penelitian sebelumnya laparoskopi menyebabkan stres oksidatif (Cevrioglu *et al.*, 2004, Baysal *et al.*, 2009, Veekash, *et al.*, 2010). Total Oksidan Status (TOS) sebagai indikator stres oksidatif. Pada penelitian ini terbukti bahwa tekanan 10 mmHg menyebabkan terjadinya stres oksidatif dan peningkatan kadar TOS secara bermakna. Insuflasi menyebabkan penurunan aliran darah dalam rongga abdomen menyebabkan iskemia splannic. Sesuai dengan hukum Hagen-Poiseuille, perengangan rongga abdomen akan menurunkan diameter pembuluh darah. Saat desuflasi akan terjadi aliran oksigen yang menyebabkan pembentukan SOR dan menyebabkan penggunaan modulator stres oksidatif berlebihan. Stres oksidatif menyebabkan kerusakan mesotel, residen dan degranulasi sel mast yang memperberat stres oksidatif (Grafik 6.2A).



Grafik 6.2

Profil kadar peroksida Total Oksidan Status (TOS) N=6, menggunakan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * $p < 0.05$ vs kontrol (A), Total Modulator stres oksidatif Capacity (TAC) N=6, dengan uji Welch Robust Tests of Equality of Means dan uji Post Hoc Games-Howell, $p > 0.05$ vs kontrol (B), Oksidatif Stres Index (OSI) N=6, dengan uji Welch Robust Tests of Equality of Means dan uji Post Hoc Games-Howell, * $p < 0.05$ vs kontrol cairan peritoneal (C), kadar MDA jaringan peritoneal N=6, dengan uji Welch Robust Tests of Equality of Means dan uji Post Hoc Games-Howell $p > 0.05$ vs kontrol, pada tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg, dan tekanan 12 mmHg.

Berbeda dengan penelitian sebelumnya (Baysal *et al.*, 2009) tidak didapatkan perbedaan kadar TAC pasca laparoskopi dan mendukung penelitian sebelumnya (Stipancic *et al.*, 2005, Aktimur *et al.*, 2016). Walaupun pada tekanan 10 mmHg sudah terjadi stres oksidatif, tetapi penggunaan modulator stres oksidatif endogen tidak menyebabkan penurunan kadar secara bermakna (Grafik 6.2B).

Konsep baru tentang stres oksidatif, bahwa proses yang menghentikan pensinyalan redox dan kerusakan jaringan merupakan stres oksidatif (Raffaelli *et al.*, 2018).

Mendukung penelitian sebelumnya terjadi peningkatan OSI pasca laparoskopi (Baysal *et al.*, 2009). Pada tekanan tersebut, peningkatan stres oksidatif telah menimbulkan kerusakan jaringan. Pada tekanan 10 mmHg menyebabkan kerusakan sel mesotel dan meningkatkan respon inflamasi dengan peningkatan kadar TOS (Grafik 6.2C).

Berbeda dengan penelitian sebelumnya tidak didapatkan perbedaan bermakna MDA pasca laparoskopi. (Aran *et al.*, 2012., Mila-Kierzenkowska *et al.*, 2013). Dan mendukung penelitian lain terjadi peningkatan kadar MDA signifikan pasca laparoskopi. (Ozmen *et al.*, 2002., Kontoulis, 2012). Peningkatan kadar MDA menunjukkan adanya kerusakan sel residen dalam rongga abdomen akibat stres oksidatif. Peningkatan MDA secara tidak bermakna, diduga kerusakan sel juga melalui mekanisme non peroksidasi lipid. Kerusakan sel akibat SOR disebabkan oleh peroksidasi protein dan peroksidasi DNA (Sammour, 2011). Kerusakan sel mesotel menyebabkan lepasnya mesotel dari membrana basalis. Dan kerusakan sel mast menyebabkan peningkatan degranulasi (Grafik 6.2D).

Pembentukan oksidan terjadi dalam rentang waktu 2-5 menit segera setelah cedera reperfusi dan diyakini berasal dari rantai transpor elektron mitokondria dan metabolisme xantin oksidase (XO) (Liu *et al.*, 2004). Superoksida bereaksi dengan efisien sebagai agen pereduksi. Superoxide desmutase (SOD) akan mengkatalisis superoksida ($O_2^{\cdot-}$) selanjutnya membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2) radikal hidroksil ($OH^{\cdot}$) melalui reaksi Haber-Weiss sebagai berikut. (Sasaki and John, 2007).

Apabila produksi SOR melebihi kapasitas modulator stres oksidatif endogen maka terjadi stres oksidatif.

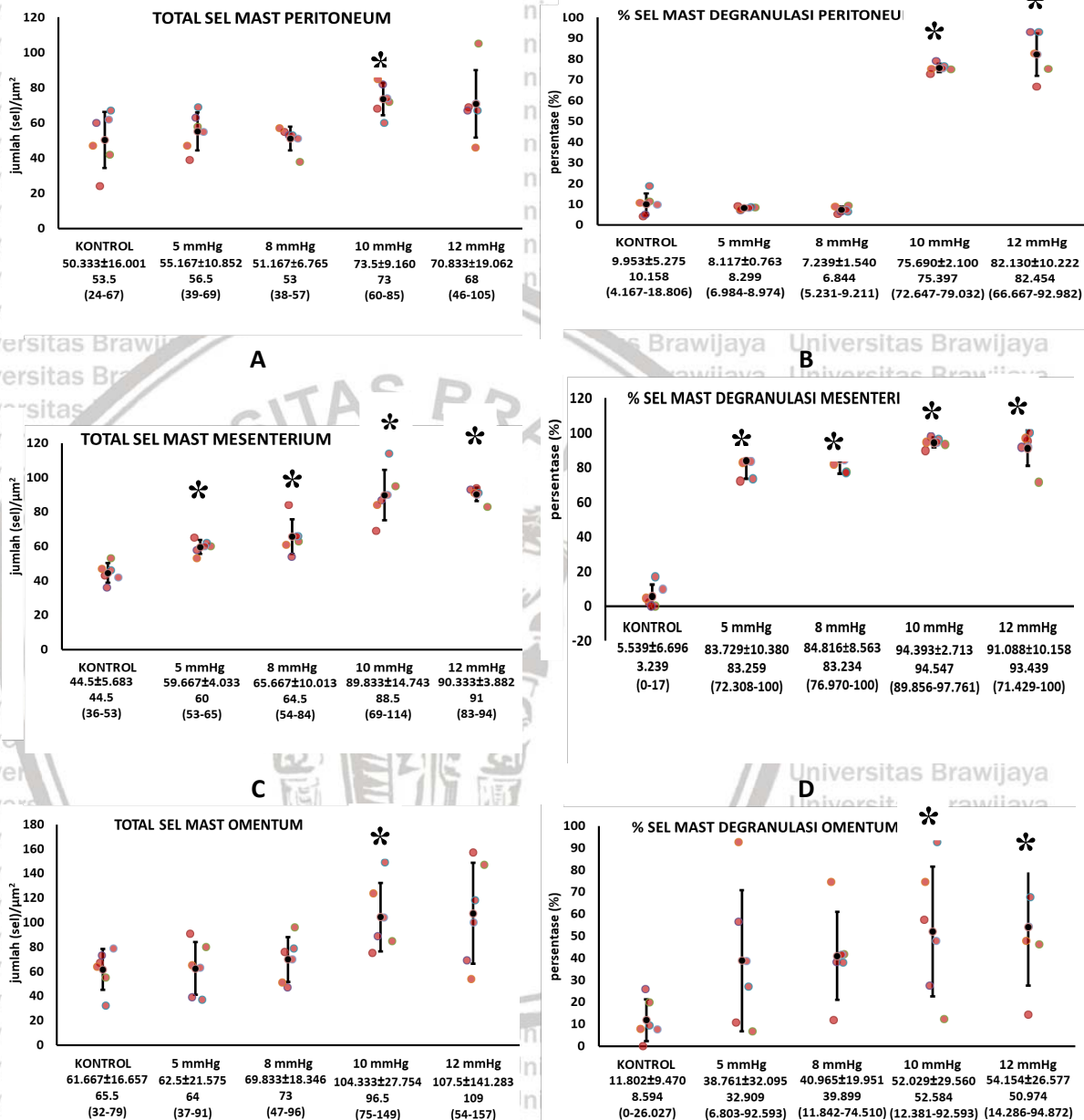
6.6.3a Profil sel mast pasca pemberian tekanan

Pada penelitian ini menguatkan penelitian sebelumnya, terjadi peningkatan jumlah sel mast pasca laparotomi (Hermanowicz *et al*, 2010). Memperdalam temuan penelitian sebelumnya, pada tekanan 10 dan 12 mmHg didapatkan peningkatan jumlah dan degranulasi sel mast pada jaringan omentum dan peritoneum. Didapatkan peningkatan jumlah dan degranulasi sel mast mesenterium mulai tekanan 5 mmHg. Peningkatan degranulasi sel mast disebabkan kerusakan sel akibat stres oksidatif. Oksidan menyebabkan kerusakan dinding sel mast sehingga terjadi degranulasi.

Mastositosis adalah pertumbuhan sel mast yang dipengaruhi oleh lingkungan mikro, ikatan antar sel dan sitokin sebagai *messenger* (Kalesnikoff, 2008, Widjanto, 2012). Aktivasi sel mast diindikasikan melalui beberapa jalur (Widjanto, 2012).

Terbukti peningkatan jumlah dan degranulasi sel mast pada penelitian ini (Grafik 6.3).

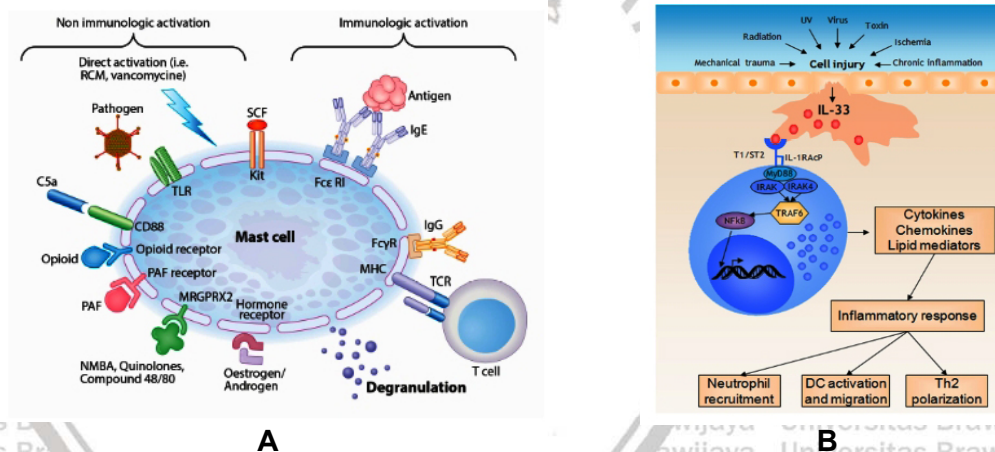
Degranulasi sel mast disebabkan oleh rangsangan imunologis dan non-imunologis. Rangsangan non-imunologis dapat disebabkan beberapa faktor yaitu: SOR, baro-trauma, termo-trauma, inflamasi, dan homeostasis Ca^{2+} . Insuflasi CO_2 mengakibatkan penekanan rongga abdomen dan menyebabkan hipoksia jaringan.



Grafik 6.3

Profil sel mast, Total sel mast jaringan peritoneal N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, * $p < 0.05$ vs kontrol (A), Degranulasi sel mast peritoneum N=6, dengan uji Welch Robust dan Post Hoc Games-Howell, * $p < 0.05$ vs kontrol (B), Total sel mast mesenterium N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * $p < 0.05$ vs kontrol (C), Degranulasi sel mast mesenterium N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, * $p < 0.05$ vs kontrol (D), Total sel mast omentum N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * $p < 0.05$ vs kontrol (E), Degranulasi sel mast omentum N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * $p < 0.05$ vs kontrol (F), kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

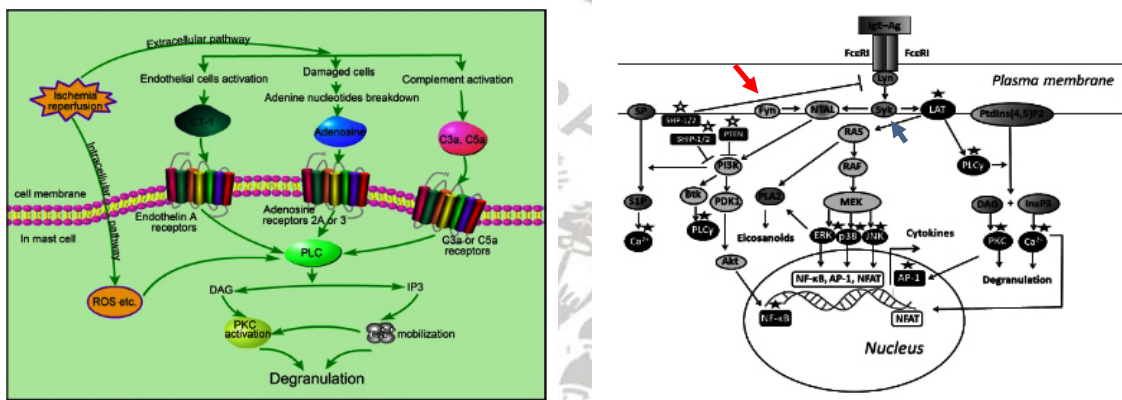
Hipoksia memicu respirasi anaerob sehingga terjadi defisiensi ATP. Kekurangan ATP mengakibatkan gangguan pada kanal membran sel yang tergantung pada ATPase. Hal ini menyebabkan gangguan homeostasis air, ion, dan kerusakan sel. Hipoksia menyebabkan aktivasi molekul C3a dan C5a yang mengaktifkan reseptor *G Protein Couple Receptors* (GPCR) sehingga terjadi degranulasi (Gambar 6.4A) (Spoerl *et al.*, 2017, Krystel-Whittemore *et al.*, 2018). Dengan perantara IL-33 yang disekresi akibat kerusakan sel, memicu degranulasi sel mast setelah terikat dengan reseptor T1/ST2 (Lunderius-Andersson *et al.*, 2012) (Gambar 6.4B).



Gambar 6.4 Aktivasi sel mast akibat rangsangan non imunologis. Degranulasi sel mast terjadi akibat hipoksia jaringan. Melalui aktivasi protein C3a dan C5a pada GPCR (A) (dikutip dari Spoerl *et al.*, 2017). IL-33 yang dihasilkan saat kerusakan sel terikat pada reseptor T1/ST2 dan terjadi aktivitas sel mast (B) (dikutip dari Lunderius-Andersson *et al.*, 2012)

Pembentukan SOR saat desuflasi menyebabkan kerusakan sel melalui mekanisme peroksidasi lipid, peroksidasi protein dan peroksidasi DNA (Sammour, 2011). Sel mast sensitif oleh rangsangan fisik tekanan dan dingin. Penggunaan gas CO₂ yang dingin dengan tekanan tertentu pada laparoskopi terbukti mampu mengaktifkan sel mast. Kadar SOR yang tinggi menyebabkan kerusakan sel pada

struktur DNA, lipid dan protein sehingga terjadi kerusakan sel. SOR menyebabkan perubahan struktur protein kinase Fyn (↑) dan Syk (↑) dan menyebabkan aktivasi sel mast melalui reseptor FcεRI (Gambar 6.5) (Chelombitko *et al.*, 2016). Pada penelitian ini terbukti terjadi peningkatan jumlah sel mast dan degranulasi sel mast akibat insuflasi gas CO₂.



Gambar 6.5

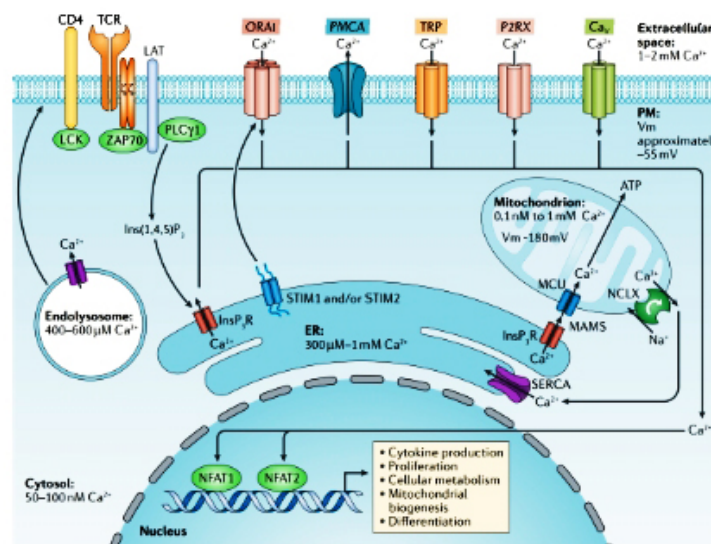
Mekanisme non peroksidasi lipid degranulasi sel mast. Degranulasi sel mast di picu oleh faktor ekstraseluler karena sekresi endothelin-1 (ET-1) dan aktivasi reseptor C3a dan C5a (A) (dikutip dari Yang *et al.*, 2014). Stres oksidatif menyebabkan perubahan protein kinase Fyn (↑) dan Syk (↑) sehingga terjadi gangguan homeostasis Ca²⁺ (B) (dikutip dari Chelombitko *et al.*, 2016)

Degranulasi sel mast terjadi melalui jalur peroksidasi lipid dan non peroksidasi lipid. Kerusakan sel mast akibat cedera reperfusi melalui jalur ekstraseluler dan intraseluler. Jalur ekstraseluler dimediasi oleh reseptor pada permukaan sel mast sedang jalur intraseluler dipicu oleh mediator yang diproduksi sel mast. Jalur ekstraseluler dipicu oleh *breakdown adenine nucleotides* akibat kerusakan sel, Endothelin 1 (ET-1) yang disekresi endotel dan aktivasi reseptor C3a or C5a. Ketiga mekanisme ekstraseluler akan mengaktifkan phospholipase C (PLC). PLC menyebabkan aktivasi protein kinase C (PKC) dan mengakibatkan mobilisasi

Ca^{2+} sehingga terjadi degranulasi. Jalur intra sel SOR secara langsung mengaktifkan PLC dan selanjutnya terjadi degranulasi (Yang *et al.*, 2014).

Beberapa bahan aktif mampu menyebabkan degranulasi sel mast melalui jalur non imunologi. Substance P, sitokin, fragmen complement 3a, 5a dan calcium inophores menyebabkan degranulasi sel mast. Metabolisme Ca^{2+} berperan pada mekanisme degranulasi. Peningkatan kadar Ca^{2+} sitosol menyebabkan degranulasi.

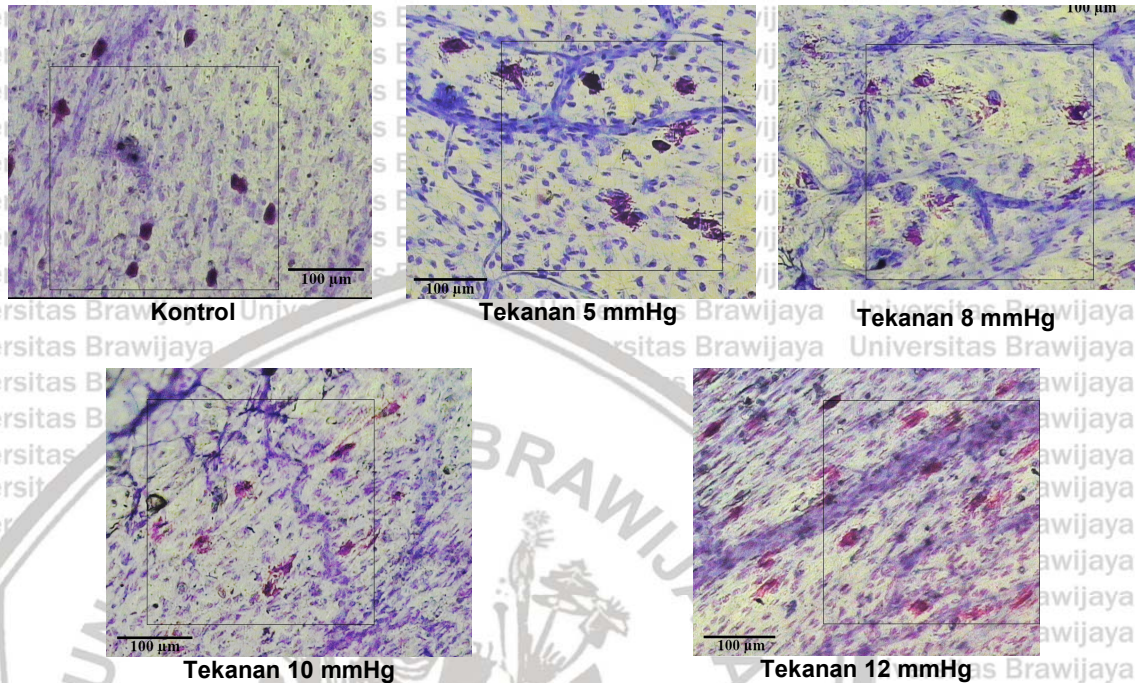
Peningkatan Ca^{2+} sitosol berasal dari ekstraseluler dan intra seluler. Peningkatan Ca^{2+} dari ekstraseluler karena aktivasi kanal Ca^{2+} membran sel. Aktivasi kanal STIM1, ORAI1, CRAC, Fyn kinase, TRPM dan TRPV menyebabkan masuknya Ca^{2+} ekstraseluler kedalam sitosol sehingga terjadi degranulasi (Gambar 6.6). Peningkatan Ca^{2+} dari intra sel berasal dari penyimpanan Ca^{2+} intra sel, reticulum endoplasmic dan mitokondria.



Gambar 6.6 Kanal Ca^{2+} pada sel imun sebagai non eksitabel sel. Sel imun mempunyai distribusi dan pola kanal Ca^{2+} yang sama (dikutip dari Trebak and Kinnet, 2019)

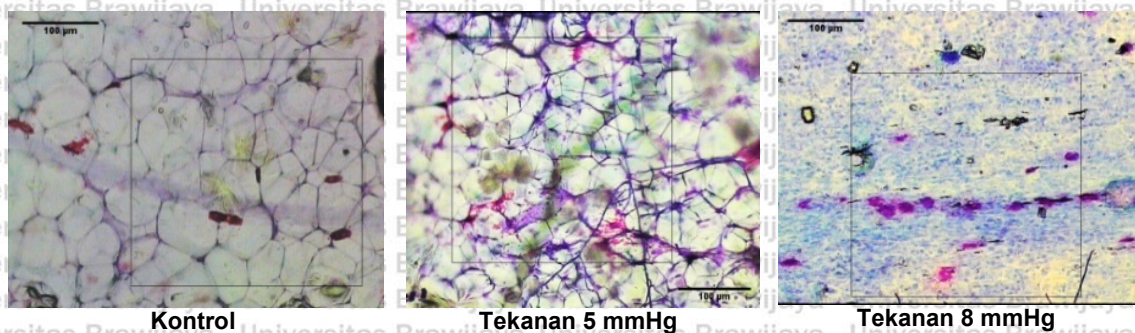
Peningkatan jumlah sel mast berhubungan dengan respon inflamasi akibat kerusakan sel mesotel. Respon inflamasi mencetuskan peningkatan jumlah sel mast, dalam rangka eliminasi sel yang mengalami kerusakan. Peningkatan degranulasi sel mast diduga akibat terganggunya mekanisme homeostasis Ca^{2+} pasca laparoskopi. Sel mast merupakan sel imunologis non eksitabel yang peka terhadap trauma fisik (Bischoff, 2007., Stokes *et al*, 2016). TRPC merupakan kanal Ca^{2+} yang peka terhadap perubahan suhu. CRAC (Yao *et al*, 2014) dan TRPV4 (Shi *et al*, 2008) merupakan *Mechanosensitive (MS) Channel* yang peka terhadap perubahan tekanan pada laparoskopi.

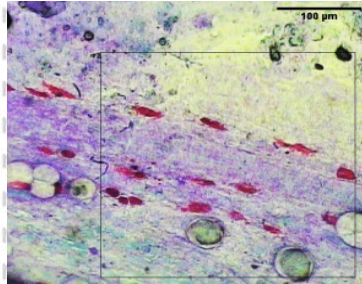
Respon inflamasi sel mast yang berlebihan mengakibatkan kondisi patologis. Saat degranulasi sel mast mengeluarkan mediator inflamasi yaitu: *histamine* dan *tryptase* dan *chymase*. Degranulasi sel mast memicu respon inflamasi dan mengakibatkan pembentukan MES berlebihan. *Tryptase* mengakibatkan degradasi kolagen tipe 4 dan *chymase* mengakibatkan degradasi vitronektin dan fibronectin, enzim yang memicu penebalan MES. Chymase merubah pro-MMP9 menjadi bentuk aktif dan memodulasi penebalan MES (Pejler *et al*, 2010). Tryptase dan chymase mengaktifkan reseptor PAR2 menyebabkan degradasi komponen cell junction yang menyebabkan lepasnya mesotel dari membrana basalis. *Tryptase* menghambat enzim fibrinolysis (tPA dan uPA) sehingga terjadi peningkatan fibrin. Histamine menyebabkan vasodilatasi vascular dan meningkatkan cell adhesion molekul, sehingga memodulasi migrasi dan proliferasi fibroblas (de Souza Jr *et al*, 2015).



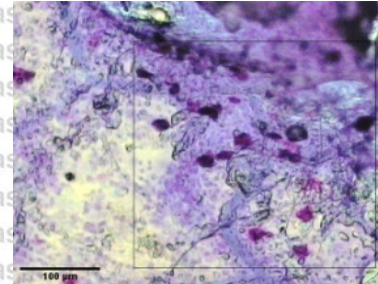
Gambar 6.7 Profil sel mast mesenterium pada pemberian tekanan. Terdapat peningkatan jumlah dan degranulasi sel mast mesenterium pasca pemberian tekanan.

Degranulasi sel mast dan lepasnya mesotel menghambat proses fibrinolisis dan memicu pembentukan fibrin (Hermanowick *et al.*, 2010, Bi *et al.*, 2017). Mediator sel mast memicu adesi intra abdominal melalui beberapa mekanisme. Degranulasi sel mast menghasilkan SOR yang menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskuler dan memicu respon inflamasi. Tryptase dan chymase menghambat proses fibrinolisis dan TGF- β meningkatkan ketebalan MES (Bi *et al.*, 2017).





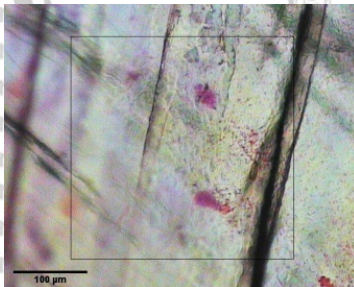
Tekanan 10 mmHg



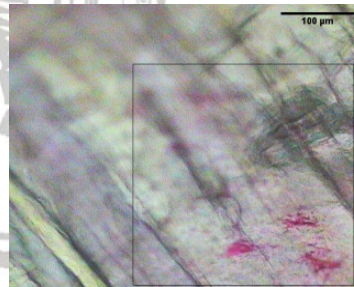
Tekanan 12 mmHg

Gambar 6.8 Profil sel mast omentum pada pemberian tekanan. Terdapat peningkatan jumlah dan degranulasi sel mast omentum pasca pemberian tekanan.

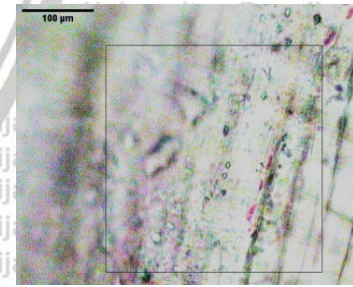
Respon inflamasi terjadi vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas pembuluh darah, mekanisme ini menyebabkan kemotaksis sel mast ke area trauma (Hermanowicz *et al.*, 2010). Mekanisme kemotaksis menyebabkan adanya sel mast pada cairan peritoneal. Mediator inflamasi yang dilepaskan memicu aktivasi sel mast (Berdun *et al.*, 2015). Mesenterium adalah jaringan yang lebih banyak vaskuler, faktor ini diduga menjadi penyebab peningkatan sel mast mesenterium mulai tekanan 5 mmHg.



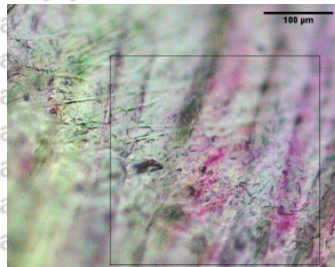
Kontrol



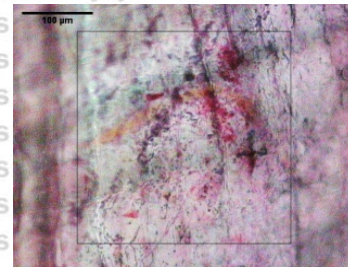
Tekanan 5 mmHg



Tekanan 8 mmHg



Tekanan 10 mmHg



Tekanan 12 mmHg

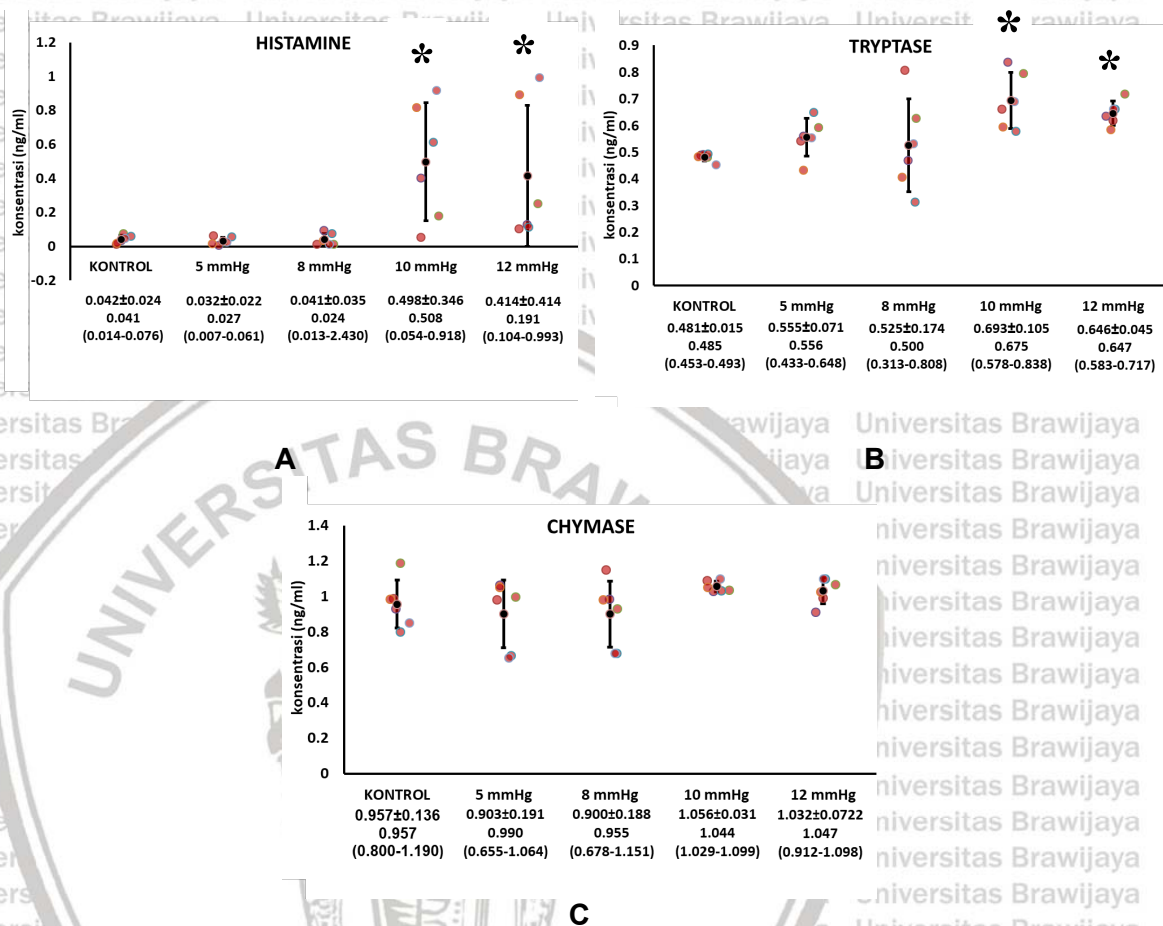
Gambar 6.9 Profil sel mast peritoneum dengan pemberian tekanan. Terjadi peningkatan jumlah dan degranulasi sel mast peritoneum pasca pemberian tekanan.

Omentum memiliki keistimewaan karena memiliki *milky-spot*. Merupakan struktur *peculiar adipose-lymphomyeloid-mastocytic* terdiri atas jaringan lemak, limfomioid dan sel mast. Jaringan omentum menjadi aktif pada respon inflamasi sehingga dijumpai sel limfoblas dan imunoblas. *Milky spot* omentum merupakan organ imunologi utama rongga abdomen. Omentum merupakan sirkulasi sel radang dan *non-self scavenging* (Panasco *et al.*, 2010). Fungsi yang spesifik ini menyebabkan jumlah degranulasi sel mast masih tetap tinggi selama *non-self* masih belum tereliminasi sempurna.

6.4.3b Profil kadar *histamine*, *tryptase* dan *chymase* cairan peritoneal

Mendukung dan memperluas penelitian sebelumnya (Pados *et al.*, 2012, Panula *et al.*, 2015) terbukti terjadi peningkatan kadar *histamine* cairan peritoneal pasca laparoskopi pada tekanan 10 dan 12 mmHg. Sesuai dengan terjadinya degranulasi sel mast pada tekanan 10 dan 12 mmHg. *Histamine* merupakan mediator utama pada sel mast (Grafik 6.4A).

Mendukung dan memperluas penelitian sebelumnya (Berdun *et al.*, 2015), pada penelitian ini terbukti peningkatan *tryptase* cairan peritoneal. *Tryptase* jaringan ikat merupakan *serine protease* yang banyak dihasilkan pada sel mast jaringan ikat. Peningkatan *tryptase* sesuai dengan peningkatan degranulasi sel mast jaringan ikat pada omentum, mesenterium dan peritoneum yang mengandung sel mast jaringan ikat (Grafik 6.4B).

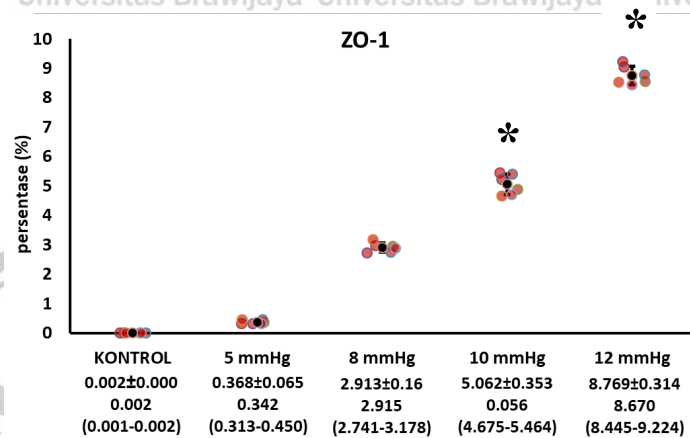


Grafik 6.4

Profil kadar *histamine* N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * $p < 0.05$ vs kontrol (A), *tryptase* N=6, dengan uji Welch Robust Tests of Equality of Means dan Post Hoc Games-Howell, * $p < 0.05$ vs kontrol (B) dan *chymase* N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan Uji post Hoc Mann Whitney, $p > 0.05$ vs kontrol (C) cairan peritoneal kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg, dan tekanan 12 mmHg.

Berbeda pada penelitian sebelumnya yang dijumpai peningkatan kadar *chymase* pasca laparoskopi (Berdun *et al*, 2015). Pada penelitian ini tidak didapatkan peningkatan bermakna kadar *chymase*. Diduga populasi sel mast *chymase* tidak sebanyak sel mast *tryptase*. Perbedaan populasi sel mast *chymase* dan *tryptase* diduga berhubungan dengan trauma yang dihasilkan pada operasi (Grafik 6.4C).

6.6.4 Profil ekspresi ZO-1 pasca pemberian tekanan

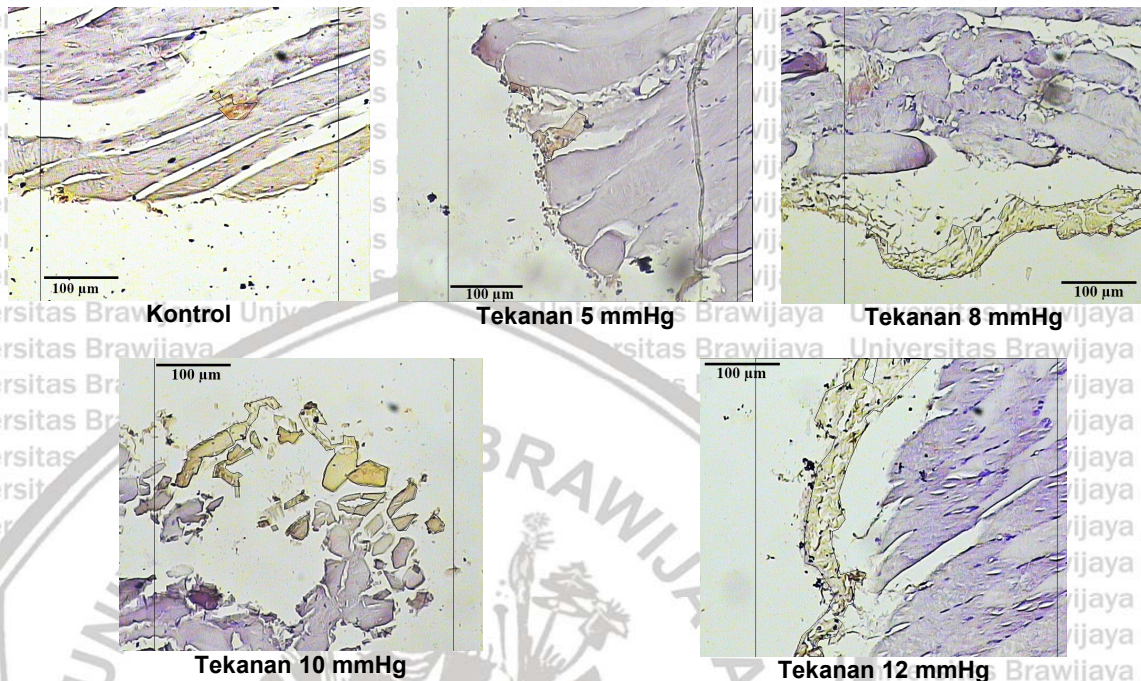


Grafik 6.5

Profil ekspresi ZO-1 jaringan peritoneal kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg, N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, * $p < 0.05$ vs kontrol

Mesotelial merupakan kesatuan sel mesotel terikat pada membrana-basalis. Sisi apex bebas, sisi lateral membentuk ikatan sel dan bagian basal terikat pada membrana basalis. Protein *Zone-Occludin-1* (ZO-1) menyusun di ketiga *tight junction*, *desmosome*, *gap junction* dan *adherent junction*.

Perubahan struktur ZO-1 akan mengakibatkan lepasnya ikatan antar sel (Giepmans, 2004). Cedera reperfusi dan oksidan yang dihasilkan akan merubah susunan *cell junction* sehingga terjadi lepasnya ikatan antar sel. Stres oksidatif menyebabkan kerusakan sel, sehingga ZO-1 terekspresi ekstra seluler. Semakin banyak sel yang rusak, ekspresi ZO-1 ekstra sel akan meningkat. Terjadi peningkatan ekspresi ZO-1 pada tekanan 10 mmHg secara bermakna (Grafik 6.5 dan Gambar 6.10).

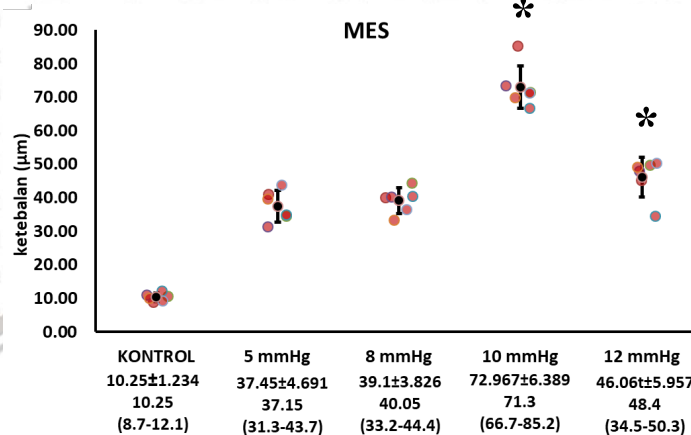


Gambar 6.10 Ekspresi ZO-1 pada pemberian tekanan. Semakin tinggi tekanan, insuflasi menyebabkan peningkatan ekspresi ZO-1. Terjadi peningkatan lepasnya ikatan antar sel mesotel

Pada penelitian ini terbukti terjadi peningkatan ekspresi ZO-1 sesuai dengan tekanan dan semakin tinggi tekanan pneumoperitoneumnya semakin luas juga persentase area yang terwarnai ZO-1 sebanding dengan peningkatan mediator inflamasi yaitu: TGF- β , *histamine*, *tryptase*, *chymase*, dan penanda stres oksidatif.

6.6.5 Profil ketebalan MES pasca pemberian tekanan

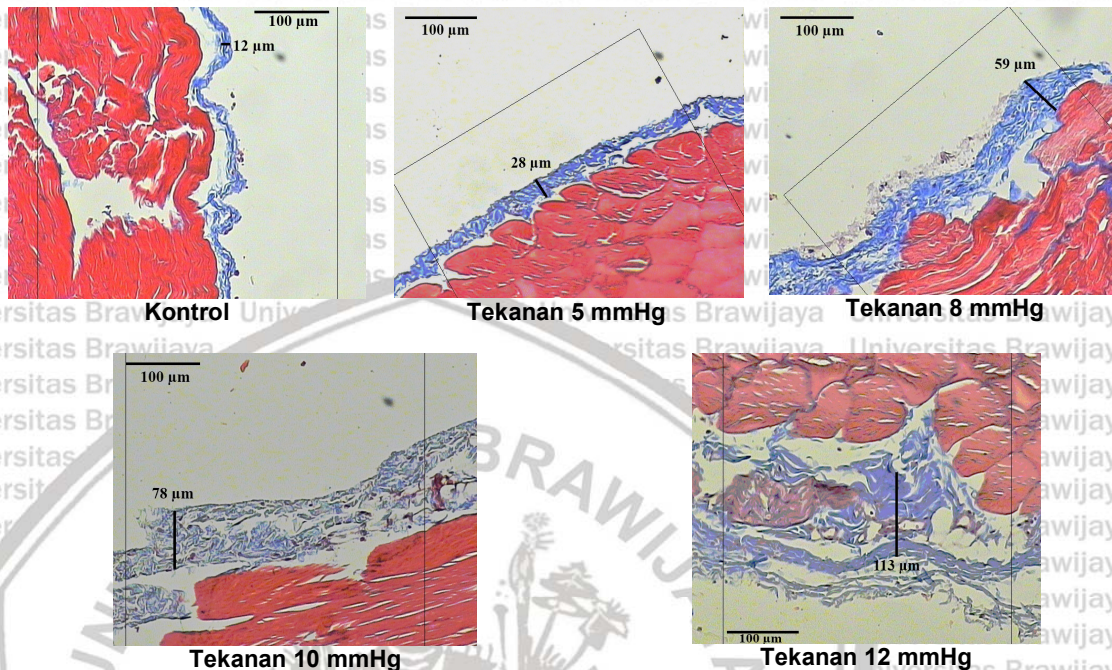
Peritoneum visceral terdiri dari satu lapis mesotelium dan terdapat jaringan ikat longgar yang terdiri dari fibroblas, serat kolagen, leukosit, mikrovaskular dan limfatik (Di Paolo, 1990.; Krediet, 2004). Permukaan peritoneum meminimalisasi gesekan pada permukaan organ (Fortin *et al.*, 2014).



Grafik 6.6

Profil ketebalan MES jaringan peritoneal N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, * $p < 0.05$ vs kontrol, kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

Mendukung dan memperluas peneliti sebelumnya (Molinas *et al.*, 2010, Wilson, 2018) bahwa laparoskopi menyebabkan perubahan pada MES. Penelitian ini membuktikan pada tekanan 10 dan 12 mmHg telah terjadi penebalan MES secara bermakna (Grafik 6.6). Stres oksidatif yang terjadi pada laparoskopi menyebabkan kerusakan jaringan mesotelial, sehingga terpapar membrana basalis yang memicu perubahan MES. Gas CO₂ yang kering dan dingin menyebabkan penguapan MES dan diduga menyebabkan perubahan gen yang memicu penebalan MES. Kerusakan jaringan mesotelial memicu respon inflamasi dengan terjadi peningkatan kadar TGF- β . Peningkatan kadar TGF- β mempunyai peranan pada pembentukan dan ketebalan MES. TGF- β menghambat enzim fibrinolitik yang menyebabkan penebalan MES. Stres oksidatif dan TGF- β memicu peningkatan fibroblas sehingga terjadi penebalan MES (Gambar 6.11 dan Grafik 6.6)



Gambar 6.11 Pengaruh pemberian tekanan pada ketebalan MES. Peningkatan tekanan insuflasi menyebabkan peningkatan ketebalan MES

Berbeda dengan penelitian sebelumnya (Saed *and* Diamond, 2009., Arung *et al.*, 2011), pada penelitian ini tidak dijumpai peningkatan secara bermakna jumlah fibroblast, walaupun didapatkan penongkatan TGF- β dan penebalan MES.

Peningkatan fibroblas ditentukan oleh *growth factor* dan gen. TGF- β memicu terjadinya fibrosis melalui jalur pensinyalan SMAD sehingga terbentuk gen target

yang memicu transformasi fibroblas dan menyebabkan penebalan MES. SOR berperan pada gangguan gen jalur pensinyalan ini. TGF- β juga mengaktifkan transkripsi NRF2 sebagai efek proteksi bila proses transformasi berlebihan.

Pembentukan MES ditentukan banyak faktor dan merupakan struktur yang dinamis.

Struktur MES Bersifat spesifik sesuai dengan organnya. MES merupakan struktur 3 dimensi terdiri dari kolagen, enzim, glikoprotein (proteoglikan) dan vesikel ekstraseluler (DNA, RNA dan *Matrix-bound nanovesicles/MBVs*). Fibroblas

merupakan sel pada MES yang memproduksi kolagen (Cole *et al.*, 2018). Trauma laparoskopi mengakibatkan resultan efek terjadi peningkatan kerusakan mesotel dan penebalan MES, tetapi tidak menyebabkan peningkatan fibroblas.

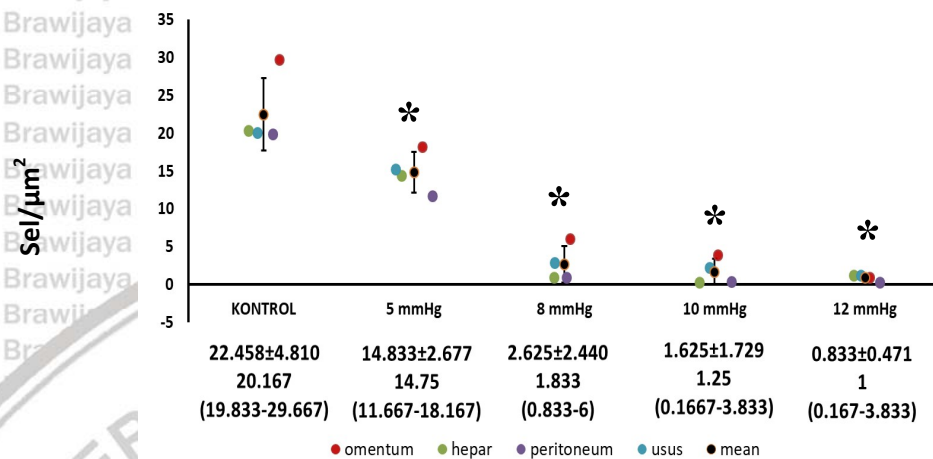
Struktur jaringan peritoneum disusun oleh satu lapis sel mesotelial yang melekat pada membrana basalis. Struktur pendukung dibawahnya terdiri dari MES, jaringan ikat, fibroblas, pembuluh darah dan limfatik. Pada permukaan terdapat struktur lubrikan untuk melindungi dari gesekan antar organ. Jaringan mesotelial bertanggung jawab pada proses homeostasis dengan mensekresi sitokin modulator inflamasi, kemokin, *growth factor* dan pembentukan MES. Proses penyembuhan ditentukan oleh keseimbangan proses koagulasi dan fibrinolisis. Laparoskopi menyebabkan lepasnya sel mesotel dari membrana basalis dan memicu gangguan proses fibrinolisis. Area denudasi mengakibatkan sekresi tPA dan uPA menurun sehingga peran PAI lebih dominan. Gangguan sekresi PA menyebabkan pembentukan fibrin secara berlebihan. Lepasnya mesotel memicu respon inflamasi sehingga sekresi *growth factor*, *adhesion molecule*, sitokin dan TGF- β lebih tinggi. Dengan meningkatnya respon inflamasi akan memicu pembentukan MES. TGF- β memicu proliferasi, deferensiasi, migrasi dan pembentukan MES kearah fibrosis (Mutsear *et al.*, 2004). Dapat disimpulkan peningkatan TGF- β penelitian ini lebih dominan pada gangguan proses fibrinolisis dibanding transformasi mesotel menjadi fibroblas. Peran kerusakan mesotel lebih dominan dibanding peran fibroblas pada pembentukan MES pada proses penyembuhan cedera rongga abdomen (Yung and Chang, 2011; Mutsear *et al.*, 2015).

Jaringan mesotelial mempunyai peranan penting pada eksistensi peritoneum. Jaringan mesotelial memproduksi *growth factor*, sitokin, protease, dan matrik protein untuk mempertahankan fungsinya. Agar regenerasi berjalan dengan baik, jaringan mesotelial mempertahankan keseimbangan proses koagulasi dan fibrinolysis agar tidak terjadi fibrosis. Jaringan mesotelial memproduksi Plasminogen Activator (PA) agar mekanisme proses fibronolisis berjalan dengan baik. Laparoskopi menyebabkan lepasnya sel mesotel dari membrana basalis, sehingga proses fibrinolisis akan terganggu. Hal ini akan memicu penebalan MES dan mengarah pada fibrosis (Yung and Chang, 2012).

6.6.6 Perbedaan Mikroskopis kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

Mendukung penelitian sebelumnya, laparoskopi menyebabkan lepasnya sel mesotel dari membrana basalis (Peng *et al.*, 2009). Tekanan insuflasi menyebabkan cedera reperfusi dan stres oksidatif. Keadaan ini memicu lepasnya sel mesotel dari membrana basalis dan kerusakan sel mesotel. Pada penelitian ini terbukti secara bermakna terjadi penurunan jumlah mesotel yang intak pada membrana basalis.

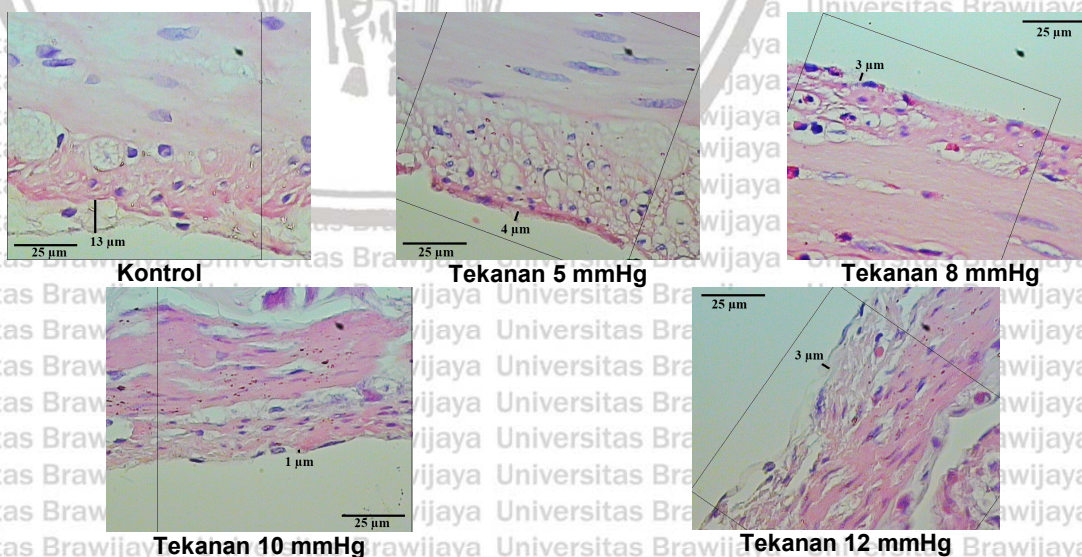
MESOTEL



Grafik 6.7

Profil sel mesotel N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, * $p < 0.05$ vs kontrol, kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

Evaluasi pada peritoneum parietal dan visceral dijumpai penurunan jumlah mesotel yang intact secara bermakna pada omentum, hepar, peritoneum dan usus. Dampak cedera akibat tekanan pada jaringan mesotelial, meluas hingga seluruh rongga abdomen.



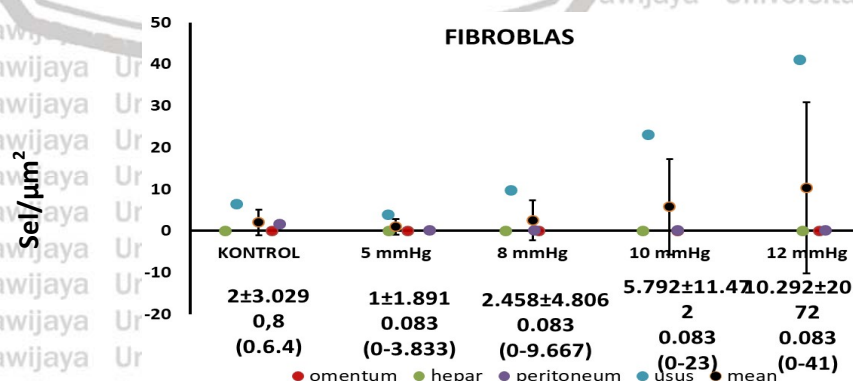
Gambar 6.12

Perubahan mikroskopis Usus setelah pemberian tekanan. Terjadi peningkatan fibroblas, PMN, vaskuler dan penurunan mesotel dan ketebalan glikokalik pasca pemberian tekanan.

Berbeda dengan penelitian sebelumnya (Saed *and* Diamond, 2009., Arung *et al.*, 2011), pada penelitian ini tidak dijumpai peningkatan secara bermakna jumlah fibroblas. Peningkatan fibroblas ditentukan oleh *growth factor* dan gen. Walaupun pada penelitian ini didapatkan peningkatan TGF- β dan penebalan MES secara bermakna tetapi tidak didapatkan peningkatan sel fibroblas. Diduga stress oksidatif menyebabkan gangguan pada gen pemicu fibroblas.

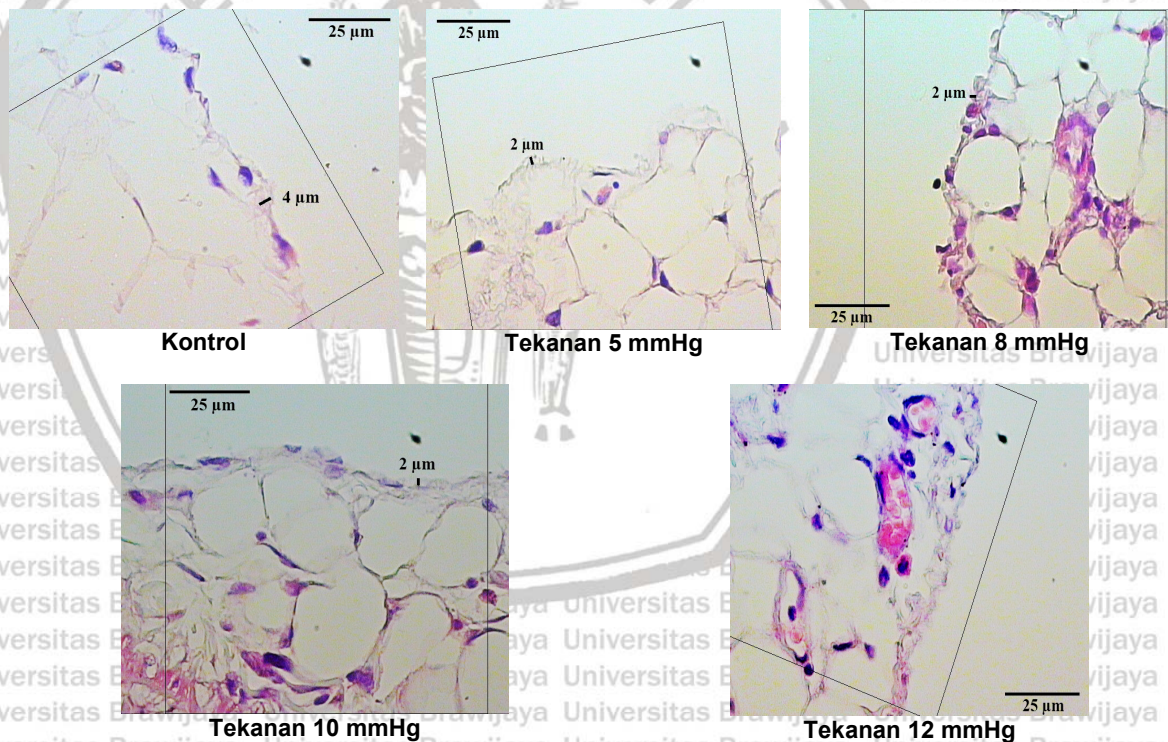
Kerusakan sel pasca laparoskopi diindikasikan melalui mekanisme langsung dan tidak langsung. Secara langsung stres mekanis menyebabkan gangguan bioenergi mitokondria dan calcium homeostasis yang memicu apoptosis atau nekrosis sel. Secara tidak langsung akibat pembentukan SOR yang berlebihan. SOR memicu kerusakan sel dan terjadi kerusakan DNA sehingga terjadi pelepasan gen nekrosis atau apoptosis, kerusakan membran sel melalui peroksidase lipid dan kerusakan protein melalui *protein carbonylation* (Sack *et al.*, 2017, Singh *et al.*, 2019).

Kerusakan sel mesotel dibuktikan dengan menurunnya jumlah sel mesotel yang intak pada membrana basalis. Luruhnya sel mesotel menyebabkan terpaparnya membrana basalis dan memicu respon inflamasi pada proses penyembuhan.



Grafik 6.8 Profil sel fibroblas, N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, $p>0.05$ vs kontrol, kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

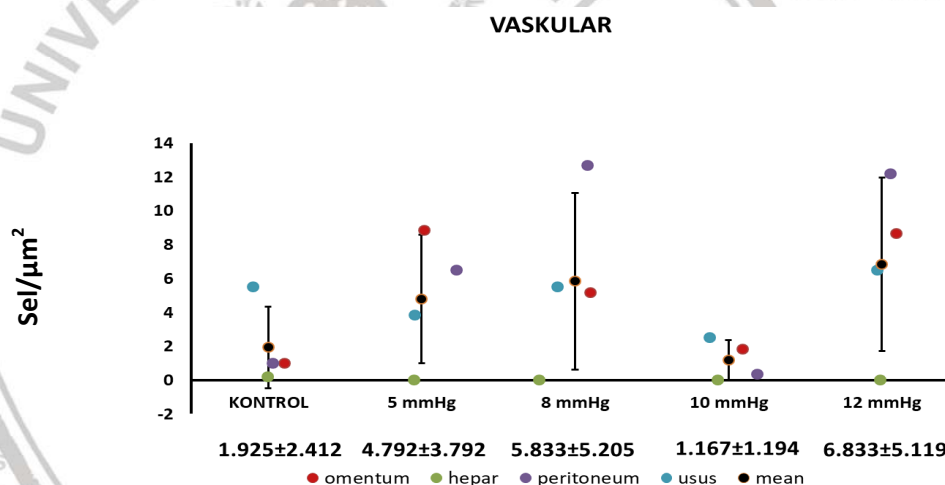
Pada penelitian ini didapatkan peningkatan jumlah fibroblas lebih tinggi pada usus. Penemuan ini diduga berhubungan dengan perbedaan kecepatan pertumbuhan mesotel tiap organ pasca trauma. Kecepatan pembentukan mesotel di usus paling lambat (Rafferty, 1973). Pembentukan fibroblas merupakan mekanisme homeostasis peritoneum. Fibroblas berasal dari transformasi jaringan mesotel dan makrofage, dan fibroblas akan bertransformasi kembali menjadi mesotel (Liu et al., 2015, Lua and Asahina, 2016). Diduga transformasi fibroblas ke mesotel pada usus terjadi paling lambat diantara ke 4 jaringan.



Gambar 6.13 Perubahan mikroskopis Omentum setelah pemberian tekanan. Terjadi penurunan mesotel omentum, peningkatan PMN dan vaskuler pasca pemberian tekanan.

Tekanan 5-8 mmHg pada tikus menyebabkan perubahan fisiologis yang setara pada tekanan 10-15 mmHg pada manusia (Avital et al, 2006). Intra Abdominal

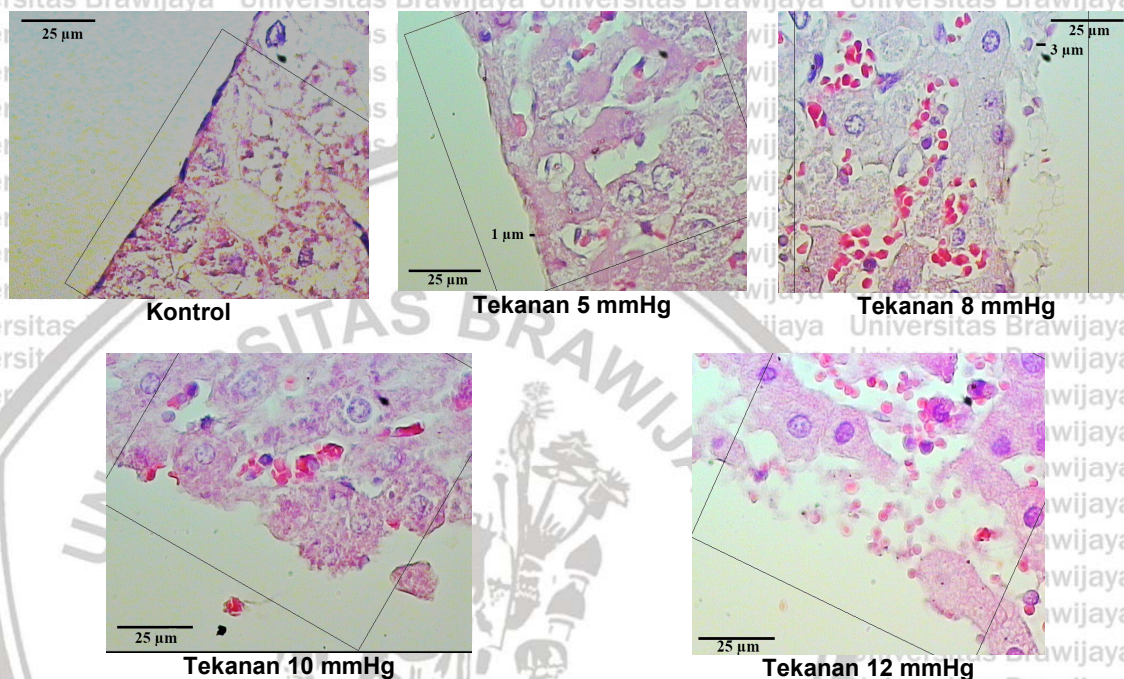
Hypertensi (IAH) pada manusia bila tekanan >12 mmHg. *Abdominal Compartment Syndrome* (ACS) bila tekanan >20 mmHg berpotensi kegagalan/disfungsi organ (Shah *et al.*, 2010, Tharayil *et al.*, 2017) atau perubahan mikroskopis (Kirkpatrick *et al.*, 2017, Lima *et al.*, 2017). Penurunan sirkulasi akibat insuflasi disebabkan peningkatan retensi vaskuler (keseimbangan Hagen-Poiseuille) dan mencetuskan sekresi *katekolamin*. Hal ini menyebabkan vasokonstriksi vaskular (Sodha *et al.*, 2015). Insuflasi berkepanjangan menyebabkan vasodilatasi akibat efek hiperkarbia (Neuhaus *et al.*, 2001, Sodha *et al.*, 2015).



Grafik 6.9 Profil vascular, N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, $p>0.05$ vs kontrol, kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

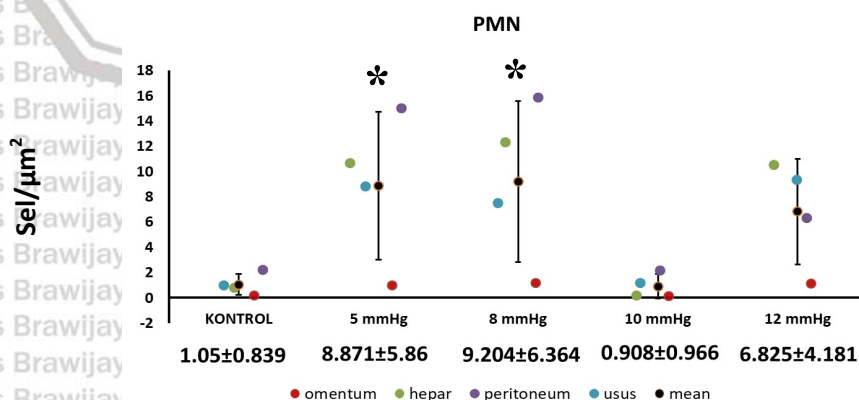
Pada penelitian ini tidak didapatkan perbedaan bermakna jumlah vaskuler pasca laparoscopi. Terjadi peningkatan jumlah vaskuler pada tekanan 5, 8 dan 12 mmHg. Terjadi penurunan jumlah vaskuler pada tekanan 10 mmHg. Pada tekanan 10 mmHg atau lebih menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah, diduga efek *katekolamine* lebih dominan dari efek *histamine*. Vasodilatasi vaskuler pada tekanan 12 mmHg diduga disebabkan efek *histamine* dan hypercarbia berkepanjangan akibat

paparan CO₂ lebih dominan dari efek *katekolamine*, sehingga terjadi vasodilatasi kembali pada tekanan 12 mmHg.



Gambar 6.14

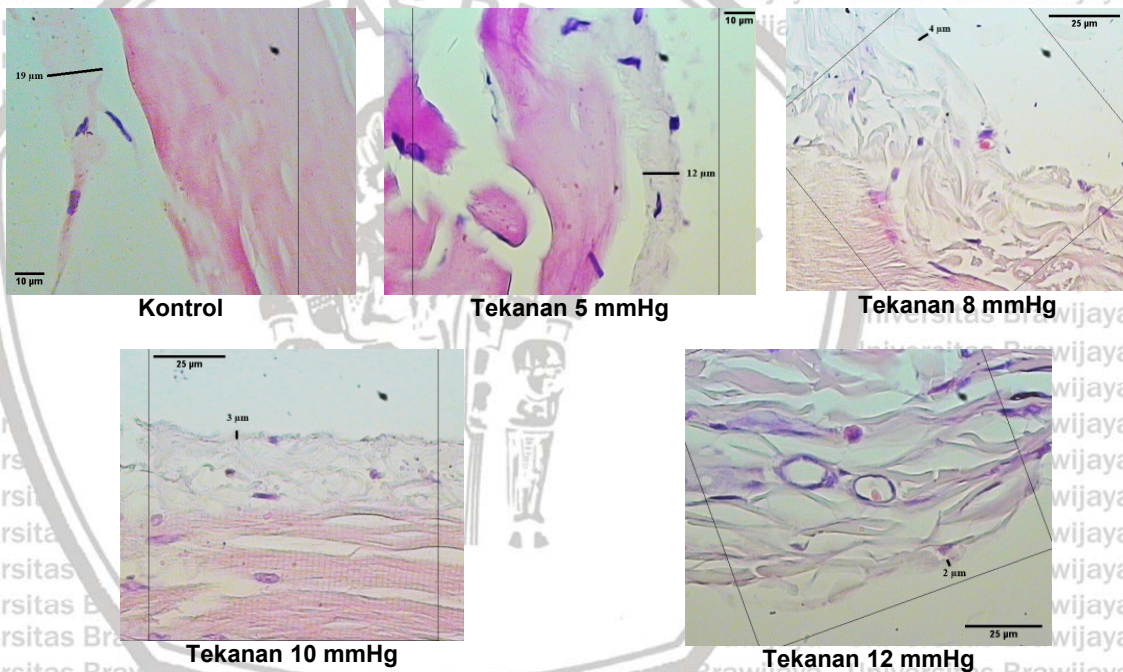
Perubahan mikroskopis Hepar setelah pemberian tekanan. Terjadi penurunan mesotel dan ketebalan glikokalik, peningkatan PMN dan vaskuler pasca pemberian tekanan



Grafik 6.10

Profil sel PMN, N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * p<0.05 vs kontrol. kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

Didapatkan temuan peningkatan jumlah PMN secara bermakna pada tekanan 5 dan 8 mmHg, menunjukkan bahwa tekanan 5 mmHg sudah menyebabkan kerusakan sel mesotel yang memicu respon inflamasi. Respon inflamasi ditandai dengan peningkatan jumlah PMN pada intra vaskuler. Penurunan jumlah PMN disebabkan terjadinya vaskonstriksi pada tekanan 10 mmHg, sehingga jumlah PMN menurun mengikuti vaskuler.

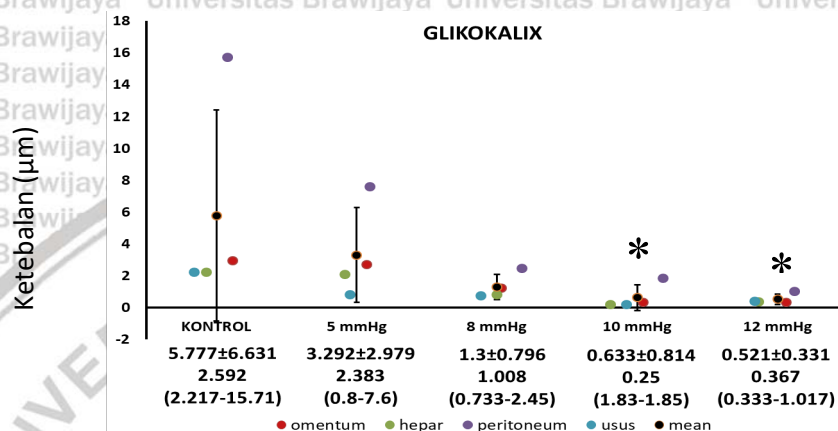


Gambar 6.15 Perubahan mikroskopis Peritoneum setelah pemberian tekanan. Terjadi penurunan mesotel dan penebalan glikoklaik, peningkatan vaskuler, fibroblas dan PMN pasca pemberian tekanan.

Glikokalik merupakan lapisan diatas permukaan mesotel, merupakan pelindung dan melindungi gesekan antar organ dalam rongga intra abdominal.

Glikokalik dihasilkan oleh sel mesotel. Pada penelitian ini didapat penurunan ketebalan glikokalik pada tekanan 10 dan 12 mmHg. Stres oksidatif akibat tekanan

memicu kerusakan sel mesotel, menyebabkan penurunan ketebalan glikokalik secara signifikan.



Grafik 6.11 Profil ketebalan Glikokalik, N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, * $p < 0.05$ vs kontrol, kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

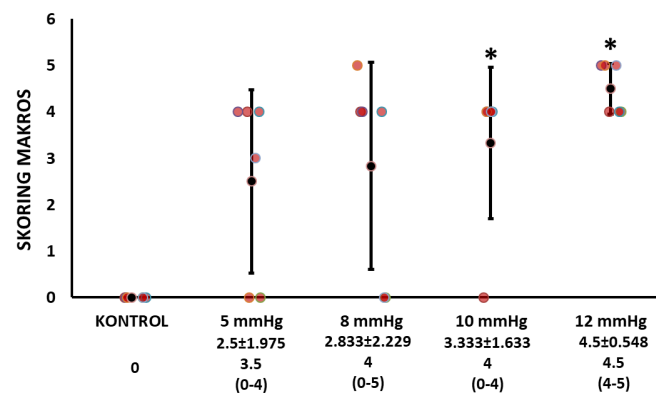
6.6.7 Profil skoring adesi makroskopis pasca pemberian tekanan.

Mendukung dan memperdalam penelitian sebelumnya laparoskopi menyebabkan adesi intra-abdominal (Molinas *et al.*, 2000). Penelitian ini terbukti terdapat perbedaan bermakna pada tekanan 10 mmHg (Grafik 6.12).

Iskemia, trauma termal akibat penggunaan gas CO₂ (dingin dan kelembaban rendah) dan trauma mekanik (tekanan insuflasi) memicu kerusakan sel mesotel dan residen sel termasuk sel mast (Yilmaz *et al.*, 2005). Kerusakan mesotel memicu respon inflamasi dan mengakibatkan perubahan struktur MES yang memicu fibrosis.

Perubahan struktur MES juga memicu respon inflamasi, sehingga terjadi vasodilatasi vaskuler dan meningkatkan molekul adesi. TGF- β meningkatkan aktivitas PAI dan menurunkan aktivitas tPA dan uPA menyebabkan gangguan proses fibrinolisis (Molinas and Koninckx, 2000). Peningkatan skoring adesi intra abdominal terjadi

pada tekanan 10 mmHg membuktikan bahwa penyebab adesi intra abdominal pasca laparoskopi merupakan resultan multi-faktor. Tekanan 10 mmHg merupakan tekanan yang menyebabkan cedera reperfusi dan terjadi stres oksidatif. Kerusakan jaringan mesotelial akibat stres oksidatif memicu respon inflamasi dan degranulasi sel mast. Mediator inflamasi yang dikeluarkan oleh sel mast, khususnya *histamine* dan *tryptase*, memicu terjadinya adesi intra abdominal. Kerusakan jaringan mesotelial dibuktikan dengan meningkatnya sel mesotel yang lepas dari membrana basalis dan ekspresi ZO-1. Peningkatan TGF- β pada laparoskopi menyebabkan penebalan MES yang menyebabkan adesi.

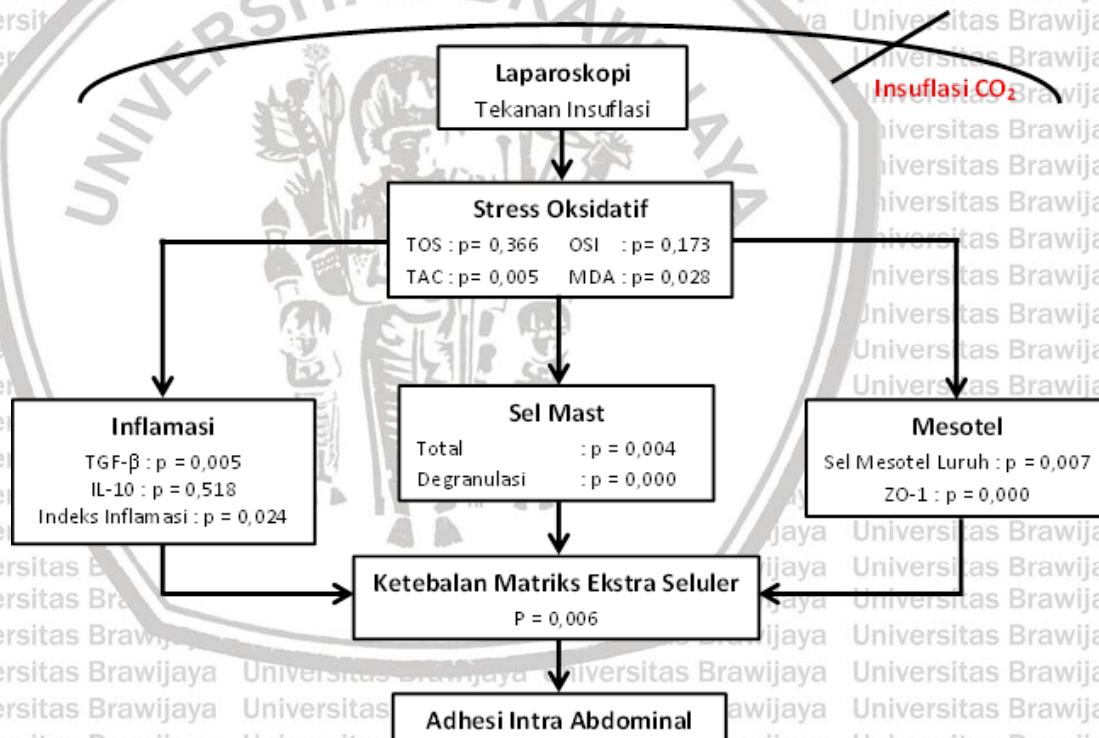


Grafik 6.12 Profil Skoring makrokopis adesi intra abdominal kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg. N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, * $p < 0.05$ vs kontrol

Pengaruh tekanan gas CO₂ pada 10 mmHg berpotensi menyebabkan iskemia rongga, cedera reperfusi, stres osidatif, inflamasi dan degranulasi sel mast. Faktor tersebut merupakan patomekanisme terjadinya adesi pasca laparoskopi (Molinas and Koninckx, 2000., Arung et al., 2011., Coccolini et al., 2013).

ANALISIS REGRESI LINIER BIVARIAT

Untuk menilai pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat, dilakukan uji regresi linier bivariat menggunakan nilai signifikansi $p < 0,05$. Variabel bebas adalah stres oksidatif (TOS, TAC, OSI dan MDA), inflamasi (TGF- β , IL-10 dan indeks inflamasi), sel mast (total sel mast dan degranulasi sel mast), mesotel (sel mesotel luruh, ZO-1) dan ketebalan matriks ekstra seluler terhadap variabel terikat adhesi intra abdominal.



Berdasarkan hasil analisis menunjukkan, nilai total sel mast ($p=0,004$), degranulasi sel mast ($p=0,000$), sel mesotel luruh ($p=0,007$), ZO-1 ($p=0,000$), ketebalan matriks ekstraseluler ($p=0,006$), TGF- β ($0,005$), indeks inflamasi ($p=0,024$), TAC ($p=0,005$), MDA ($p=0,028$) memiliki pengaruh terhadap adhesi intra abdomen.

Sedangkan nilai IL-10 ($p=0,518$), TOS ($p=0,366$) dan OSI ($p=0,173$) tidak memiliki pengaruh terhadap adhesi intra abdomen. Disimpulkan bahwa sel mast, mesotel dan ketebalan matriks ekstra seluler memiliki pengaruh paling besar terhadap adhesi intra abdominal.



PENELITIAN TAHAP 3

7.1 Pendahuluan

Laparoskopi menggantikan laparotomi karena memiliki banyak keuntungan (Cekik *et al.*, 2014). Insuflasi CO₂ pada tekanan tertentu menyebabkan cedera reperfusi dan mencetuskan stres oksidatif (Baysal *et al.*, 2009). Insuflasi menyebabkan lepasnya sel mesotel dan terpaparnya membrana basalis sehingga mencetuskan respon inflamasi (Davey *et al.*, 2013).

Sel mast merupakan residen sel rongga abdomen (Sammour *et al.*, 2010) dengan sifat khususnya diduga mempunyai peranan penting pada mekanisme adesi (de Souza Junior *et al.*, 2015). Cedera reperfusi dan stres oksidatif menyebabkan degranulasi sel mast dan diduga memicu adesi intra-abdominal.

Ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) terbukti mempunyai kemampuan modulator stres oksidatif (Pratiwi and Isnindar, 2013., Kuntorini, 2014) dan modulator inflamasi yang poten (Han *et al.*, 2008, Song *et al.*, 2009).

Berdasarkan penelitian sebelumnya menarik untuk dilakukan penelitian potensi bawang Dayak menurunkan skoring adesi intra abdominal melalui modulasi stres oksidatif, modulasi inflamasi dan mencegah peningkatan jumlah dan degranulasi sel mast.

7.2 Perumusan masalah penelitian tahap 3

7.2.1 Masalah Penelitian Tahap 3

Apakah terdapat perbedaan derajat adesi intra abdominal kelompok kontrol (dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi 10 mmHg) dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB.

7.2.1 Sub Masalah Penelitian tahap 3

1. Apakah terdapat perbedaan kadar TGF β , IL-10 dan rasio TGF- β /IL-10 cairan pertoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB?
2. Apakah terdapat perbedaan kadar Hidrogen peroksida/ *Total Oxidant Status* (TOS), *Total Antioxidant Capacity* (TAC), Oksidatif Stres Indeks (OSI) cairan peritoneal dan kadar MDA jaringan peritoneum pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB?

3. Apakah terdapat perbedaan jumlah sel mast dan persentase degranulasi sel mast, kadar *histamine*, *tryptase* dan *chymase* cairan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB?
4. Apakah terdapat perbedaan ekspresi *zone occludin 1* (ZO-1) jaringan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB?
5. Apakah terdapat perbedaan ketebalan matrik ekstra seluler (MES) pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB?
6. Apakah terdapat perbedaan skoring adesi intra-abdominal dan perubahan mikroskopis kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi)

bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB?

7.3 Tujuan Penelitian tahap 3

73.1 Tujuan Umum Penelitian tahap 3

Secara umum penelitian tahap bertujuan memperoleh bukti:

Apakah terdapat perbedaan derajat adesi intra abdominal kelompok kontrol (dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi 10 mmHg) dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB?

7.3.1 Tujuan Khusus Penelitian tahap 3

1. Memperoleh bukti ada perbedaan kadar TGF β , IL-10 dan rasio TGF- β /IL-10 cairan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB
2. Memperoleh bukti ada perbedaan kadar *Total Oxidant Status* (TOS), *Total Antioxidant Capacity* (TAC), Oksidatif Stres Index (OSI) cairan peritoneal dan kadar MDA jaringan peritoneum pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal,

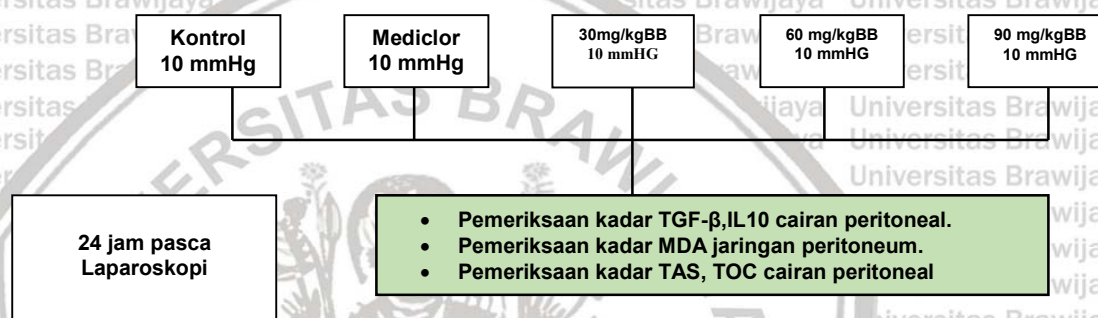
pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB

3. Memperoleh bukti ada perbedaan jumlah sel mast dan persentase degranulasi sel mast, kadar *histamine*, *tryptase* dan *chymase* cairan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB.
4. Memperoleh bukti ada perbedaan ekspresi *zone occludin 1* (ZO-1) jaringan peritoneal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB
5. Memperoleh bukti ada perbedaan ketebalan matrik ekstra seluler (MES) pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB.
6. Memperoleh bukti ada perbedaan skoring adesi intra-abdominal dan perubahan mikroskopis kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dilakukan laparoskopi dengan tekanan insuflasi pada 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, pemberian ekstrak bulbus (umbi) bawang dayak dengan dosis 30 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 90 mg/kgBB.

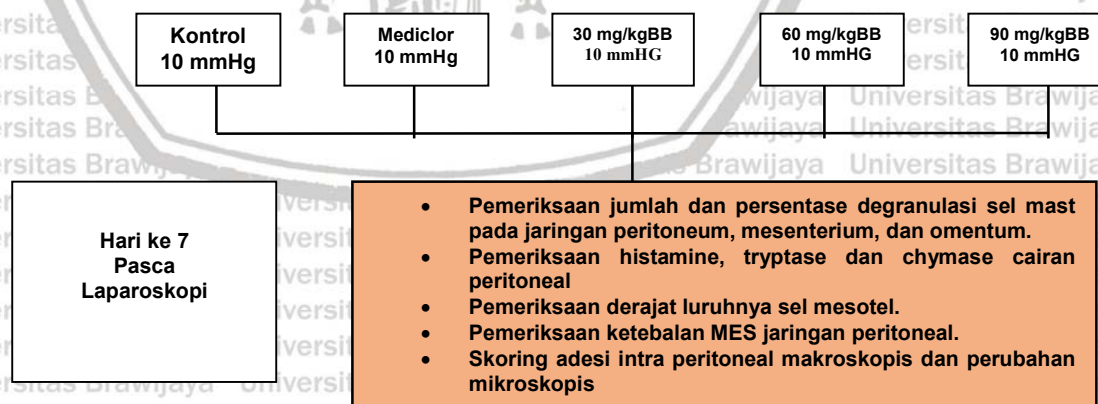
7.4 Manfaat Penelitian dan Alur penelitian tahap 3

Memperoleh bukti dosis ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak yang efektif untuk mencegah adesi intra-abdominal pasca laparoskopi

Berdasarkan perhitungan jumlah sampel, maka jumlah sampel tiap kelompok adalah 6



Keterangan : Kelompok kontrol: kelompok laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg, **Mediclor :** kelompok laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg+pemberian Mediclor intra peritoneal, Kelompok laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg + ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak 30 mg/kgBB, Kelompok laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg + ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak 60 mg/kgBB, Kelompok laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg + ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak 90 mg/kgBB



Keterangan : Kelompok kontrol: kelompok laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg, **Mediclor :** kelompok laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg+pemberian Mediclor intra peritoneal, Kelompok laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg + ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak 30 mg/kgBB, Kelompok laparoskopi dengan tekanan 10mmHg + ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak 60 mg/kgBB, Kelompok laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg + ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak 90 mg/kgBB

7.5 Hipotesis penelitian

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah, kerangka teori dan kerangka penelitian diajukan hipotesis penelitian sebagai berikut:

Ada penurunan jumlah dan degranulasi sel mast, serta skoring adesi intra abdominal kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.

7.5.1 Sub-hipotesis penelitian

1. Ada penurunan kadar TGF- β , IL-10 dan rasio TGF- β / IL-10 cairan peritoneal pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.
2. Ada penurunan kadar *Total Oxidant Status* (TOS), *Total Antioxidant Capacity* (TAC) cairan peritoneal, Oksidatif Stres Indek (OSI) dan kadar MDA jaringan peritoneum pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.
3. Ada penurunan jumlah sel mast dan persentase degranulasi sel mast, kadar *histamine*, *tryptase* dan *chymase* cairan peritoneal pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.
4. Ada penurunan ekspresi *zone-occludin 1* (ZO-1) jaringan peritoneal pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.

5. Ada penurunan ketebalan matrik ekstra seluler (MES) jaringan peritoneal pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.

6. Ada penurunan skoring adesi intra-abdominal dan perubahan mikrokopis pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak bulbus (umbi) bawang Dayak pasca laparoskopi dibanding kelompok kontrol.

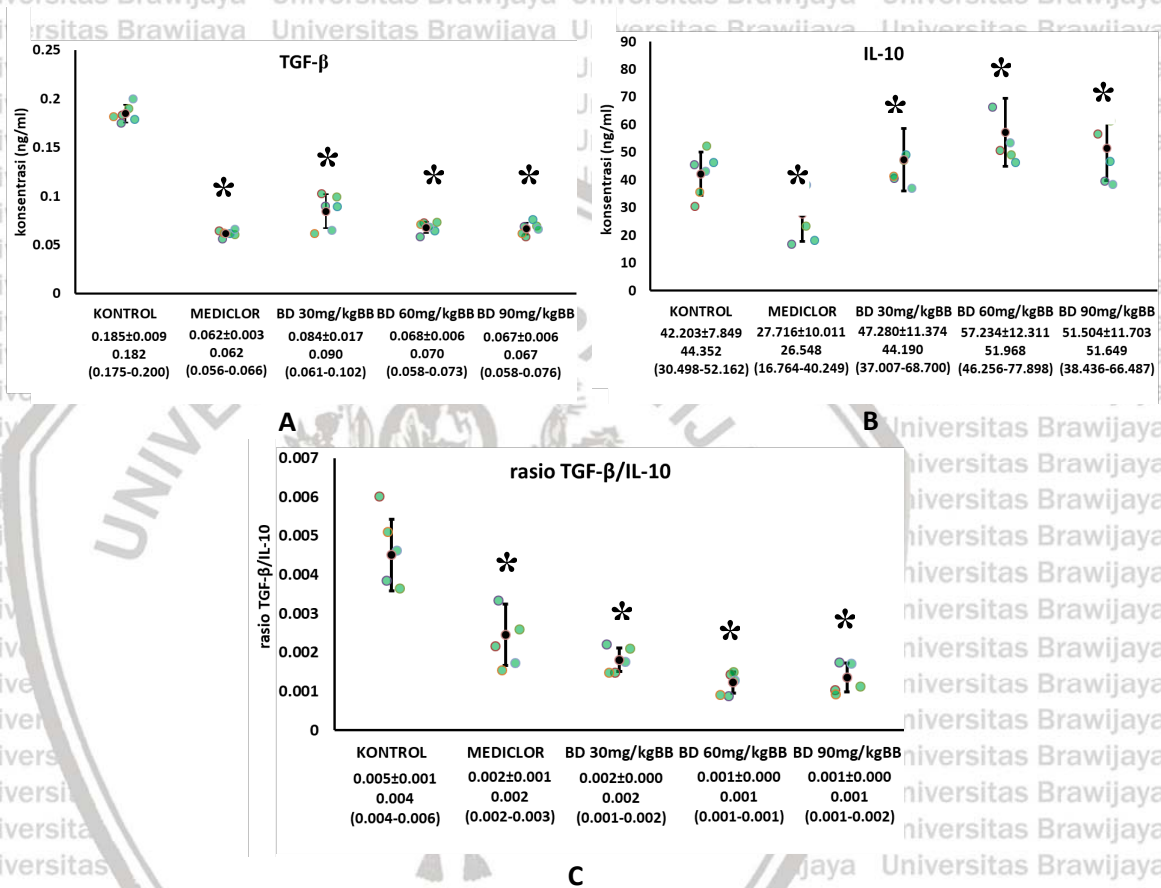
7.6 Hasil, Analisis dan Pembahasan penelitian tahap 3

7.6.1 Profil inflamasi pasca pemberian bawang Dayak.

Penelitian sebelumnya membuktikan senyawa *Anthraquinones* mampu menghambat sekresi TGF- β 1 (Locatelli, 2011), naphthoquinones dan naphthalene mampu menurunkan fibrosis (Napsiah *et al.*, 2014., Chen *et al.*, 2019). Pada penelitian ini bawang Dayak yang digunakan mengandung komposisi tinggi isoeleutherol, eleutherol dan eleutherine. Pada analisis insiliko, secara komputasi senyawa anthraquinone dan elecanacine berpotensi sebagai menghambat protein target TGF- β , tetapi kedua senyawa tersebut tidak mampu berikatan dengan TGF- β .

Sebagai kesatuan ekstrak bawang Dayak mampu menurunkan kadar TGF- β cairan peritoneal. Diduga, terdapat protein perantara dalam ekstrak bawang Dayak yang menguatkan ikatan isoeleutherol, eleutherol, eleutherine, anthraquinone dan elecanacine dengan TGF- β . Penurunan TGF- β diprediksi melalui hambatan pada jalur NF κ B oleh eleutherol dan iso-eleutherine. Penurunan kadar TGF- β pasca pemberian bawang Dayak merupakan modulasi respon inflamasi pada reaksi fosforilasi sisi aktif I κ B jalur NF κ B (Morgan *and* Liu, 2011). Penurunan stres oksidatif pasca pemberian bawang Dayak mampu menurunkan aktivasi I κ B jalur NF κ B

(Gambhir et al, 2015) sehingga respon inflamasi menurun pasca pemberian bawang Dayak



Grafik 7.1

Kadar TGF-β, N=6, dengan uji Welch Robust Tests of Equality of Means dan Post Hoc Games-Howell, * p<0.05 vs kontrol (A); IL-10 Kadar IL-10 cairan peritoneal N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * p<0.05 vs kontrol (B); cairan peritoneal dan rasio TGF-β/IL-10 N=6. Dengan uji Welch Robust Tests of Equality of Means dan Post Hoc Games-Howell, * p<0.05 vs kontrol (C); kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol; tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Pada penelitian ini bawang Dayak dan Mediclor mampu menurunkan kadar TGF-β secara bermakna (Grafik 7.1A). Peningkatan TGF-β merupakan respon inflamasi akibat kerusakan mesotel yang dipicu oleh stres oksidatif. Perbedaannya

Mediclor memberikan proteksi lokal pada sel mesotel dan ekstrak bawang Dayak memberikan proteksi melalui jalur sistemik.

Mediclor (Hyaluron) merupakan material yang mampu mempertahankan integritas mesotelial, keseimbangan cairan struktur mesotelial. Sehingga secara tidak langsung mempunyai kemampuan sebagai modulator inflamasi dan scavenging radikal bebas (Yung and Chang, 2011).

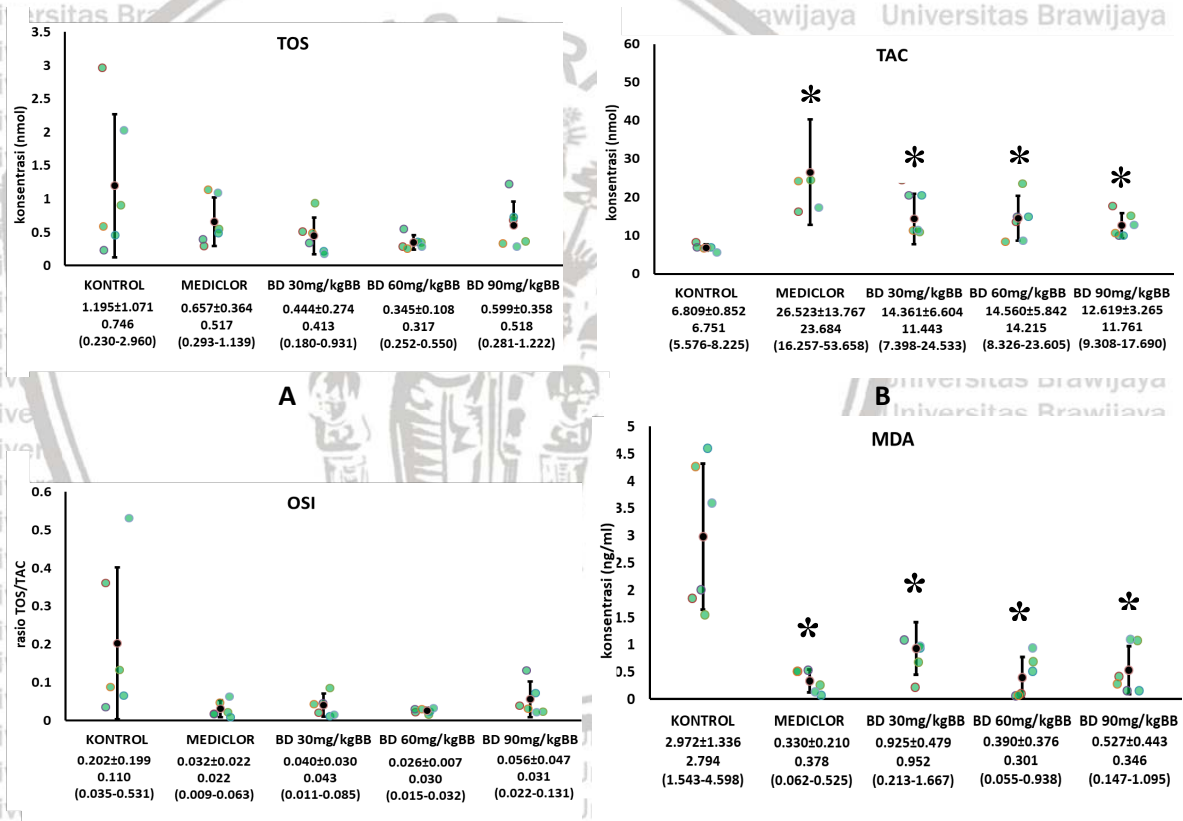
Berbeda dengan penelitian sebelumnya, pemberian bawang Dayak mampu menghambat produksi sitokin IL-10, (Napsiah *et al.*, 2014., Hanh *et al.*, 2018). Pada penelitian ini didapatkan peningkatan bermakna IL-10 setelah pemberian ekstrak bawang Dayak (Grafik 7.1B). Ekstrak bawang Dayak mampu menurunkan SOR dan mencegah kerusakan sel mesotel, dan peningkatan kadar IL-10 menunjukkan proses mengarah pada penyembuhan.

Pada penelitian didapatkan rasio TGF- β /IL-10 menurun secara bermakna pada pemberian Mediclor dan ekstrak bawang Dayak dengan dosis 30, 60 dan 90 mg/KgBB. Penurunan rasio disebabkan penurunan kadar TGF- β dan peningkatan kadar IL-10 secara bermakna. Penurunan kadar TGF- β berhubungan penurunan kerusakan sel mesotel.

7.6.2 Profil stres oksidatif pasca pemberian bawang Dayak.

Berbeda dengan penelitian sebelumnya yang membuktikan kemampuan ekstrak bawang Dayak sebagai modulator stres inflamasi (Pratiwi and Isnindar, 2013, Martantiningtyas *et al.*, 2015, Shi *et al.*, 2019), walaupun terjadi penurunan rerata, penelitian ini tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar TOS pada pemberian Mediclor dan ekstrak bawang Dayak. Ekstrak bawang Dayak mengandung

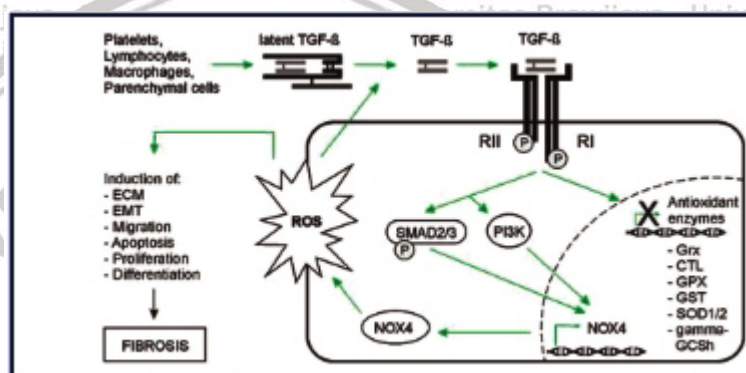
isoeleutherol, eleutherol dan eleutherine dalam kadar tinggi, tetapi tidak mampu berikatan dengan baik dengan protein target *xanthine-oxidase*. Penurunan rerata membuktikan, ekstrak bawang Dayak mempunyai aktifitas modulator stres inflamasi walaupun tidak kuat pasca laparoskopi. Diduga bahan aktif bawang Dayak tidak bekerja melalui enzim *xanthine –oxidase* sebagai jalur stres oksidatif dan melalui jalur lain.



Grafik 7.2

Profil kadar peroksida Total Oksidan Status (TOS) N=6, dengan uji Welch Robust Tests of Equality of Means dan Post Hoc Games-Howell, $p>0.05$ vs kontrol (A), Total Modulator stres oksidatif Capacity (TAC) N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * $p<0.05$ vs kontrol (B), Oksidatif Stres Index (OSI) N=6, dengan uji Welch Robust Tests of Equality of Means dan Post Hoc Games-Howell, $p>0.05$ vs kontrol (C), kadar MDA jaringan peritoneal N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * $p<0.05$ vs kontrol (D), kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol; tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Modulasi stres oksidatif terjadi akibat aktivasi jalur Keap1/Nrf2. Diduga bahan aktif bawang Dayak memudahkan degradasi Keap1-Nrf2 kompleks, sehingga terjadi migrasi Nrf2 kedalam nukleus dan terjadi pembentukan gen enzim detoksifikasi oksidan dan modulator stres oksidatif (Babu *et al.*, 2017, Sznarkowska *et al.*, 2017). Pada umumnya bahan alam mengaktifkan jalur Keap1/Nrf2.



Gambar 7.1 Peranan TGF- β pada pembentukan SOR. TGF- β dan SOR saling menguatkan pada pembentukan modulator stres oksidatif (dikutip dari Richter *et al.*, 2015)

TGF- β berperan pada pembentukan SOR. Setelah TGF- β terikat pada reseptornya, maka akan memicu beberapa gen yang berperan pada pembentukan SOR, MES, transformasi mesotel menjadi fibroblas. Proses ini juga menyebabkan penurunan gen yang memicu produksi modulator stres oksidatif. SOR juga memicu aktivasi TGF- β laten menjadi TGF- β aktif, sehingga SOR dan TGF- β menyebabkan stres oksidatif semakin berat. Dapat disimpulkan TGF- β berperan pada terjadinya stres oksidatif. Dengan peran bawang Dayak sebagai modulator inflamasi dan modulator stres oksidatif, maka menurunkan hambatan pada pembentukan gen modulator stres oksidatif dan pembentukan modulator stres oksidatif meningkat.

Terbukti pemberian bawang Dayak mampu meningkatkan kadar TAC (gambar 7.2B). Pemberian ekstrak bawang Dayak mempunyai kemampuan

modulator stres oksidatif sehingga mencegah kerusakan sel dalam rongga peritoneal.

Meningkatnya jumlah sel mesotel yang intak pada membrana basalis, terbukti terjadi

penurunan stres oksidatif setelah pemberian bawang Dayak. Pemberian bawang

Dayak mampu mengatasi stres sehingga pemakai kadar modulator stres inflamasi

endogen menjadi rendah, dan kadarnya tetap tinggi. Pembentukan oksidan pasca

laparoskopi akan direspon senyawa modulator stres oksidatif endogen (SOD, CAT,

GPX). Pemberian bawang Dayak dan Mediclur mampu menurunkan stres oksidatif,

sehingga kadar modulator stres oksidatif endogen meningkat. Peningkatan kadar

TAC disebabkan penurunan kadar TGF- β dan memicu jalur pembentukan modulator

stres oksidatif.

Berbeda dengan penelitian sebelumnya (Han *et al.*, 2008, Yoshida *et al.*,

2014, Han *et al.*, 2019), pada penelitian ini ekstrak bawang Dayak yang diberikan

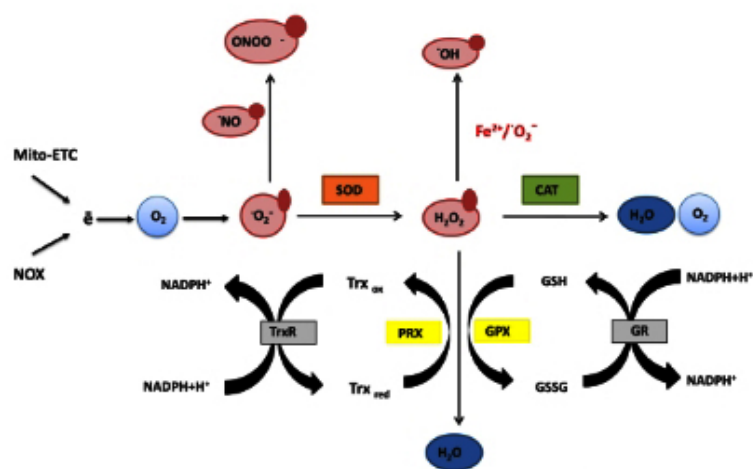
tidak menurunkan OSI secara bermakna walaupun didapatkan penurunan rerata.

Ekstrak bawang Dayak mengandung naphthoquinone dan anthraquinone yang

mempunyai kemampuan modulator stres oksidatif tetapi kadarnya rendah. Juga

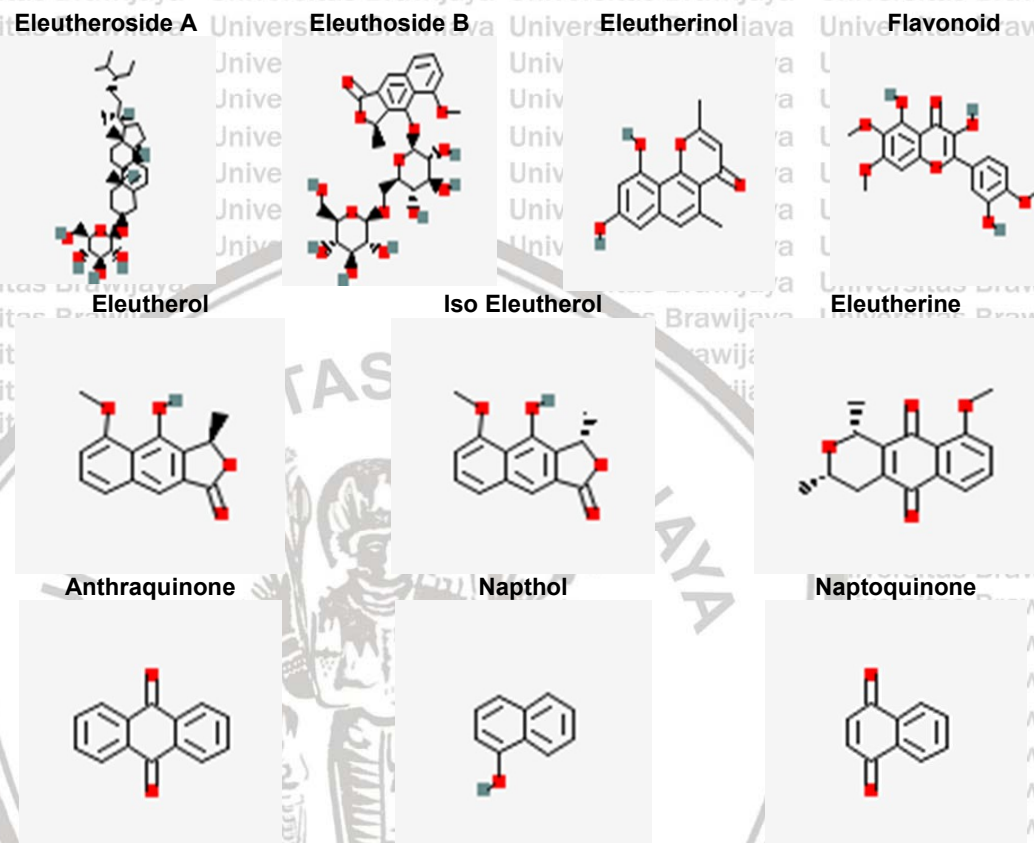
mengandung isoeleutherol, eleutherol dan eleutherine dalam kadar tinggi, tetapi tidak

mampu berikatan dengan protein target *xanthine oxidase*.



Gambar 7.2 Mekanisme pembentukan oksidan dan scavenging SOR modulator stres oksidatif endogen. (Sznarkowska *et al.*, 2017)

Kemampuan ekstrak bawang Dayak sebagai modulator stres oksidatif bekerja melalui mekanisme akseptor elektron (Kuntorini, 2013) dan donor Hidrogen pada gugus hidroksil (OH) (Sandhar *et al.*, 2011). Bahan aktif eleutheroside A (0.907), eleuthoside B (0,748) dan eleutherinol (0,603) mempunyai aktivitas scavenging oxidant yang baik, tetapi kadar dalam ekstrak tidak tinggi. Isoeleutherol, eleutherol dan eleutherin tidak mempunyai gugus hidroksil sehingga tidak mempunyai kemampuan donor hidrogen (*scavenging* SOR) tetapi mempunyai kemampuan akseptor elektron karena mempunyai gugus oksigen



Gambar 7.1 Kemampuan *scavenging oxidant* oleh karena posisi dan gugus hidroksil. Kemampuan modulator stres oksidatif karena kemampuan donor hydrogen gugus hidroksil. Kemampuan akseptor elektron karena gugus oksigen. (Sumber PUBCHEM)

Berdasarkan skema diatas dapat disimpulkan ekstrak bawang Dayak mempunyai kemampuan modulasi stres oksidatif tetapi tidak terlalu kuat.

Mendukung dan memperluas penelitian sebelumnya, pemberian ekstrak bawang Dayak menurunkan kadar MDA sebagai produk akhir peroksidasi lipid (Windari, 2017, Sugiharto, 2018). Kemampuan ekstrak bawang Dayak menurunkan kadar MDA setara pemberian Mediclur. Pembentukan SOR menurun, akibat meningkatnya modulator stres oksidatif eksogen pasca pemberian bawang Dayak.

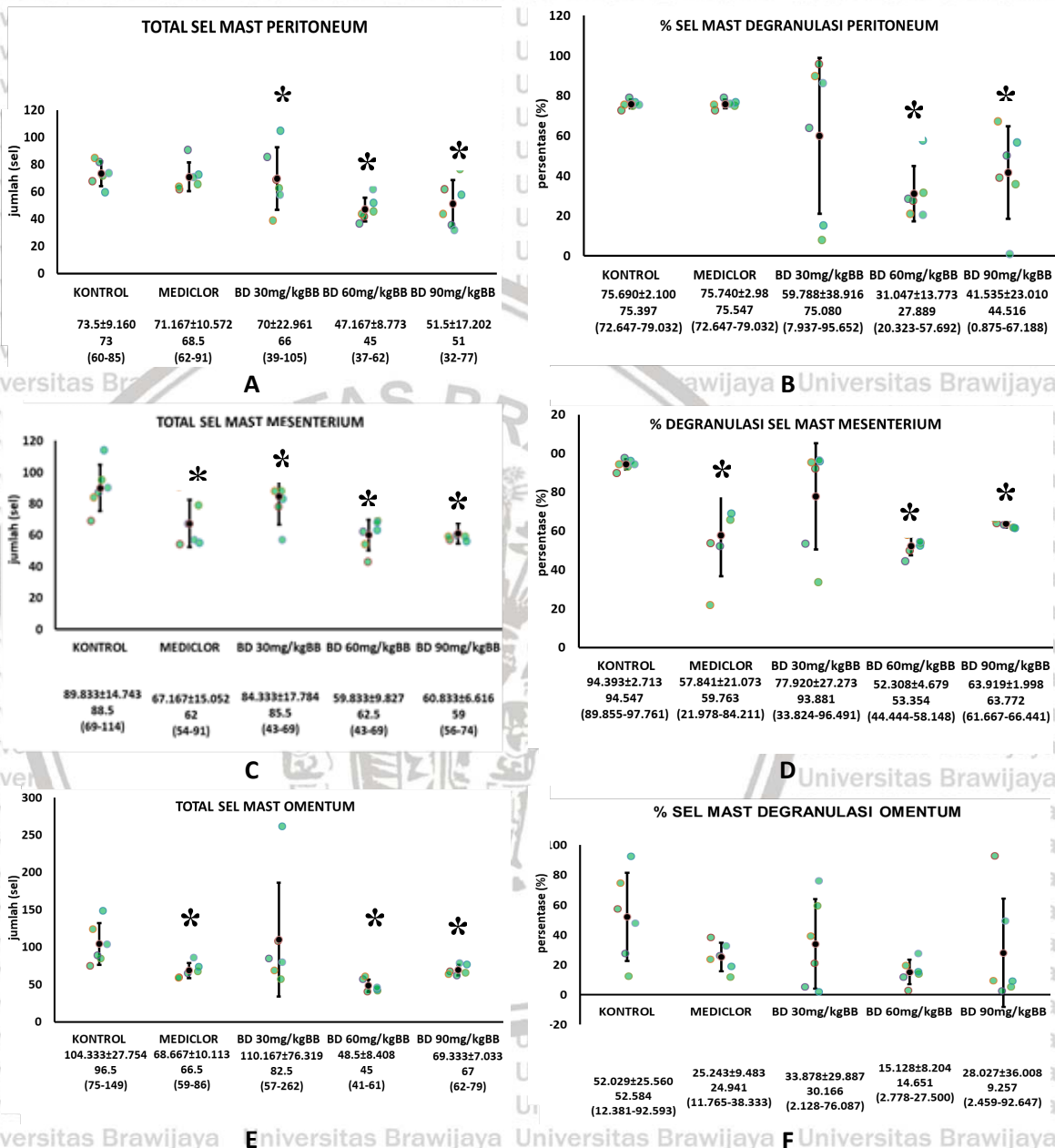
Berkurangnya SOR, menyebabkan penurunan kerusakan sel melalui jalur peroksidasi lipid dan non peroksidasi lipid. Pada penelitian ini terjadi penurunan kadar MDA membuktikan bahwa kerusakan sel juga melalui jalur peroksidasi lipid berkurang pasca pemberian bawang Dayak.

7.6.3a Profil sel mast pasca pemberian bawang Dayak.

Terbukti penurunan jumlah sel mast mesenterium pada pemberian ekstrak bawang Dayak. Kemampuan bawang Dayak meningkatkan kadar modulator stres oksidatif menyebabkan kerusakan sel. Penurunan respon inflamasi mengakibatkan penurunan jumlah sel mast mesenterium. Dosis 30 mg/KgBB sudah menurunkan jumlah sel mast mesenterium, diduga karena mesenterium mempunyai lebih banyak vaskuler. Kemampuan proteksi mediclor menurunkan kerusakan sel mesotel sehingga terjadi penurunan respon inflamasi dan jumlah sel mast.

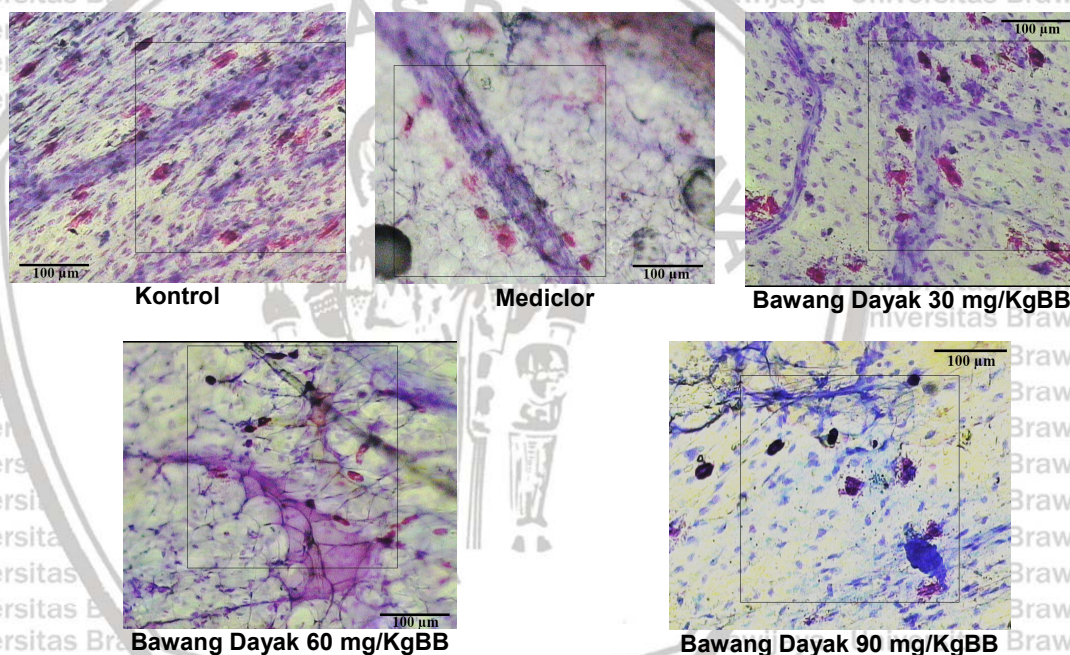
Didapatkan penurunan degranulasi sel mast mesenterium pada pemberian ekstrak bawang Dayak 60 dan 90 mg/KgBB. Kemampuan ekstrak bawang Dayak meningkatkan kadar modulator stres oksidatif. Menurunkan stres oksidatif menyebabkan penurunan kerusakan/degranulasi sel mast secara bermakna.

Mediclor mampu menurunkan degranulasi sel mast akibat proteksi lokal pada permukaan sel mast mesenterium dari trauma.



Grafik 7.3 Profil sel mast, Total sel mast jaringan peritoneal N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * p<0.05 vs kontrol (A), Degranulasi sel mast peritoneum N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * p<0.05 vs kontrol (B), Total sel mast mesenterium N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, * p<0.05 vs kontrol (C), Degranulasi sel mast mesenterium N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, * p<0.05 vs kontrol (D), Total sel mast omentum N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * p<0.05 vs kontrol (E), Degranulasi sel mast omentum N=6, dengan uji Welch Robust Tests of Equality of Means dan Post Hoc Games-Howell, p>0.05 vs kontrol (F), kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol; tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediklor intra peritoneal, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

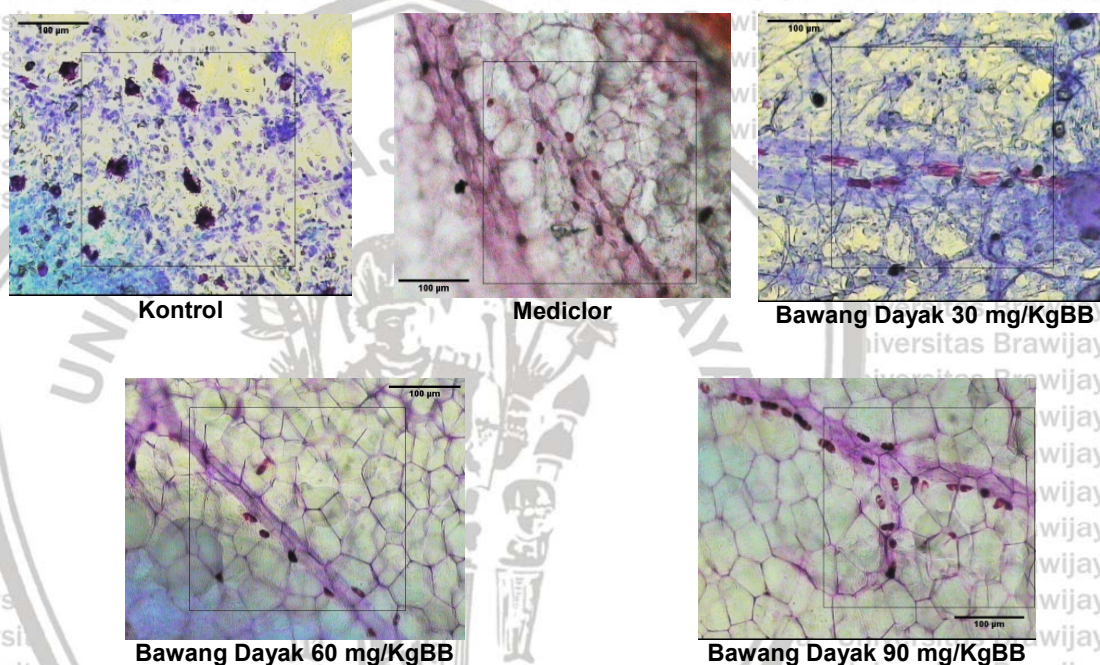
Pada penelitian ini terbukti pemberian ekstrak bawang Dayak 60 dan 90 mg/KgBB menurunkan kadar total sel mast omentum. Kemampuan modulator stres oksidatif bawang Dayak mencegah kerusakan sel mesotel dan residen sel intra-abdominal, menurunkan modulasi inflamasi sehingga jumlah sel mast pada omentum akan meningkat (Grafik 7.3F). Omentum merupakan organ proteksi pada rongga abdomen dan berperan penting pada penyembuhan luka.



Gambar 7.3 Profil sel mast mesenterium setelah pemberian bawang Dayak. Terjadi penurunan jumlah dan degranulasi sel mast pasca pemberian bawang Dayak 60 mg/KgBB

Tidak didapatkan perbedaan bermakna degranulasi sel mast omentum pasca pemberian mediclor dan bawang Dayak. Dan didapatkan perbedaan bermakna pada mesenterium dan peritoneum. Omentum merupakan organ limfoid yang berperan pada mekanisme pertahanan intra-abdominal. Omentum mengandung banyak stem sel limfoid (Michailova and Usunoff., 2004, Liu et al., 2015) dan

merupakan pertahanan mekanik organ intra-abdominal (Sammour *et al.*, 2010). Diduga oleh karena fungsi omentum, maka degranulasi sel tetap tinggi pada omentum. Sebagai organ pertahanan yang mobil, omentum bertanggung jawab pada respon inflamasi.

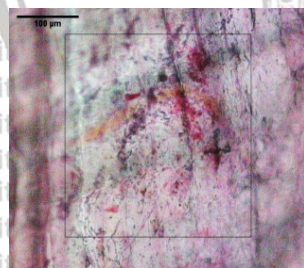


Gambar 7.4 Profil sel mast omentum setelah pemberian bawang Dayak. Terjadi penurunan degranulasi sel mast pasca pemberian bawang Dayak.

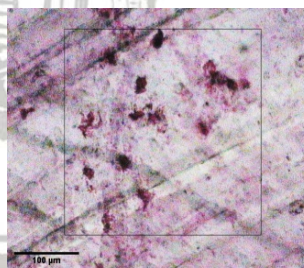
Terbukti pemberian ekstrak bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB menurunkan total sel mast peritoneum. Kemampuan modulator stres inflamasi bawang Dayak menyebabkan kerusakan sel intra-abdominal berkurang, sehingga respon inflamasi dan terjadi penurunan jumlah sel mast pada peritoneum.

Mendukung dan memberikan detail pada penelitian sebelumnya (Lu *et al.*, 2011, Choi *et al.*, 2013), pemberian ekstrak bawang Dayak 60 dan 90 mg/KgBB mampu menurunkan jumlah dan degranulasi sel mast pada mesenterium, omentum dan peritoneum. Kemampuan ekstrak bawang Dayak 60 dan 90 mg/KgBB

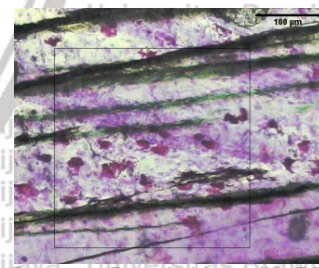
menurunkan derajat stres oksidatif, menurunkan kerusakan sel mast akibat oksidan. Menurunnya jumlah dan degranulasi sel mast akan menurunkan modulasi inflamasi dan degranulasi sel mast. Penurunan total sel mast mesenterium pada pemberian dosis ekstrak bawang Dayak 30 mg/KgBB diduga karena mesenterium lebih banyak mengandung vaskuler. Pada analisis insiliko ekstrak bawang Dayak menunjukkan eleutherine mampu meregulasi ion kalsium untuk stabilisasi sel mast. Bawang Dayak mampu menghambat kanal TRPC, TRPV4 dan CRAC (calcium inhibitor) pada membran sel yang aktif karena dingin dan bertekanan tinggi. Bawang Dayak mengaktifkan kanal VDAC1, MCU dan MARCKS mitokondria (*calcium activator*), untuk menjaga kadar Ca^{2+} dalam kondisi fisiologis. (Poerwosusanta, 2019). Peran bawang Dayak menghambat SOR menyebabkan hambatan jalur aktivasi degranulasi melalui phospholipase C (PLC), peroksidasi lipid, peroksidasi protein dan oksidasi DNA. Hambatan pada SOR juga menghambat degranulasi melalui jalur Fyn-Syk.



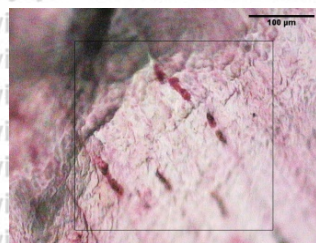
Kontrol



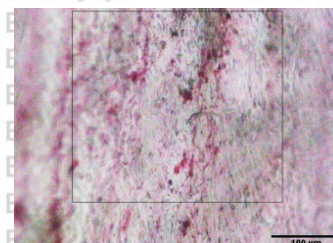
Mediclor



Bawang Dayak 30 mg/KgBB



Bawang Dayak 60 mg/KgBB

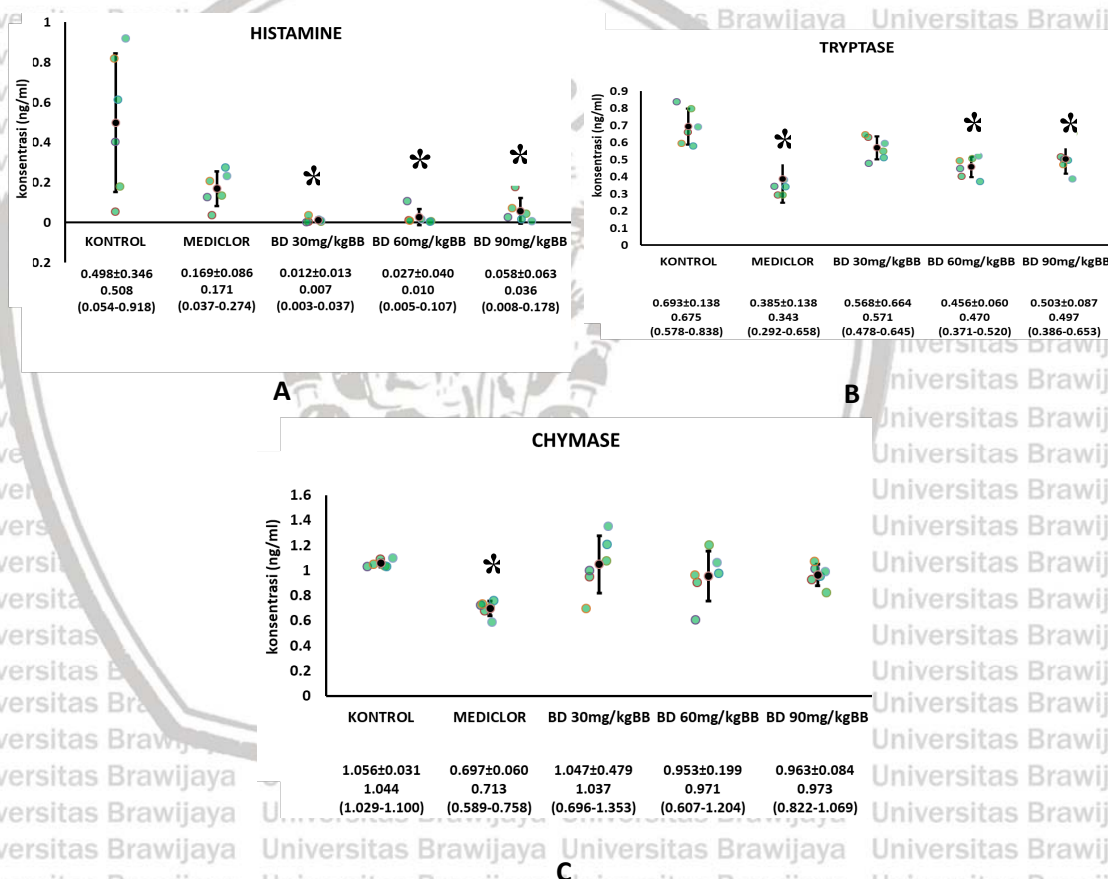


Bawang Dayak 90 mg/KgBB

Gambar 7.5 Profil sel mast peritoneum setelah pemberian bawang Dayak. Terjadi penurunan jumlah dan degranulasi sel mast peritoneum pasca pemberian bawang Dayak

7.6.3b Profil kadar histamine, tryptase dan chymase pasca pemberian bawang Dayak.

Didapatkan temuan pemberian ekstrak bawang Dayak 30, 60 dan 90 mg/KgBB mampu menurunkan kadar *histamine* cairan peritoneal. Penurunan kadar *histamine* sesuai dengan penurunan degranulasi sel mast setelah pemberian ekstrak bawang Dayak.

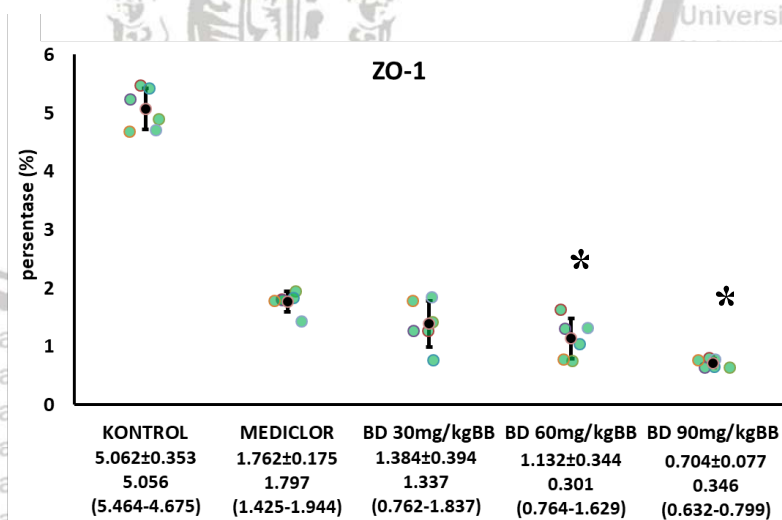


Grifik 7.4 Profil mediator sel mast, Kadar histamine N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * p<0.05 vs kontrol (A), kadar tryptase N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * p<0.05 vs kontrol (B), kadar chymase N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * p<0.05 vs kontrol (C), cairan peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol; tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Terbukti pemberian ekstrak bawang Dayak 60 dan 90 mg/KgBB mampu menurunkan kadar tryptase. Penurunan kadar *tryptase* sesuai dengan penurunan degranulasi sel mast setelah pemberian ekstrak bawang Dayak. Pemberian mediclor intra peritoneal mampu memberikan pertahanan lokal pada sel mast terhadap trauma tekanan.

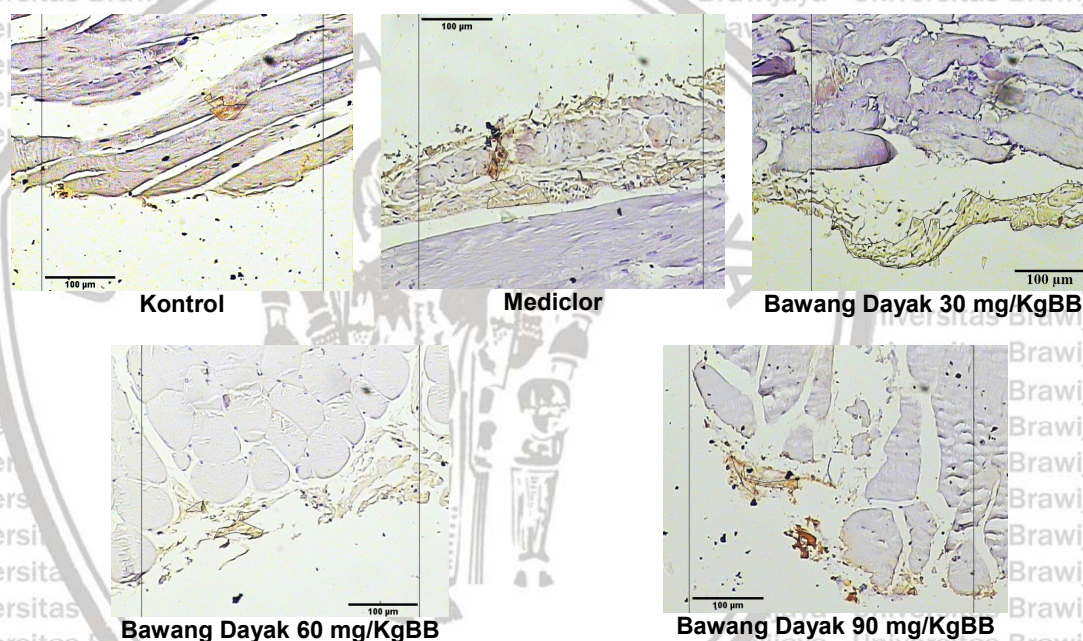
Pada penelitian tidak terjadi penurunan kadar *chymase* setelah pemberian ekstrak bawang Dayak. Diduga bioaktif bawang Dayak tidak mampu berikatan dengan protein target *chymase*. Proteksi lokal Mediclor dan efek bawang Dayak mencegah degranulasi sel mast sehingga kadar *chymase* rendah sebelum pemberian bawang Dayak.

7.6.4. Profil ekspresi ZO-1 pasca pemberian bawang Dayak.



Grafik 7.5 Profil ekspresi ZO-1 jaringan peritoneal N=6, dengan uji Welch Robust Tests of Equality of Means dan Post Hoc Games-Howell, * $p < 0.05$ vs kontrol, kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol; tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Mendukung penelitian sebelumnya, pemberian anthraquinone mampu menurunkan ekspresi ZO-1 (Mei *et al.*, 2015, Chen *et al.*, 2019). Penurunan rata ZO-1 secara bermakna, berhubungan dengan penurunan kerusakan sel mesotel pasca pemberian bawang Dayak sebagai komponen sel terbanyak pada rongga abdomen.

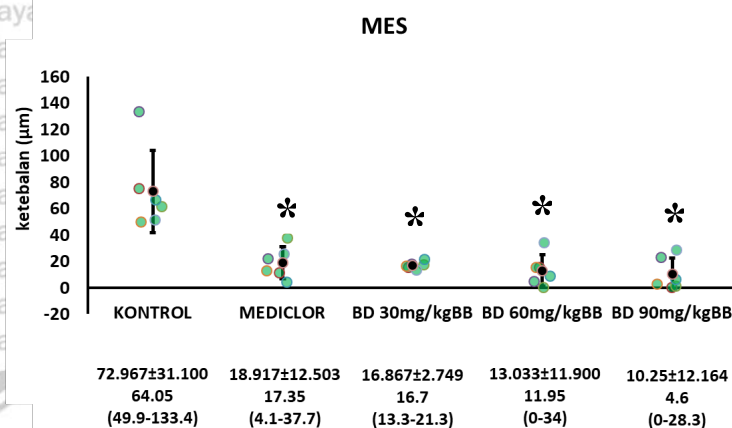


Gambar 7.6

Ekspresi ZO-1 pasca pemberian bawang Dayak. Ekstrak bawang Dayak 60 mg/KgBB mampu menurunkan ekspresi ZO-1. Ekstrak bawang Dayak mampu mempertahankan ikatan antar sel mesotel.

7.6.5. Profil ketebalan MES pasca pemberian bawang Dayak.

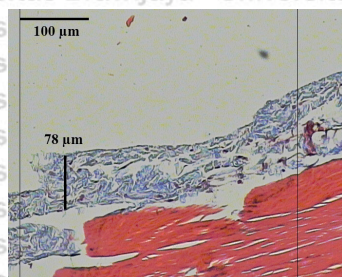
Mendukung penelitian sebelumnya, bahwa kegagalan regenerasi mesotelium menyebabkan penebalan MES (Yung *and* Chan, 2001, Saed *et al.*, 2002). Dan konsep peningkatan sel fibroblas menyebabkan penebalan MES (Rojo *and* Conget, 2018, Tian *et al.*, 2018).



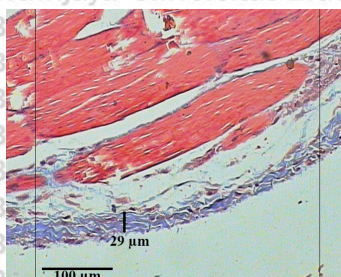
Grafik 7.6

Profil ketebalan MES, N=6, dengan uji ANOVA dan post Hoc LSD, * $p < 0.05$ vs kontrol. kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol; tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

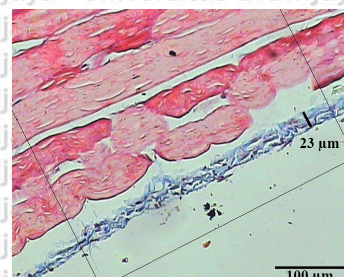
Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak bawang Dayak 30, 60, 90 mg/KgBB mampu menurunkan ketebalan MES pasca laparoskopi. Penurunan ketebalan MES disebabkan pemberian bawang Dayak mengurangi kerusakan mesotel. Sel mesotel intak menurunkan respon inflamasi dan menurunkan sekresi TGF- β . Penurunan TGF- β menyebabkan penurunan jumlah fibroblas dan ketebalan MES menurun. Efek proteksi lokal Mediclor mengurangi kerusakan mesotel sehingga ketebalan MES menurun.



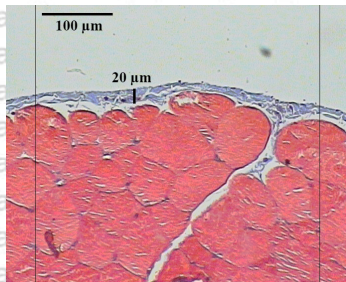
Kontrol



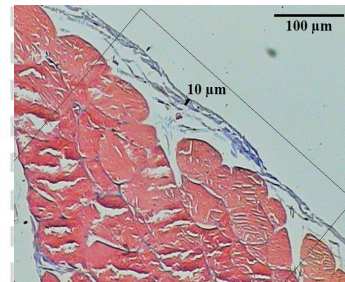
Mediclor



Bawang Dayak 30 mg/KgBB



Bawang Dayak 60 mg/KgBB

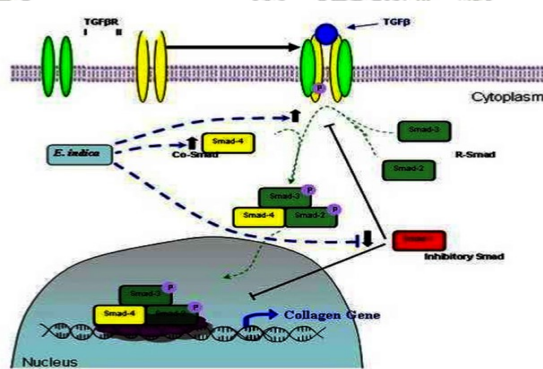


Bawang Dayak 90 mg/KgBB

Gambar 7.7 Pengaruh pemberian ekstrak bawang Dayak pada ketebalan MES. Pemberian bawang Dayak mulai dosis 60 mg/KgBB menyebabkan penurunan ketebalan MES.

Setelah TGF- β terikat pada reseptornya dan terjadi aktivasi jalur smad dan menyebabkan migrasi smad4 dalam nukleus. Migrasi smad4 dalam nukleus akan memicu gen pembentuk kolagen (Upadhyay *et al.*, 2013).

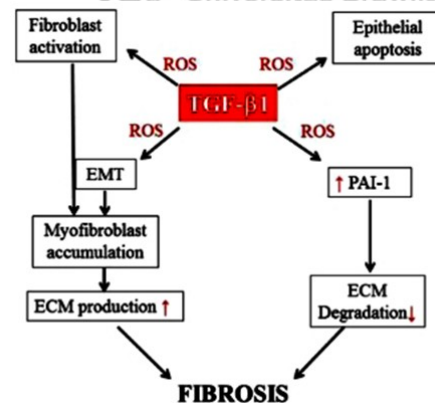
Pemberian bawang Dayak menghambat migrasi smad4 dan memicu migrasi smad7 dalam nukleus, sehingga pembentukan MES akan menurun. Pemberian bawang Dayak menghambat pembentuk TGF- β , sehingga pembentukan MES akan menurun dan proses degradasi fibrin akan berjalan normal.



A

Gambar 7.8

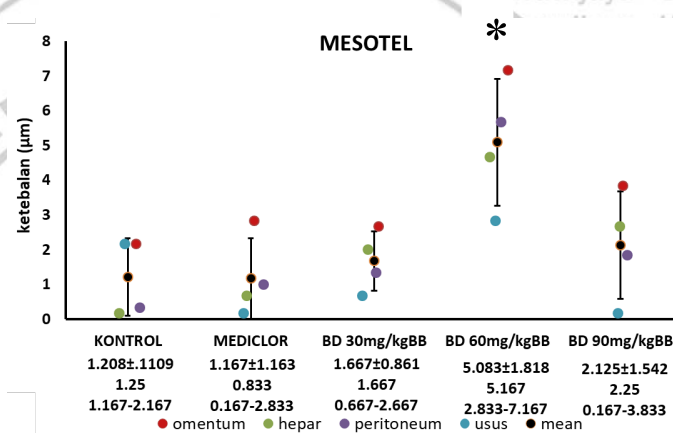
Peran TGF- β pada pembentukan MES. Setelah TGF- β terikat pada reseptornya maka akan mengaktifkan jalur pembentukan MES (A) (dikutip dari Ppadhyay *et al.*, 2013). TGF- β akan memicu produksi MES dan menghambat degradasi MES (B) Mekanisme degradasi MES lebih dominan dibanding produksi MES (dikutip dari Liu and Desai, 2015)



B

7.6.6 Profil perubahan mikroskopis pasca pemberian bawang Dayak.

Pada penelitian ini didapatkan peningkatan bermakna sel mesotel yang intak pada membrana basalis. Pemberian bawang Dayak mampu meningkatkan kadar modulator stres inflamasi dan mencegah kerusakan sel mesotel akibat stres oksidatif. Dengan berkurangnya kerusakan mesotel, respon inflamasi akan menurun sehingga dampak pada sel mesotel akan lebih baik.



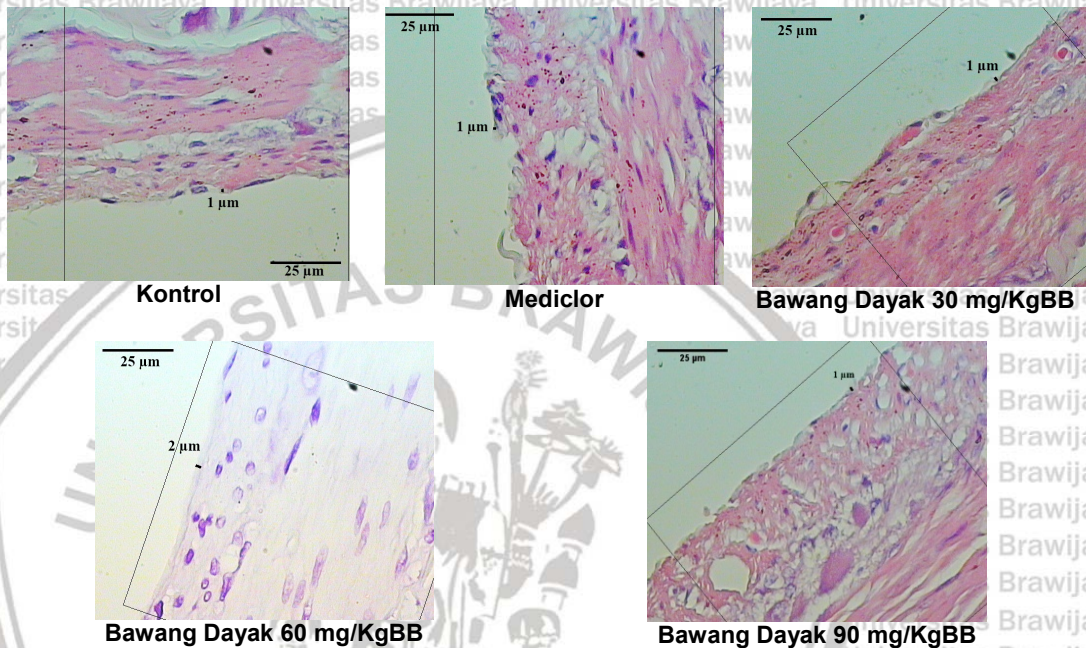
Grafik 7.7

Profil distribusi sel mesotel kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol; tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal; Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB; Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB, N=6, dengan uji ANOVA dan Pos Hoc LSD, * p<0.05 vs kontrol

Peningkatan juga sel mesotel yang intak terjadi merata pada jaringan peritoneum visceral (omentum, hepar, usus) dan peritoneum parietal. Pada penelitian ini terbukti pemberian sistemik memberikan efek ketahanan mesotel yang lebih baik dibanding pemberian lokal (Mediclor).

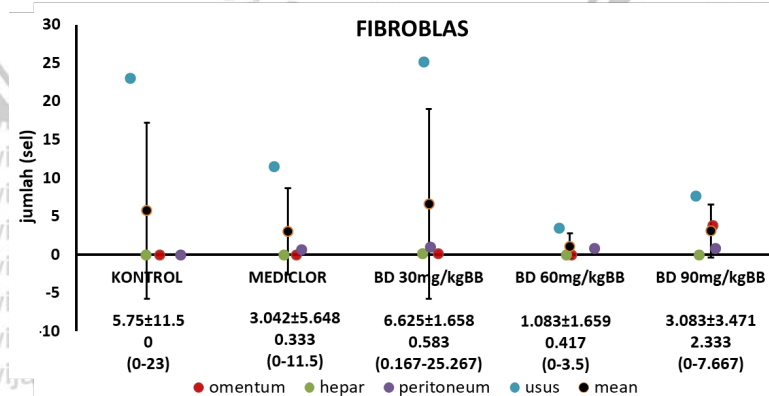
Pada penelitian ini terjadi penurunan kadar rerata sel fibroblas walaupun tidak bermakna secara statistik. Penurunan sel fibroblas disebabkan penurunan stres oksidatif sehingga kerusakan sel mesotel menurun. Sel mesotel yang intak dan penurunan kadar TGF- β , diduga menyebabkan penurunan transformasi sel mesotel

menjadi fibroblas. Penurunan jumlah dan degranulasi sel mast, serta histamine dan tryptase adalah mekanisme lain penyebab turunnya fibroblas.



Gambar 7.9

Perubahan mikroskopis Usus setelah pemberian bawang Dayak. Terjadi peningkatan mesotel dan ketebalan glikokalik, penurunan vaskuler dan PMN pasca pemberian bawang Dayak.

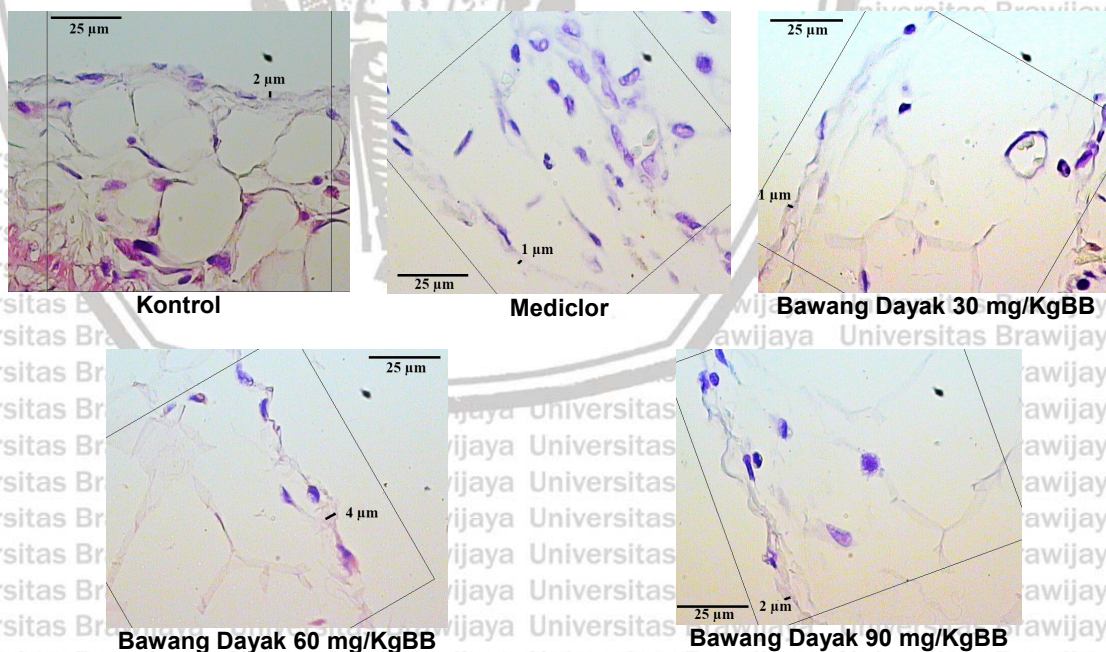


Grafik 7.8

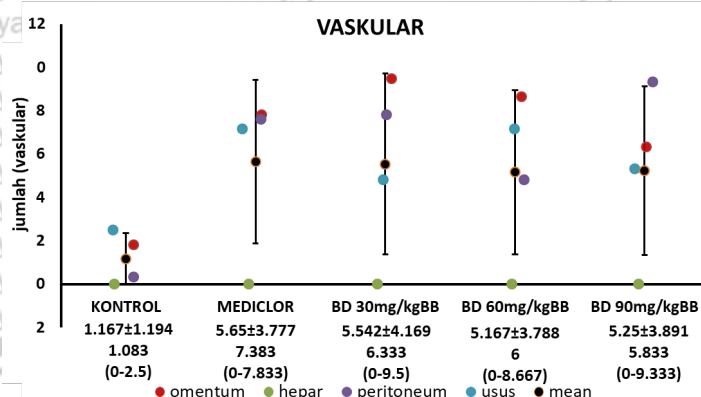
Profil distribusi fibroblas kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol; tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal; Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB; Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB, N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, $p > 0.05$ vs kontrol

Penurunan sel fibroblas terjadi pada jaringan usus, mekanisme ini diduga karena pemberian sistemik bawang Dayak terjadi pada usus yang kaya vaskular berhubungan mesenterium. Mesotelium hepar dan omentum adalah jaringan yang mengandung sedikit sel fibroblas, sehingga terjadi penurunan yang tidak bermakna setelah pemberian bawang Dayak maupun Mediclor.

Pemberian bawang Dayak meningkatkan jumlah vaskular walaupun secara statistik tidak bermakna. Laproskopi pada tekanan 10 mmHg merupakan tekanan tinggi yang memicu IAH (Avital *et al.*, 2008) dan terjadi vaskonstriksi. Penurunan vasokonstriksi jaringan mesotelium pada pemberian bawang Dayak akibat resultan efek *histamine*, dan *katekolamine*.



Gambar 7.10 Perubahan mikroskopis Omentum setelah pemberian bawang Dayak. Terjadi peningkatan mesotel dan penurunan vaskuler pasca pemberian bawang Dayak.

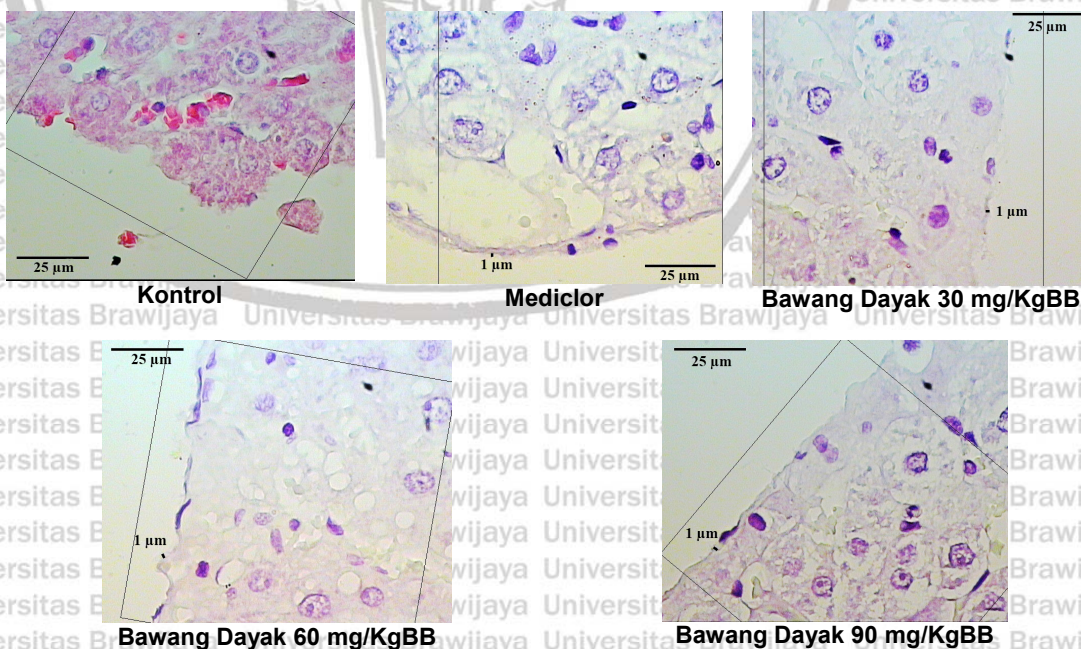


Grafik 7.9

Profil distribusi vaskular kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol; tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal; Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB; Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB, N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, $p > 0.05$ vs kontrol

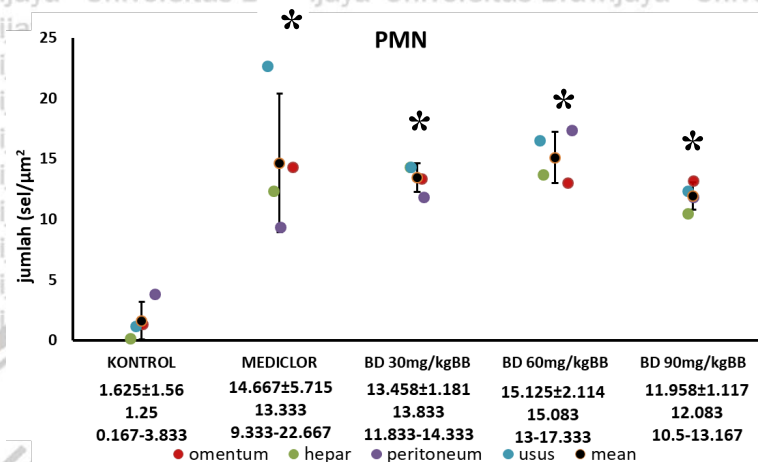
Peningkatan vaskular terjadi pada jaringan mesotelium usus dan omentum.

Mesotelium hepar merupakan jaringan dengan sedikit vaskuler.



Gambar 7.11

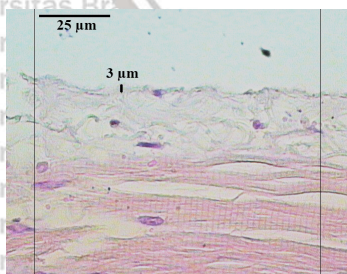
Perubahan mikroskopis Hepar setelah pemberian bawang Dayak. Terjadi peningkatan mesotel dan ketebalan glikokalik pasca pemberian bawang Dayak.



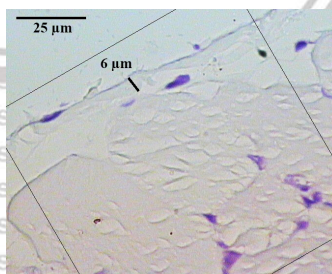
Grafik 7.10

Profil distribusi PMN kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol; tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal; Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB; Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB, N=6, dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, * p<0.05 vs kontrol

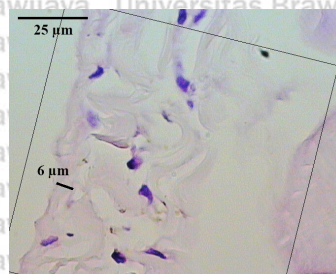
Pada penelitian ini dibuktikan peningkatan bermakna sel PMN pada pemberian bawang Dayak. Efek vasodilatasi pemberian bawang Dayak meningkatkan jumlah sel PMN. Pemberian Mediclor meningkatkan sel PMN, diduga proteksi lokal pada sel rongga abdomen, sehingga sekresi katekolamine menurun.



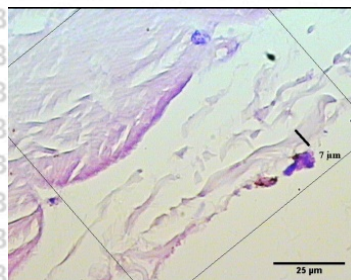
Kontrol



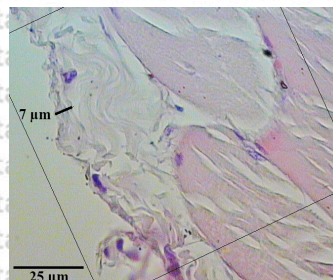
Mediclor



Bawang Dayak 30 mg/KgBB



Bawang Dayak 60 mg/KgBB

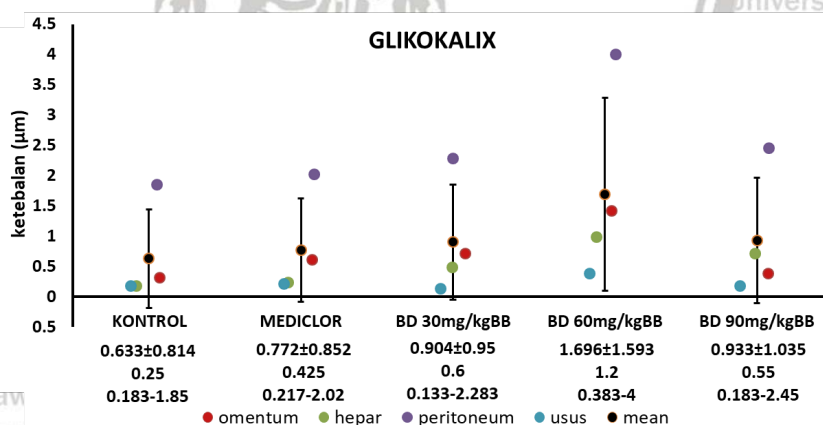


Bawang Dayak 90 mg/KgBB

Gambar 7.12 Perubahan mikroskopis Peritoneum setelah pemberian bawang Dayak.

Terjadi peningkatan mesotel dan ketebalan glikokalik, penurunan vaskuler pasca pemberian bawang Dayak.

Pemberian bawang Dayak menyebabkan peningkatan ketebalan glikokalix walaupun tidak bermakna secara statistik. Pemberian bawang Dayak mampu mencegah kerusakan mesotel karena peningkatan modulator stres inflamasi. Sel mesotel yang mengalami trauma diduga belum mampu memproduksi glikokalix dengan baik.



Grafik 7.11

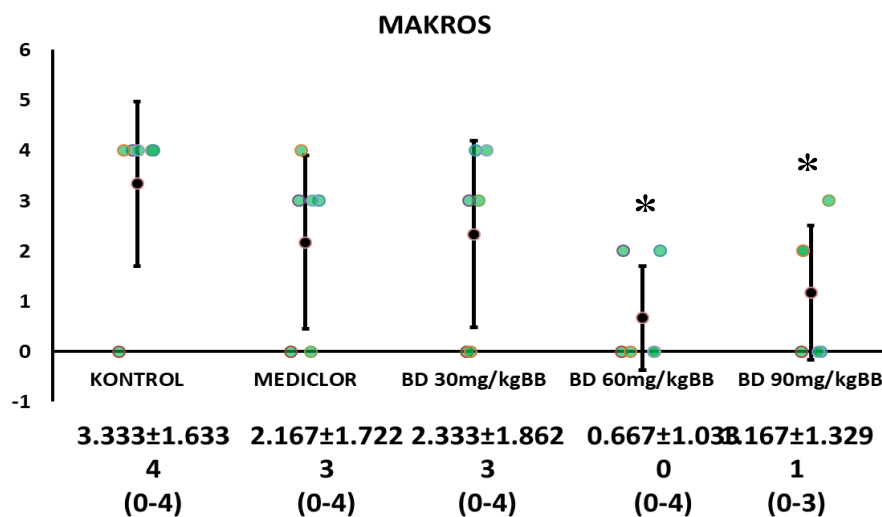
Profil ketebalan glikokalik kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol; tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal; Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB; Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB, N=6 , dengan uji ANOVA dan Post Hoc LSD, $p > 0.05$ vs kontrol

Peningkatan ketebalan glikokalix terjadi pada peritoneum visceral (omentum, hepar) dan peritoneum parietal. Tipe sel mesotel peritoneum parietal diduga memproduksi glikokalix paling cepat setelah trauma.

7.6.7 Profil skoring adesi makroskopis pasca pemberian bawang Dayak.

Penelitian ini membuktikan pemberian ekstrak bawang Dayak 60 dan 90 mg/KgBB mampu menurunkan skoring adesi intra-abdominal pasca laparoskopi.

Cedera reperfusi dan stres oksidatif menyebabkan lepasnya sel mesotel dari membrana basalis. Terpaparnya membrana basalis menyebabkan penebalan MES sehingga memicu adesi intra-abdominal. Kemampuan bawang Dayak sebagai modulator inflamasi mampu menurunkan kadar TGF- β yang terbukti menurunkan adesi intra-abdominal. Kemampuan bawang Dayak meningkatkan kadar modulator stres inflamasi meningkatkan ketahanan sel mesotel sehingga mencegah terpaparnya membrana basalis sehingga menurunkan adesi. Efek modulator stres inflamasi bawang Dayak menurunkan jumlah dan degranulasi sel mast, sehingga terjadi penurunan *histamine* dan *tryptase*. Sel mesotel yang intact mencegah penebalan MES.



Grafik 7.12

Profil skoring makroskopis adesi intra abdominal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol; tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor intra peritoneal; Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB; Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB, N=6, dengan uji Kruskal Wallis dan post Hoc Mann Whitney, * $p < 0.05$ vs kontrol.

BAB 6

PEMBAHASAN UMUM

PENELITIAN INSILIKO BAWANG DAYAK

Analisa insiliko didapatkan 14 bahan aktif yang terkandung pada ekstrak bawang Dayak (*Eleutherine Americana L. merr*): triterpenoid, naphthol, anthraquinone, eleuthoside B, eleutheroside A, eleutherol, isoeleutherine, elecanacin, eleutherine, dihydroeleutherinol, eleutherinol/eleutherinone, hongconin, naphthoquinone dan isoeleutherol Menggunakan metode LCMS (Liquid Chromatography Mass Spectrometry) diidentifikasi 3 bahan aktif dalam kadar tinggi yaitu: isoeleutherol, eleutherol dan eleutherine.

Tidak didapatkan bahan aktif yang mampu berikatan dengan baik dengan protein target TGF- β . Pada penelitian didapatkan temuan bahwa senyawa eleutherol mampu berikatan dengan protein target NF κ B dan berpotensi sebagai modulator inflamasi. Eleutheroside A dan elecanacine yang berpotensi sebagai modulator stres oksidatif, tetapi tidak mampu berikatan dengan baik dengan protein target *xanthine oxidase*. Berdasarkan analisa insiliko ekstrak bawang Dayak kurang berpotensi sebagai modulator inflamasi, modulator stres oksidatif dan penstabil sel, karena 3 bahan aktif isoeleutherol, eleutherol dan eleutherine dalam kadar tinggi tidak mampu berikatan dengan protein targetnya. Temuan penelitian in-vivo potensi bawang Dayak sebagai modulator inflamasi dan modulator stres oksidatif, diduga karena adanya protein perantara dalam ekstrak bawang Dayak yang menyebabkan isoeleutherol dan eleutherine mampu berikatan dengan protein target TGF- β , NF κ B dan *xanthine oxidase*. Eleutherol mampu berikatan dengan protein target NF κ B dan berpotensi

sebagai modulator inflamasi. Potensi modulator stres oksidatif ekstrak bawang Dayak, didukung kemampuan eleutheroside A dan eleuthoside B yang kaya dengan gugus hidroksil sebagai pendonor hidrogen. Kemampuan flavonoid yang kaya gugus oksigen berkemampuan sebagai ekseptor elektron. Perlu dikembangkan penelitian lanjut untuk menggali potensi sebagai modulator stres oksidatif pada senyawa: isoeleutherol, eleutherol, eleutherine, eleutheroside A, eleuthoside B dan flavonoid.

Temuan penelitian insiliko tentang: naphthoquinone dan anthraquinone berpotensi sebagai penstabil sel melalui homeostasis ion Ca^{2+} , menarik untuk dilakukan pada penelitian lanjutan preklinik maupun klinik. Kemampuan bahan aktif ekstrak bawang Dayak sebagai stabilisator sel melalui homeostasis Ca^{2+} , merupakan metode yang perlu ditindaklanjuti. Khususnya stabilisator sel mast dan mesotel karena peran besar pada kejadian adesi intra abdominal.

Kemampuan ekstrak bawang Dayak sebagai: modulator inflamasi, modulator stres oksidatif dan stabilisator sel mast diharapkan mampu menurunkan adesi intra-abdominal pasca laparoskopi.

PENGARUH TEKANAN pada LAPAROSKOPI

Insufiasi CO_2 dengan tekanan 10 mmHg (manusia: 15 mmHg) menyebabkan iskemia jaringan karena melebihi toleransi tekanan fisiologis rongga abdomen pada laparoskopi. Pada saat desufiasi terjadi aliran O_2 . Melalui xanthine-oxidase, O_2 akan dirubah menjadi oksidan dan terjadi stres oksidatif.

Stres oksidatif terjadi karena gangguan keseimbangan oksidan-modulator stres oksidatif dan berhentinya reaksi redox. Mekanisme ini menyebabkan kerusakan

sel dan jaringan dalam rongga abdomen. Stres oksidatif dibuktikan dengan peningkatan TOS dan OSI sebagai indikator. Stres oksidatif memicu kerusakan sel, khususnya mesotel dan sel mast. Kerusakan sel memicu peningkatan DAPMs dan terjadi respon inflamasi. Didapatkan temuan peningkatan tidak bermakna MDA membuktikan terdapat jalur selain peroksidasi lipid yang menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan non peroksidasi lipid akibat SOR, diduga melalui peroksidasi protein dan DNA. Iskemia jaringan mengakibatkan gangguan sel oleh karena defisiensi ATP. Hipoksia menyebabkan aktivasi jalur komplemen C3a dan C5a. Baro-trauma, termotrauma dan inflamasi menyebabkan gangguan homeostasis Ca^{2+} sel dan terjadi kerusakan sel.

Respon inflamasi bertujuan mengeliminasi non self dengan baik akibat kerusakan jaringan. Vasodilatasi akibat histamine bertujuan mempermudah rekrutmen sel fagosit. Produksi kemokin mempermudah sel fagosit menuju DAMPs sehingga bekerja dengan baik. Peningkatan jumlah, degranulasi sel mast dan respon inflamasi ditujukan untuk mengeliminasi *non self* dengan sempurna. Respon inflamasi yang berlebihan menyebabkan mekanisme mengarah pada proses patologis. Vasodilatasi yang berlebihan, diduga berpotensi meningkatkan molekul adesi dan meningkatkan kejadian adesi.

Pada laparoskopi degranulasi sel mast dominan terjadi melalui jalur non peroksidasi lipid. Jalur ekstra seluler dipicu oleh breakdown adenine nucleotides, endothelin 1(ET-1) dan aktivasi C3a-C5a reseptor membran sel. Aktivasi membran sel menyebabkan mobilisasi Ca^{2+} dan terjadi degranulasi. Jalur intra seluler terjadi karena aktivasi protein kinase C (PKC) dan phospholipase C (PLC). Hipoksia sel

menyebabkan gangguan kanal membran sel yang tergantung pada ATP dan aktivasi C3a-C5a. Kerusakan sel memicu IL-33 pada reseptor sel mast sehingga terjadi degranulasi. Perubahan struktur protein kinase Fyn dan Syk oleh SOR, menyebabkan aktivasi sel mast. Sel mast bersifat termo dan baro sensitif. TRPC aktif oleh suhu dingin, CRAC dan TRPV4 diaktifkan oleh tekanan. Aktivasi kanal Ca^{2+} menyebabkan masuknya Ca^{2+} dalam sitosol dan memicu degranulasi. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang temuan degranulasi sel mast melalui mekanisme non peroksidasi lipid. Dan potensi ekstrak bawang Dayak yang mampu meregulasi kanal Ca^{2+} .

Degranulasi sel mast saling memicu peningkatan kadar TGF- β dan SOR. TGF- β dan SOR saling memicu meningkatkan kadarnya. SOR akan meningkatkan kerusakan sel mesotel, sedang TGF- β meningkatkan transformasi mesotel ke fibroblas dan mengganggu mekanisme fibrinolisis. Penelitian lanjutan tentang indikator kerusakan sel mast yang bersifat obyektif perlu dilakukan untuk menghindari subyektifitas.

Kerusakan sel mesotel mengakibatkan lepasnya sel mesotel dari membrana basalis. Didapatkan temuan peningkatan TGF- β yang tidak selaras dengan peningkatan jumlah fibroblas. Hal ini membuktikan peningkatan ketebalan MES dan adesi intra abdominal terjadi akibat gangguan proses fibrinolisis lebih dominan dibanding transformasi fibroblas.

Terlepasnya sel mesotel menyebabkan hilangnya proteksi glikokalik dan terpaparnya membrana basalis. Indikator lepasnya sel mesotel dibuktikan dengan peningkatan kadar ZO-1 secara bermakna. Proses ini menyebabkan peningkatan

ketebalan MES yang memicu adesi intra-abdominal. Penipisan glikokalik berhubungan dengan lepasnya sel mesotel, oleh karena glikokalik diproduksi oleh mesotel. Terpaparnya MES oleh gas CO₂ menyebabkan perubahan struktur MES. Perubahan struktur MES memicu perubahan lingkungan mikro, growth factor dan gen yang memicu adesi. Menarik dilakukan penelitian lanjutan tentang perubahan struktur MES yang multifaktorial dan kompleks akibat laparoskopi. Perubahan mikroskopis menarik untuk dilakukan penelitian lanjutan dan diciptakan skoring mikroskopis sebagai factor prediksi kejadian adesi intra abdominal pasca laparoskopi.

Peningkatan skoring adesi intra abdominal, merupakan resultan dari proses yang multifaktor. Tekanan intra abdominal melebihi 10 mmHg (manusia 15 mmHg) menyebabkan kerusakan sel mast, mesotel dan penebalan MES sebagai faktor utama terjadinya adesi. Iskemia jaringan dan stres oksidatif akibat insuflasi, memicu respon inflamasi yang berpotensi meningkatkan adesi.

Pengaruh pemberian bawang Dayak pada laparoskopi.

Penurunan respon inflamasi ditandai dengan menurunnya kadar TGF- β , jumlah dan degranulasi sel mast. Penurunan TGF- β diprediksi melalui hambatan reaksi fosforilasi sisi aktif I κ B jalur NF κ B. Mekanisme scavenging SOR sebagai modulator stres oksidatif, dibuktikan dengan peningkatan TAC dan penurunan MDA. Berkurangnya oksidan dan kerusakan sel, menurunkan respon inflamasi pasca laparoskopi. Secara komputasi banyak bahan aktif bawang Dayak tidak dapat berikatan langsung dengan protein target. Diduga terdapat protein perantara yang membuat bahan aktif dapat berikatan dengan protein targetnya. Perlu dilakukan

penelitian lanjut untuk mendeteksi dan mekanisme kerja protein perantara tersebut.

Pemberian mediclor sebagai proteksi local, dipertimbangkan untuk dilakukan penelitian dengan kombinasi bawang Dayak secara intra peritoneal.

Pemberian bawang Dayak menurunkan stres oksidatif dibuktikan dengan penurunan pemakaian modulator stres oksidatif endogen, sehingga modulator stres oksidatif endogen (TAC) tetap tinggi. Penurunan MDA membuktikan bahwa terjadi penurunan kerusakan sel pasca laparoskopi. Kemampuan modulator stres oksidatif bawang Dayak, lebih banyak dipengaruhi oleh berkurangnya respon inflamasi. Penurunan respon inflamasi menyebabkan berkurangnya TGF- β , rasio TGF- β /IL-10 dan peningkatan IL-10. Resultan mekanisme ini mengarah kepada proses homeostasis. Stres oksidatif berkurang dengan menurunnya TGF- β . Dengan meningkatnya sel mesotel dan sel mast yang intak, menyebabkan penurunan ketebalan MES dan skoring adesi intra-abdominal. Hubungan antara inflamasi dan stres oksidatif pasca laparoskopi, menarik untuk dilakukan penelitian sebagai jalur pencegahan adesi intra-abdominal.

Secara *invivo* pemberian ekstrak bawang Dayak menurunkan stres oksidatif. Peningkatan kadar TAC dan menurunnya MDA membuktikan kemampuan bawang Dayak sebagai *scavenging* SOR. Menurunnya stres oksidatif menyebabkan berkurangnya kerusakan jaringan mesotelial, sehingga respon inflamasi menurun. Penurunan respon inflamasi ditandai dengan menurunnya kadar TGF- β , jumlah dan degranulasi sel mast.

Pemberian bawang Dayak terbukti menurunkan jumlah sel mast pada peritoneum, omentum dan mesenterium. Kemampuan modulator inflamasi

berdampak pada penurunan jumlah sel mast rongga abdomen. Kemampuan modulator stres oksidatif bawang Dayak mencegah degranulasi sel mast pada peritoneum dan omentum. Diduga penurunan degranulasi sel mast melalui jalur inflamasi dan homeostasis Ca^{2+} . Temuan ini perlu dilakukan penelitian lanjut, agar bawang Dayak dimanfaatkan sebagai terapi melalui stabilisator sel mast dan mencegah adesi intra abdominal. Tidak didapatkan penurunan degranulasi sel mast pada omentum. Diduga peran omentum yang mengandung banyak stem sel limfoid. Sel mast dipertahankan tidak terjadi degranulasi karena perannya sebagai organ pertahanan yang bertanggungjawab pada respon inflamasi. Proteksi local medidor, mampu mempertahankan sel mast untuk tidak terjadi degranulasi. Penurunan *histamine* dan *tryptase* bukan karena efek langsung bahan aktif bawang Dayak pada *histamine* dan *tryptase*. Tetapi karena efeknya sebagai stabilisator sel mast. Tidak terjadi penurunan *chymase* secara bermakna diduga berhubungan dengan populasi tipe sel mast jaringan ikat pada rongga abdomen.

Penurunan ekspresi ZO-1 pasca pemberian bawang Dayak, membuktikan terjadi penurunan kerusakan sel mesotel. Efek modulator inflamasi dan modulator stres oksidatif, mampu mencegah kerusakan sel mesotel.

Matrik Ekstra Seluler (MES) merupakan struktur 3 dimensi yang sangat kompleks. Terdiri dari terdiri dari kolagen, enzim, glikoprotein (proteoglikan) dan vesikel ekstraseluler (DNA, RNA dan Matrix-bound nanovesicles/MBVs) dan fibroblast. Efek resultannya menentukan kualitas penyembuhan. Paparan gas CO_2 , respon inflamasi dan stres oksidatif mempengaruhi ketebalan MES. Kemampuan modulator stres oksidatif, modulator inflamasi, stabilisator sel mast dan mesotel,

mampu menurunkan ketebalan MES kearah fisiologis secara bermakna. Penurunan kadar TGF- β , diduga menghambat gen fibrosis smad4 dan memicu gen smad7 kedalam nukleus sehingga mekanisme fibrinolysis kearah fisiologis. Temuan ini perlu ditindak lanjuti untuk meneliti peran bawang Dayak pada gen smad4 dan smad7.

Peningkatan bermakna jumlah mesotel yang intak pasca pemberian bawang Dayak, membuktikan potensi bawang Dayak sebagai modulator inflamasi dan modulator stres oksidatif dalam mencegah kerusakan mesotel. Didapatkan bukti pemberian sistemik bawang Dayak memberikan efek yang lebih baik dibanding pemberian mediclor intra peritoneal. Tidak terjadi penurunan sel fibroblas, membuktikan penurunan TGF- β pasca pemberian bawang Dayak lebih dominan pada mekanisme fibrinolisis. Peningkatan jumlah vaskuler akibat berkurangnya vasokonstriksi. Diduga akibat resultan efek antara histamine dan katekolamine. Dampak vasodilatasi menyebabkan aliran PMN meningkat dalam vaskuler dan meningkatkan jumlah PMN dalam jaringan. Walaupun terdapat peningkatan jumlah mesotel yang intak, tetapi tidak disertai dengan penebalan glikokalik. Diduga sel mesotel masih belum mampu memproduksi glikokalik pasca trauma. Perubahan mikroskopis perlu dilakukan penelitian lanjut. Sebagai komponen MES faktor mikroskopis berperan penting pada fase penyembuhan. Perlu diciptakan scoring mikroskopis untuk memprediksi kejadian adesi.

Terbukti pemberian bawang Dayak menurunkan scoring adesi pasca laparotomi. Penurunan scoring adesi terjadi melalui beberapa jalur. Kemampuan modulator inflamasi menurunkan kadar TGF- β sebagai pencetus adesi. Kemampuan modulator stres oksidatif mampu mencegah degranulasi sel mast dan kerusakan

mesotel sebagai faktor terjadinya adesi. Dampak positif pemberian bawang Dayak menurunkan ketebalan MES dan menurunkan skoring adesi. Dapat disimpulkan bawang Dayak mampu mencegah adesi dan perlu dilakukan fase penelitian lanjutan agar dapat dimanfaatkan pada manusia.

Pemberian ekstrak bawang Dayak per oral selama 54 hari secara tehnik tidak praktis. Pasien adesi intra abdominal tidak bisa diprediksi kapan dilakukan operasi yang bersifat gawat darurat. Sehingga perlu dipikirkan penelitian lanjutan tentang rute pemberian intra peritoneal durante operasi. Keuntungan pemakaian ekstrak bawang Dayak jauh lebih ekonomis dibanding dengan anti adesi komersial.

Peranan sel mast dan mesotel dalam mekanisme adesi intra abdominal pasca laparoskopi

Beberapa faktor berpengaruh pada mekanisme adesi intra abdominal pasca laparoskopi. Tetapi belum diketahui faktor yang paling berpengaruh pada kejadian adesi. Dari hasil regresi linier bivariate, faktor mesotel ($p=0.000$) dan sel mast ($p=0.000$) merupakan faktor yang paling berpengaruh pada kejadian adesi. Mesotel merupakan sel paling banyak dan tersusun pada permukaan peritoneum dengan luas setara dengan luas permukaan tubuh (2 m^2). Lepasnya mesotel pasca laparoskopi menyebabkan perubahan dan fungsi peritoneum. Dipengaruhi oleh perubahan sel mast pasca laparoskopi menyebabkan peningkatan adesi pasca laparoskopi pada tekanan 10 mmHg atau lebih.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Ekstrak bawang Dayak menurunkan jumlah dan degranulasi sel mast serta skoring adesi intra abdominal pasca laparoskopi

1. Ekstrak bawang Dayak menurunkan skoring adesi intra abdominal melalui penurunan TGF- β dan rasio TGF- β /IL-10
2. Ekstrak bawang Dayak menurunkan skoring adesi intra abdominal melalui peningkatan Total Antioxidant Capacity (TAC) dan penurunan Malondealdehyde (MDA)
3. Ekstrak bawang Dayak menurunkan skoring adesi intra abdominal melalui penurunan jumlah dan degranulasi sel mast, histamine dan tryptase
4. Ekstrak bawang Dayak menurunkan skoring adesi intra abdominal melalui penurunan kerusakan sel mesotel
5. Ekstrak bawang Dayak menurunkan skoring adesi intra abdominal melalui penurunan ketebalan MES
6. Ekstrak bawang Dayak menurunkan skoring adesi intra abdominal

SARAN

1. Dilakukan penelitian untuk mengidentifikasi protein perantara yang mampu berikatan dengan protein target TGF- β dan xanthine oxidase sebagai anti adesi.
2. Dilakukan penelitian pada laparoskopi untuk meneliti lebih lanjut, kerusakan sel mast akibat iskemia dan indikator nekrosis/apoptosis sel mast sebagai pencetus adesi
3. Dilakukan penelitian lanjutan pada bioaktif isoelueetherol, eleutherol dan eleutherine agar berpotensi sebagai fitofarmaka anti adesi dan pemberian intra peritoneal.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Pillai, S., 2015. *Cellular and molecular immunology*. 8th Ed. Elsevier Health Sciences. Saunders., Philadelphia.
- Abbas, B.T. and Mohamed S.A., 2012. Effect of Intraperitoneal Application of 1% Methylene Blue Solution on Prevention and/or Reduction of Adhesion Following Laparotomy in Rabbits. *Proceeding of the Eleventh Veterinary Scientific Conference*, Kurdistan, Iraq:214-224
- Aktimur, R., Gokakin, A.K., Deveci, K., Atabey, M. and Topcu, O., 2016. Oxidative stress markers in laparoscopic vs. open appendectomy for acute appendicitis: A double-blind randomized study. *Journal of minimal access surgery*, 12(2), p.143.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Morgan D., Raff M, Roberts K., Walter P., Wilson J., and Hunt T., 2015. Cell Junction and Extracellular Matrix., *Molecular Biology of the Cell*. 6th Ed. Abingdon: Garland Science:1035-090.
- Aldana, J.P.A., Marcovich, R., Singhal, P., Reddy, K., Morgenstern, N., El-Hakim, A., Smith, A.D. and Lee, B.R., 2003. Immune response to laparoscopic bowel injury. *Journal of endourology*, 17(5):317-322.
- Altinel, Y., Taspinar, E., Özgüç, H., Öztürk, E., Akyıldız, E.Ü. and Bagdas, D., 2014. The protective effect of ClinOleic against post-surgical adhesions. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 20(1):1-6.
- Aran, T., Unsal, M.A., Guven, S., Kart, C., Cetin, E.C. and Alver, A., 2012. Carbon dioxide pneumoperitoneum induces systemic oxidative stress: a clinical study. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 161(1), pp.80-83.
- Ardrey, R.E., 2003. Liquid chromatography-mass spectrometry: an introduction (Vol. 2). John Wiley & Sons:33-74
- Arung, W., Meurisse, M. and Detry, O., 2011. Pathophysiology and prevention of postoperative peritoneal adhesions. *World journal of gastroenterology: WJG*, 17(41), p.4545.
- Ashraf, M.I., Enthammer M., Haller M., Koziel K., Hermann M., Troppmair J., 2012. Intracellular signaling in ischemia/reperfusion injury (IRI): From mechanistic insights to therapeutic options. *J Transplant. Technol. Res.*;S3:1-6.
- Askari, V.R., Rahimi, V.B., Zamani, P., Fereydouni, N., Rahmanian-Devin, P., Sahebkar, A.H. and Rakhshandeh, H., 2018. Evaluation of the effects of Iranian propolis on the severity of post operational-induced peritoneal adhesion in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 99: 346-353.
- Avital, S., Itah, R., Szomstein, S., Rosenthal, R., Inbar, R., Sckornik, Y. and Weinbroum, A., 2009. Correlation of CO₂ pneumoperitoneal pressures between rodents and humans. *Surgical endoscopy*, 23(1): 50-54.
- Awonuga, A.O., Belotte, J., Abuanzeh, S., Fletcher, N.M., Diamond, M.P. and Saed, G.M., 2014. Advances in the pathogenesis of adhesion development: the role of oxidative stress. *Reproductive sciences*, 21(7): pp.823-836.

- Babu S, G.R., Anand, T., Ilaiyaraja, N., Khanum, F. and Gopalan, N., 2017. Pelargonidin modulates Keap1/Nrf2 pathway gene expression and ameliorates citrinin-induced oxidative stress in HepG2 cells. *Frontiers in pharmacology*, 8: p.868.
- Babula, P., Adam, V., Havel, L. and Kizek, R., 2009. Noteworthy secondary metabolites naphthoquinones-their occurrence, pharmacological properties and analysis. *Current Pharmaceutical Analysis*, 5(1):47-68.
- Baldwin, A.G., Brough, D. and Freeman, S., 2015. Inhibiting the inflammasome: a chemical perspective. *Journal of medicinal chemistry*, 59(5): 1691-1710.
- Baltacıoğlu, E., Yuva, P., Aydın, G., Alver, A., Kahraman, C., Karabulut, E. and Akalın, F.A., 2014. Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease?. *Journal of periodontology*, 85(10):1432-1441.
- Bankova, L.G., Lezcano, C., Pejler, G., Stevens, R.L., Murphy, G.F., Austen, K.F. and Gurish, M.F., 2014. Mouse mast cell proteases 4 and 5 mediate epidermal injury through disruption of tight junctions. *The Journal of Immunology*, 192(6):2812-2820.
- Baratawidjaja, K.G. and Rengganis, I, 2014. *Imunologi Dasar*. 11th Ed. Badan Penerbit FKUI. Jakarta.
- Basbug, M., Bulbul, N., Camci, C., Ayten, R., Aygen, E., Ozercan, I.H., Arikanoğlu, Z. and Akbulut, S., 2011. The effect of antivasculat endothelial growth factor on the development of adhesion formation in laparotomized rats: experimental study. *Gastroenterology research and practice*.
- Baysal, Z., Togrul T., Aksoy N., Cengiz M., Çelik H., and Boleken M.E., 2009. Evaluation of total oxidative and antioxidative status in pediatric patients undergoing laparoscopic surgery. *Journal of Pediatric Surgery*, 44:1367-1370.
- Beer, T. W., Baldwin, H., West, L., Gallagher, P. J., and Wright, D. H. 1998. Mast cells in pathological and surgical scars. *British journal of ophthalmology*, 82(6):691-694.
- Beg, S., Swain S., Hasan H., Barkat M.A., and Hussain, M.S., 2011. Systematic review of herbals as potential anti-inflammatory agents: Recent advances, current clinical status and future perspectives. *Pharmacognosy reviews*, 5(10):120-137.
- Beghdadi, W., Madjene, L.C., Benhamou, M., Charles, N., Gautier, G., Launay, P. and Blank, U., 2011. Mast cells as cellular sensors in inflammation and immunity. *Frontiers in immunology*, 2: p.37.
- Berdún, S., Bombuy, E., Estrada, O., Mans, E., Rychter, J., Clavé, P. and Vergara, P., 2015. Peritoneal mast cell degranulation and gastrointestinal recovery in patients undergoing colorectal surgery. *Neurogastroenterology & Motility*, 27(6):764-774.
- Betteridge, D.J., 2000. What is oxidative stress?. *Metabolism*, 49(2): pp.3-8.
- Beyene, R.T., Kavalukas, S.L. and Barbul, A., 2015. Intra-abdominal adhesions: Anatomy, physiology, pathophysiology, and treatment. *Current problems in surgery*, 52(7): 271-319.
- Bi, J., Zhang, S., Du, Z., Zhang, J., Deng, Y., Liu, C. and Zhang, J., 2017. Peripheral serotonin regulates postoperative intra-abdominal adhesion formation in mice. *Scientific reports*, 7(1): p.10001.

- Binda, M.M., and Koninckx P.P., 2009. Prevention of adhesion formation in a laparoscopic mouse model should combine local treatment with peritoneal cavity conditioning. *Human Reproduction*;24(6):1473-1479.
- Bischoff, S.C., 2007. Role of mast cells in allergic and non-allergic immune responses: comparison of human and murine data. *Nature Reviews Immunology*, 7(2): p.93.
- Bongard, F.S., Pianim, N.A., Leighton, T.A., Dubecz, S., Davis, I.P., Lippmann, M., Klein, S. and Liu, S.Y., 1993. Helium insufflation for laparoscopic operation. *Surgery, gynecology & obstetrics*, 177(2):140-146.
- Brokelman, W.J.A., Lensvelt, M., Rinkes, I.B., Klinkenbijn, J.H.G. and Reijnen, M.M.P.J., 2011. Peritoneal changes due to laparoscopic surgery. *Surgical endoscopy*, 25(1):1-9.
- Bujak, M. and Frangogiannis, N.G., 2007. The role of TGF- β signaling in myocardial infarction and cardiac remodelling. *Cardio vascular research*, 74(2):184-195.
- Cai, C., Ma, J., Han, C., Jin, Y., Zhao, G. and He, X., 2019. Extraction and antioxidant activity of total triterpenoids in the mycelium of a medicinal fungus, *Sanghuangporus sanghuang*. *Scientific reports*, 9.
- Cao, Q., Harris, D.C. and Wang, Y., 2015. Macrophages in kidney injury, inflammation, and fibrosis. *Physiology*, 30(3): pp.183-194.
- Cekic, B., Geze S., Ozkan G., Besir A., Sonmez M., and Karahan S.C., 2014. The Effect of Dexmedetomidine on Oxidative Stress during Pneumoperitoneum. *BioMed Research International*. Article ID 760323, DOI/10.1155/2014/760323.
- Cevrioglu, A.S., Sezgin Y., Tulay K., Cigdem T., Mehmet Y., and Ibrahim V.F., 2004. Comparison of the effects of low intra-abdominal pressure and ischaemic preconditioning on the generation of oxidative stress markers and inflammatory cytokines during laparoscopy in rats. *Human Reproduction* 19(9):2144-2151.
- Chelombitko, M.A., Fedorov, A.V., Ilyinskaya, O.P., Zinovkin, R.A. and Chernyak, B.V., 2016. Role of reactive oxygen species in mast cell degranulation. *Biochemistry (Moscow)*, 81(12): pp.1564-1577.
- Chen, D., Qiao, J., Sun, Z., Liu, Y., Sun, Z., Zhu, N., Xu, X., Yang, J. and Ma, G., 2019. New naphtoquinones derivatives from the edible bulbs of *Eleutherine americana* and their protective effect on the injury of human umbilical vein endothelial cells. *Fitoterapia*, 132, pp.46-52.
- Cheong, Y.C., Laird, S.M., Li, T.C., Shelton, J.B., Ledger, W.L. and Cooke, I.D., 2001. Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. *Human reproduction update*, 7(6): pp.556-566.
- Choi, R.J., Ngoc, T.M., Bae, K., Cho, H.J., Kim, D.D., Chun, J., Khan, S. and Kim, Y.S., 2013. Anti-inflammatory properties of anthraquinones and their relationship with the regulation of P-glycoprotein function and expression. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(1-2), pp.272-281.
- Coccolini, F., Ansaloni, L., Manfredi, R., Campanati, L., Poiasina, E., Bertoli, P., Capponi, M.G., Sartelli, M., Di Saverio, S., Cucchi, M. and Lazzareschi, D., 2013. Peritoneal adhesion index (PAI): proposal of a score for the "ignored iceberg" of medicine and surgery. *World Journal of Emergency Surgery*, 8(1):6.

- Cuong, D.V., Kim, H.K., Marquez, J., Kim, N., Ko, K.S., Rhee, B.D. and Han, J., 2016. Mitochondrial calcium uniporter inhibition attenuates mouse bone marrow-derived mast cell degranulation induced by beta-1, 3-glucan. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 20(2):213-220.
- Davey A.K., Hayward J., Marshall J.K., and Woods A.E., 2013. The Effects of Insufflation Conditions in Rat Mesothelium. *International Journal of Inflammation*. vol. 2013, Article ID 816283, 8 pages, doi:10.1155/2013/816283.
- de Souza Junior, D. A., Santana, A. C., da Silva, E. Z. M., Oliver, C., and Jamur, M. C. 2015. The Role of Mast Cell Specific Chymases and Tryptases in Tumor Angiogenesis. *peptides*, 31(33):36-38.
- Dong, X., Zhang C., Ma S., and Wen H., 2015. High concentrations of mast cell chymase facilitate the transduction of the transforming growth factor- β 1/Smads signaling pathway in skin fibroblasts. *Experimental and therapeutic medicine*, 9(3):955-960.
- Dong, X., Zhang, C., Ma, S. and Wen, H., 2014. Mast cell chymase in keloid induces profibrotic response via transforming growth factor- β 1/Smad activation in keloid fibroblasts. *International journal of clinical and experimental pathology*, 7(7):3596.
- Dong, Z., Saikumar, P., Weinberg, J.M. and Venkatachalam, M.A., 2006. Calcium in cell injury and death. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.*, 1:405-434.
- Erel, O., 2005. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*, 38(12):1103-1111.
- Erikoglu, M., Yol S., Avunduk M. C., Erdemli E., and Can A., 2005. Electron-microscopic alterations of the peritoneum after both cold and heated carbon dioxide pneumoperitoneum. *Journal of Surgical Research*, 125(1): 73-77.
- Ernawati, E., and Nurliani A., 2012. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) Terhadap Struktur Mikroanatomi Tubulus Seminiferus Testis Tikus Yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 6(2):93-100.
- Fioranelli, M. and Gracia, R.M., 2014. Twenty-five years of studies and trials for the therapeutic application of IL-10 immunomodulating properties. From high doses administration to low dose medicine new paradigm. *J Integr Cardiol*, 1(1): pp.2-6.
- Gambhir, S., Vyas D., Hollis M., Aekka A., and Vyas A., 2015. Nuclear factor kappa B role in inflammation associated gastrointestinal malignancies. *World journal of gastroenterology*, WJG, 21(11):3174.
- Garg, A., and Aggarwal B.B., 2002. Nuclear transcription factor-kappaB as a target for cancer drug development. *Leukemia*, 16(6):1053-1068.
- Giepmans, B.N., 2004. Gap junctions and connexin-interacting proteins. *Cardiovascular Research*, 62(2):233-245.
- Gilfillan, A.M. and Tkaczyk, C., 2006. Integrated signalling pathways for mast-cell activation. *Nature Reviews Immunology*, 6(3):218-230.
- Glantzounis, G.K., Tselepis, A.D., Tambaki, A.P., Trikalinos, T.A., Manatakis, A.D., Galaris, D.A., Tsimoyiannis, E.C. and Kappas, A.M., 2001. Laparoscopic surgery-induced changes in oxidative stress markers in human plasma. *Surgical endoscopy*, 15(11), pp.1315-1319.

- Goel, R.K., Singh, D., Lagunin, A. and Poroikov, V., 2011. PASS-assisted exploration of new therapeutic potential of natural products. *Medicinal Chemistry Research*, 20(9): 1509-1514.
- Grimbaldeston, M.A., Nakae, S., Kalesnikoff, J., Tsai, M. and Galli, S.J., 2007. Mast cell-derived interleukin 10 limits skin pathology in contact dermatitis and chronic irradiation with ultraviolet B. *Nature immunology*, 8(10), p.1095.
- Groschwitz, K.R., Wu, D., Osterfeld, H., Ahrens, R. and Hogan, S.P., 2013. Chymase-mediated intestinal epithelial permeability is regulated by a protease-activating receptor/matrix metalloproteinase-2-dependent mechanism. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 304(5):G479-G489.
- Gutt, C.N., Oniu T., Schemmer P., Mehrabi A., and Büchler M.W., 2004. Fewer adhesions induced by laparoscopic surgery? *Surg Endosc*, 18(6):898-906.
- Ha, U.S., Koh, J.S., Cho, K.J., Yoon, B.I., Lee, K.W., Hong, S.H. and Lee, J.Y., 2016. Hyaluronic acid-carboxymethylcellulose reduced postoperative bowel adhesions following laparoscopic urologic pelvic surgery: a prospective, randomized, controlled, single-blind study. *BMC urology*, 16(1):28.
- Hadibroto, 2007. Laparoscopi Operatif. Pidato Guru Besar Tetap dalam bidang Ilmu Kebidanan dan Penyakit Kandungan Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara.
- Halliwell, B. and Whiteman M. 2004 Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and cell culture: how you should do it and what do the results mean? *Br. J. Pharm*, 142(2):231-255.
- Han, A.R., Min H.Y., Nam J.W., Lee N.Y., Wiryawan, A., Suprpto, W., Lee S.L., Lee R.K., and Seo E.K., 2008. Identification of a new naphthalene and its derivatives from the bulb of *Eleutherine americana* with inhibitory activity on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(9):1314-1316.
- Han, L., Piao, X.C., Jiang, J., Jiang, X.L., Yin, C.R. and Lian, M.L., 2019. A high production of flavonoids and anthraquinones via adventitious root culture of *Oplopanax elatus* and evaluating antioxidant activity. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (PCTOC), 137(1), pp.173-179.
- Hanh, P.T.B., Thao, D.T., Nga, N.T., Phuong, N.T., Hung, L.N., Thien, D.T. and Ha, L.M., 2018. Toxicity and Anti-inflammatory Activities of an Extract of the *Eleutherine bulbosa* Rhizome on Collagen Antibody-induced Arthritis in a Mouse Model. *Natural Product Communications*, 13(7), p.1934578X1801300725.
- Hatipoglu, S., Akbulut, S., Hatipoglu, F. and Abdullayev, R., 2014. Effect of laparoscopic abdominal surgery on splanchnic circulation: historical developments. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(48): p.18165.
- Hellebrekers, B.W.J., and Kooistra T., 2011. Pathogenesis of postoperative adhesion formation. *British Journal of Surgery*, 98(11):1503-1516.
- Hendrickson, D.A., 2012. A review of equine laparoscopy. *ISRN veterinary science*.
- Hermanowicz, A., Debek, W., Oksiuta, M., Matuszczak, E., Chyczewski, L., and Dzienis-Koronkiewicz, E. 2010. Mast cells in peritoneal fluid in rats with experimentally induced peritoneal adhesions. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 48(1):153-156.

- Hou, H.W., Wang, J.M., Wang, D., Wu, R. and Ji, Z.L., 2017. Triptolide exerts protective effects against fibrosis following ileocolonic anastomosis by mechanisms involving the miR-16-1/HSP70 pathway in IL-10-deficient mice. *International journal of molecular medicine*, 40(2), pp.337-346.
- Ibrahim, M.N., Soleh, M. and Widjajanto, E., 2008. Mastosit Perivaskuler Berperan Sebagai Vasodilator Pembuluh Darah pada Mesenterium Tikus. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 25(3):138-141.
- Ibrahim, M.N., Widjajanto, E. and Rosita, R., 2006. Distribusi Mast Cell Pada Mesenterium Tikus. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 24(2).
- Ifesan, B.O.T., Joycharat N., and Voravuthikunchai S.P., 2009. The mode of anti-staphylococcal action of Eleutherine americana. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 57(2):193-201.
- Jacobi, C.A., Wenger, F., Sabat, R., Volk, T., Ordemann, J. and Müller, J.M., 1998. The impact of laparoscopy with carbon dioxide versus helium on immunologic function and tumor growth in a rat model. *Digestive surgery*, 15(2):110-116.
- Junghans, T., Böhm, B., Gründel, K. and Schwenk, W., 1997. Effects of pneumoperitoneum with carbon dioxide, argon, or helium on hemodynamic and respiratory function. *Archives of Surgery*, 132(3):272-278.
- Kalesnikoff, J., and Galli, S. J. 2008. New developments in mast cell biology. *Nature immunology*, 9(11):1215-1223.
- Kant, V., Mehta, M., Varshneya, C. and Chauhan, S., 2011. Induction of oxidative stress by subacute oral exposure of cadmium sulphate in adult poultry. *Braz J Vet Pathol*, 4(2):117-121.
- Kavic, S.M. and Kavic, S.M., 2002. Adhesions and adhesiolysis: the role of laparoscopy. *Journal-Society Of Laparoendoscopic Surgeons*, 6(2):99-110.
- Khursheed, M., and Bashyam M.D., 2014. Apico-basal polarity complex and cancer. *Journal of biosciences*, 39(1):145-155.
- Kiran, B.S.R., Lakshmi, T.M., Srikumar, R. and Reddy, E.P., 2016. Total antioxidant status and oxidative stress in diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 40(1): pp.271-277.
- Kontoulis, T.M., Pissas, D.G., Pavlidis, T.E., Pissas, G.G., Lalountas, M.A., Koliakos, G., Topouridou, K. and Sakantamis, A.K., 2012. The oxidative effect of prolonged CO2 pneumoperitoneum a comparative study in rats. *Journal of Surgical Research*, 175(2): pp.259-264.
- Kosanovic, D., Dahal, B.K., Wygrecka, M., Reiss, I., Günther, A., Ghofrani, H.A., Weissmann, N., Grimminger, F., Seeger, W., Schermuly, R.T. and Banat, G.A., 2013. Mast cell chymase: an indispensable instrument in the pathological symphony of idiopathic pulmonary fibrosis. *Histol Histopathol*, 28(6):691-699.
- Krystel-Whittemore, M., Dileepan, K.N. and Wood, J.G., 2016. Mast cell: a multi-functional master cell. *Frontiers in immunology*, 6: p.620.
- Kubes, P.A.U.L., Kanwar, S., Niu, X.F. and Gaboury, J.P., 1993. Nitric oxide synthesis inhibition induces leukocyte adhesion via superoxide and mast cells. *The FASEB Journal*, 7(13):1293-1299.

- Kuhry, E., Jeekel H.J., Bonjer., 2004. Chapter 2: Effect of laparoscopy on the immune system in Laparoscopic Surgery for Colonic Cancer. *Seminars in Laparoscopic Surgery*, 11(1):37-44.
- Kuntorini, E.M., 2013. Kemampuan Antioksidan Bulbus Bawang Dayak (Eleutherine americana Merr) Pada Umur Berbeda. *Prosiding SEMIRATA 2013*, 1(1).
- Laskowski, R.A. and Swindells, M.B., 2011. LigPlot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. *J. Chem. Inf. Model.* 2011, 51: 2778–2786
- Lee, W.J., Chan, C.P. and Wang, B.Y., 2013. Recent advances in laparoscopic surgery. *Asian journal of endoscopic surgery*, 6(1):1-8.
- Leung, K. L., Lai P.B., Ho R.L., Meng W.C., Yiu R.Y., Lee J.F., and Lau W.Y., 2000. Systemic cytokine response after laparoscopic-assisted resection of rectosigmoid carcinoma: a prospective randomized trial. *Annals of surgery*, 231(4):506-511.
- Li, N., Xie, C. and Lu, N.H., 2015. Transforming growth factor- β : an important mediator in Helicobacter pylori-associated pathogenesis. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 5.
- Li, Y., Feng, C., Wei, X., Zhang, J., Zan, R., Zheng, G., Yang, X. and Zhai, J., 2014. Activation of protease-activated receptor-2 disrupts vaginal epithelial barrier function. *Cell biology international*, 38(11):1247-1251.
- Lin, L., and Hu K., 2014. Tissue Plasminogen Activator: Side Effects and Signaling. *Journal of drug design and research*, 1(1).
- Lin, L., Bankaitis, E., Heimbach, L., Li, N., Abrink, M., Pejler, G., An, L., Diaz, L.A., Werb, Z. and Liu, Z., 2011. Dual targets for mouse mast cell protease-4 in mediating tissue damage in experimental bullous pemphigoid. *Journal of Biological Chemistry*, 286(43):37358-37367.
- Liu, C., Dunkin, D., Lai, J., Song, Y., Ceballos, C., Benkov, K. and Li, X.M., 2015. Anti-inflammatory effects of Ganoderma lucidum triterpenoid in human crohn's disease associated with downregulation of NF- κ B signaling. *Inflammatory bowel diseases*, 21(8), pp.1918-1925.
- Liu, J.Q., Zelko I.N., and Folz R.J., 2004. Reoxygenation induced constriction in murine coronary arteries: the role of endothelial NADPH oxidase (gp91phox) and intracellularsuperoxide. *J. Biol. Chem* ;279:24493-24497.
- Liu, R.M. and Desai, L.P., 2015. Reciprocal regulation of TGF- β and reactive oxygen species: a perverse cycle for fibrosis. *Redox biology*, 6: pp.565-577.
- Liu, Y., Dong, Z., Liu, H., Zhu, J., Liu, F. and Chen, G., 2015. Transition of mesothelial cell to fibroblast in peritoneal dialysis: EMT, stem cell or bystander?. *Peritoneal Dialysis International*, 35(1): 14-25.
- Locatelli, M., 2011. Anthraquinones: Analytical techniques as a novel tool to investigate on the triggering of biological targets. *Current drug targets*, 12(3), pp.366-380
- Lu, Y., Yang, J.H., Li, X., Hwangbo, K., Hwang, S.L., Taketomi, Y., Murakami, M., Chang, Y.C., Kim, C.H., Son, J.K. and Chang, H.W., 2011. Emodin, a naturally occurring anthraquinone derivative, suppresses IgE-mediated anaphylactic reaction and mast cell activation. *Biochemical pharmacology*, 82(11), pp.1700-1708.

- Lutz J, Thurmel K, and Heemann U. 2010. Anti-inflammatory treatment strategies for ischemia/reperfusion injury in transplantation. *J Inflamm* ;7(27):1-8.
- Ma, H.T. and Beaven, M.A., 2009. Regulation of Ca²⁺ signaling with particular focus on mast cells. *Critical Reviews™ in Immunology*, 29(2).
- Ma, H.T. and Beaven, M.A., 2011. Regulators of Ca²⁺ signaling in mast cells: potential targets for treatment of mast cell-related diseases?. *In Mast Cell Biology* Springer, Boston, MA. Pp: 62-90.
- Maciver, A.H., McCall, M. and Shapiro, A.J., 2011. Intra-abdominal adhesions: cellular mechanisms and strategies for prevention. *International Journal of Surgery*, 9(8), pp.589-594. doi: 10.1016/j.ijssu.2011.08.008.
- Malo, N., Hanley, J.A., Cerquozzi, S., Pelletier, J. and Nadon, R., 2006. Statistical practice in high-throughput screening data analysis. *Nature biotechnology*, 24(2): 167.
- Martantiningtyas, D.C., Nurliani, A. and Rusmiati, R., 2015. Antioxidant Effect of Ethanol Extract of Bulbus Dayak Onion (*Eleutherine americana*) to the Quality of Spermatozoa Exposed by Cigarette Smoke in Rats (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Sain Veteriner*, 33(1).
- Mataram, R., 2016. Correlation between serum level of cortisol, interleukin-10 and degree of adhesion after laparotomy and laparoscopy in rabbit with abrasion model. *Medica Hospitalia: Journal of Clinical Medicine*, 4(1).
- Mei, L., Tang, Y., Li, M., Yang, P., Liu, Z., Yuan, J. and Zheng, P., 2015. Co-administration of cholesterol-lowering probiotics and anthraquinone from *Cassia obtusifolia* L. ameliorate non-alcoholic fatty liver. *PLoS One*, 10(9), p.e0138078.
- Meléndez, G.C., McLarty, J.L., Levick, S.P., Du, Y., Janicki, J.S. and Brower, G.L., 2010. Interleukin 6 mediates myocardial fibrosis, concentric hypertrophy, and diastolic dysfunction in rats. *Hypertension*, 56(2): pp.225-231.
- Michailova, K.N. and Usunoff, K.G., 2004. The milky spots of the peritoneum and pleura: structure, development and pathology. *Biomedical Reviews*, 15: pp.47-66.
- Mila-Kierzenkowska, C., Woźniak, A., Drewa, T., Woźniak, B., Szpinda, M., Krzyżyńska-Malinowska, E. and Rajewski, R., 2003. Effects of open versus laparoscopic nephrectomy techniques on oxidative stress markers in patients with renal cell carcinoma. *Oxid Med Cell Longev* 2013; 2013: 438321. 42. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab Dispos*, 31, pp.1499-506.
- Mittal, M., Siddiqui, M.R., Tran, K., Reddy, S.P. and Malik, A.B., 2014. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & redox signaling*, 20(7): pp.1126-1167.
- Molinas, C.R. and Koninckx, P.R., 2000. Hypoxaemia induced by CO₂ or helium pneumoperitoneum is a co-factor in adhesion formation in rabbits. *Human Reproduction*, 15(8), pp.1758-1763. doi:10.1093/humrep/15.8.1758
- Molinas, C.R., Binda, M.M., Manavella, G.D., and Koninckx, P.R., 2010. Adhesion formation after laparoscopic surgery: what do we know about the role of the peritoneal environment?. *Facts, views & vision in ObGyn*, 2(3):149.
- Morgan, M.J., and Liu, Z.G., 2011. Crosstalk of reactive oxygen species and NF-κB signaling. *Cell research*, 21(1):103-115.

- Mosser, D.M. and Zhang, X., 2008. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunological reviews*, 226(1):205-218.
- Mueller, C., 2012. Danger-associated molecular patterns and inflammatory bowel disease: is there a connection?. *Digestive diseases*, 30(Suppl. 3): 40-46.
- Murray, P.J. and Wynn, T.A., 2011. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nature reviews immunology*, 11(11):723-737.
- Mutsaers, S.E., Birnie, K., Lansley, S., Herrick, S.E., Lim, C.B. and Prêle, C.M., 2015. Mesothelial cells in tissue repair and fibrosis. *Frontiers in*
- Naspiah, N., Iskandar, Y. and Moektiwardoyo, M., 2014. Artikel Ulasan: Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr.), Tanaman Multiguna. *Indonesian Journal of Applied Sciences*, 4(2).
- Neuhaus, S.J., and Watson D.I., 2004. Pneumoperitoneum and peritoneal surface changes: a review. *Surg Endosc.*,18(9):1316-22.
- Neuhaus, S.J., Gupta, A. and Watson, D.I., 2001. Helium and other alternative insufflation gases for laparoscopy. *Surgical endoscopy*, 15(6): 553-560.
- Nur, A.M., 2011. Kapasitas Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) dalam Bentuk Segar, Simplisia dan Keripik, pada Pelarut Nonpolar, Semipolar dan Polar. *Skripsi: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor*.
- Nurliani, A., Heri B.S., and Rusmiati., 2012. Efek Antioksidan Ekstrak *Bulbus* Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) pada Gambaran Histopatologis Paru-paru Tikus yang Dipapar Asap Rokok, *Bioscientiae*, 9, 1:60-69
- Oeckinghaus, A., Hayden M.S., and Ghosh S., 2011. Crosstalk in NF- κ B signaling pathways. *Nature immunology*, 12(8):695-708.
- Opal, S.M. and DePalo, V.A., 2000. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*, 117(4): pp.1162-1172.
- Ozmen, M.M., Aslar, A.K., Besler, H.T. and Cinel, I., 2002. Does splanchnic ischemia occur during laparoscopic cholecystectomy?. *Surgical Endoscopy And Other Interventional Techniques*, 16(3), pp.468-471.
- Pados, G., Makedos, A. and Tarlatzis, B., 2012. Adhesion prevention strategies in laparoscopic surgery. *In Endoscopy*. IntechOpen.
- Panasco, M.S., Pelajo-Machado, M. and Lenzi, H.L., 2010. Omental and pleural milky spots: different reactivity patterns in mice infected with *Schistosoma mansoni* reveals coelomic compartmentalisation. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 105(4)P pp.440-444.
- Panula, P., Chazot, P.L., Cowart, M., Gutzmer, R., Leurs, R., Liu, W.L., Stark, H., Thurmond, R.L. and Haas, H.L., 2015. International union of basic and clinical pharmacology. XCVIII. Histamine receptors. *Pharmacological reviews*, 67(3), pp.601-655.
- Papparella, A., Nino, F., Coppola, S., Noviello, C., Paciello, O. and Papparella, S., 2013. Peritoneal morphological changes due to pneumoperitoneum: the effect of intra-abdominal pressure. *Eur J Pediatr Surg*, 24(4):322-327.
- Paramapojn, S., Ganzera M., Gritsanapan W., and Stuppner H., 2008. Analysis of naphthoquinone derivatives in the Asian medicinal plant *Eleutherine americana* by

- RP-HPLC and LC-MS. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 47(4):990-993.
- Patel, S. and Yadav, A., 2016. Prevention of adhesion in laparoscopic gynaecological surgery. *Intel J of Repro Contracept Obs Gyne*, 5(12), pp.4099-4105.
- Payne, V. and Kam, P.C.A., 2004. Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance. *Anaesthesia*, 59(7):695-703.
- Pearce, F.L., 1985. Calcium and mast cell activation. *British journal of clinical pharmacology*, 20(S2):267S-274S.
- Pejler, G., Rönnerberg E., Waern I., and Wernersson S., 2010. Mast cell proteases: multifaceted regulators of inflammatory disease. *Blood*, 115(24):4981-4990.
- Peng, Y., Zheng, M., Ye, Q., Chen, X., Yu, B. and Liu, B., 2009. Heated and humidified CO₂ prevents hypothermia, peritoneal injury, and intra-abdominal adhesions during prolonged laparoscopic insufflations. *Journal of Surgical Research*, 151(1), pp.40-47. doi:10.1016/j.jss.2008.03.039
- Pinho, B.R., Sousa C., Valentão P., and Andrade P.B., 2011. Is Nitric Oxide Decrease Observed with Naphthoquinones in LPS Stimulated RAW 264.7 Macrophages a Beneficial Property?. *PLoS One*, 6(8), e24098:1-9.
- Pinto, A.V. and de Castro, S.L., 2009. The trypanocidal activity of naphthoquinones: a review. *Molecules*, 14(11): 4570.
- Playfair J.H.L and Chain B.M., 2013 *Innate Immune: Immunology At a Glance* , 10st Ed, Wiley-Blackwell, London, p: 18-9.
- Poehnert, D., Abbas, M., Kreipe, H.H., Klempnauer, J. and Winny, M., 2015. High reproducibility of adhesion formation in rat with meso-stitch approximation of injured cecum and abdominal wall. *International journal of medical sciences*, 12(1):1.
- Poerwosusanta, H., Utomo, D.H., Noor, Z., Oktaviyanti, I.K., Mintaroem, K., Pardjianto, B., Widodo, M.A. and Widajanto, E., 2019. Eleutherine americana Merr. extract regulates mitochondrial calcium homeostasis in intra-abdominal adhesion: A computational study. *Drug Invention Today*, 11(3).
- Pohlers, D., Brenmoehl, J., Löffler, I., Müller, C.K., Leipner, C., Schultze-Mosgau, S., Stallmach, A., Kinne, R.W. and Wolf, G., 2009. TGF- β and fibrosis in different organs—molecular pathway imprints. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1792(8):746-756.
- Pratiwi, D., and Isnindar S.W., 2013. Uji aktivitas antioksidan daun bawang dayak (Eleutherine americana Merr.) dengan metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Traditional Medicine Journal*, 18(1):9-16.
- Pribadi, A., Riwanto, I. and Budijitno, S., 2016. Kadar Kortisol, Transforming Growth Factor β , serta Derajat Adhesi Pasca Laparotomi dan Laparotomi. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 29(1), pp.64-68.
- Raffaelli, G., Ghirardello, S., Passera, S., Mosca, F. and Cavallaro, G., 2018. Oxidative stress and neonatal respiratory extracorporeal membrane oxygenation. *Frontiers in physiology*, 9: p.1739.
- Rafferty, A.T., 1973. Regeneration of parietal and visceral peritoneum: an electron microscopical study. *Journal of anatomy*, 115(Pt 3): 375.

- Richter, K., Konzack, A., Pihlajaniemi, T., Heljasvaara, R. and Kietzmann, T., 2015. Redox-fibrosis: Impact of TGF β 1 on ROS generators, mediators and functional consequences. *Redox biology*, 6: pp.344-352.
- Rojo, D. and Conget, P., 2018. Acellular derivatives of mesenchymal stem cells prevent peritoneal adhesions in an animal model. *Journal of Surgical Research*, 223, pp.198-206.
- Rout, U.K., Saed G.M., and Diamond M.P., 2005. Expression pattern and regulation of genes differ between fibroblasts of adhesion and normal human peritoneum. *Reprod Biol Endocrinol*, 3(1):1.
- Sack, M.N., Fyhrquist, F.Y., Saijonmaa, O.J., Fuster, V. and Kovacic, J.C., 2017. Basic biology of oxidative stress and the cardiovascular system: part 1 of a 3-part series. *Journal of the American College of Cardiology*, 70(2): 196-211.
- Saed, G.M. and Diamond, M.P., 2002. Hypoxia-induced irreversible up-regulation of type I collagen and transforming growth factor- β 1 in human peritoneal fibroblasts. *Fertility and sterility*, 78(1), pp.144-147.
- Sahbaz, A., Aynioglu, O., Isik, H., Ozmen, U., Cengil, O., Gun, B.D. and Gungorduk, K., 2015. Bromelain: a natural proteolytic for intra-abdominal adhesion prevention. *International Journal of Surgery*, 14:7-11.
- Saleh, C., 2010. Uji Hipoglikemik Ekstrak Etanol Umbi Eleutherine americana L Merr. *Mulawarman Scientifie*, 9(1):33-36.
- Sammour, T., 2011. The peritoneal response to injury and implications for laparoscopic insufflation (Doctoral dissertation, ResearchSpace@ Auckland).
- Sammour, T., Kahokehr, A., Soop, M. and Hill, A.G., 2010. Peritoneal damage: the inflammatory response and clinical implications of the neuro-immuno-humoral axis. *World journal of surgery*, 34(4):704-720.
- Sammour, T., Mittal, A., Loveday, B.P.T., Kahokehr, A., Phillips, A.R.J., Windsor, J.A. and Hill, A.G., 2009. Systematic review of oxidative stress associated with pneumoperitoneum. *British Journal of Surgery: Incorporating European Journal of Surgery and Swiss Surgery*, 96(8), pp.836-850.
- Sandhar, H.K., Kumar B., Prasher S., Tiwari P., Salhan M., and Sharma, P., 2011. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1):25-41.
- Sasaki, M., and John T., 2007. Oxidative Stress and Ischemia-Reperfusion Injury in Gastrointestinal Tract and Antioxidant, Protective Agents. *J. Clin. Biochem. Nutr*, 40:1-12.
- Saxena, A., Khosraviani, S., Noel S., Mohan, D., Donner, T. and Hamad, A.R.A., 2015. Interleukin-10 paradox: A potent immunoregulatory cytokine that has been difficult to harness for immunotherapy. *Cytokine*, 74(1): 27-34.
- Sengupta, P., 2013. The laboratory rat: relating its age with human's. *International journal of preventive medicine*, 4(6).
- Setiawan, N.C.E. and Febriyanti, A., 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Umbi Eleutherine palmifolia (L.) Merr dengan Metode DPPH. *JCPS*, 1(1):1-5.

- Setyowati, F.M., 2010. Etnofarmakologi dan pemakaian tanaman obat suku dayak tunjung di Kalimantan Timur. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 20(3 Sept):104-112.
- Shah, S.K., Jimenez, F., Walker, P.A., Xue, H., Uray, K.S., Aroom, K.R., Fischer, U.M., Norbury, K.C., Stewart, R.H., Laine, G.A. and Cox, C.S., 2010. A novel physiologic model for the study of abdominal compartment syndrome (ACS). *Journal of Surgical Research*, 158(2): 423.
- Sharma, M., Anderson, S.A., Schoop, R. and Hudson, J.B., 2009. Induction of multiple pro-inflammatory cytokines by respiratory viruses and reversal by standardized Echinacea, a potent antiviral herbal extract. *Antiviral Research*, 83(2): pp.165-170.
- Shi, P., Du, W., Wang, Y., Teng, X., Chen, X. and Ye, L., 2019. Total phenolic, flavonoid content, and antioxidant activity of bulbs, leaves, and flowers made from *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. *Food science & nutrition*, 7(1): pp.148-154.
- Shi, X., Zheng, Y., Liu, Z. and Yang, W., 2008. A model of calcium signaling and degranulation dynamics induced by laser irradiation in mast cells. *Chinese Science Bulletin*, 53(15): p.2315.
- Shuang, L.N., 2015. Transforming growth factor- β : an important mediator in *Helicobacter pylori*-associated pathogenesis. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 5:77.
- Singh, N., Savanur, M.A., Srivastava, S., D'Silva, P. and Muges, G., 2019. A manganese oxide nanozyme prevents the oxidative damage of biomolecules without affecting the endogenous antioxidant system. *Nanoscale*, 11(9): 3855-3863.
- Sodha, S., Nazarian, S., Adshead, J.M., Vasdev, N. and Mohan-S, G., 2015. Effect of pneumoperitoneum on renal function and physiology in patients undergoing robotic renal surgery. *Current urology*, 9(1): 1-4.
- Song, S.H., Min H.Y., Han A.R., Nam J.W., Seo E.K., Park S.W., Lee S.H., and Lee, S.K., 2009. Suppression of inducible nitric oxide synthase by (-)-isoeleutherin from the bulbs of *Eleutherine americana* through the regulation of NF- κ B activity. *International immunopharmacology*, 9(3):298-302.
- Stipancic, I., Zarkovic N., Dražen S., Sabolović S., Tatzber F., and Busic Z., 2005. Oxidative Stress Markers After Laparoscopic and Open Cholecystectomy. *Journal of Laparoendoscopic & Advanced Surgical Techniques*;15(4):347-352.
- Storjord, E. and Nielsen, E.W., 2008. Tryptase levels after suxamethonium administration and defibrillation. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 52(6):838-840.
- Suematsu, T., Hirabayashi Y., Shiraishi N., Adachi Y., Kitamura H., and Kitano S., 2001. Morphology of the murine peritoneum after pneumoperitoneum vs laparotomy. *SurgEndosc*. Sep, 15(9):954-958.
- Sugiharto, W., 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L. Merr.) Terhadap Kadar Mda (Malondialdehid) Serum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Parasetamol. *Hang Tuah Medical Journal*, 16(1), pp.110-125.
- Suhartono E., Hasyim F., dan Setiawan B., 2007. Kapita selekta biokimia : Radikal bebas, antioksidan dan penyakit. Banjarmasin: Pustaka Banua.
- Supe, A.N., Kulkarni G.V., and Supe P.A., 2010. Ergonomics in laparoscopic surgery. *Journal of Minimal Access Surgery*, 6(2):31-36.

- Swindle, E.J., Metcalfe, D.D. and Coleman, J.W., 2004. Rodent and human mast cells produce functionally significant intracellular reactive oxygen species but not nitric oxide. *Journal of Biological Chemistry*, 279(47): pp.48751-48759.
- Szklarczyk, D., Franceschini, A., Wyder, S., Forslund, K., Heller, D., Huerta-Cepas, J., Simonovic, M., Roth, A., Santos, A., Tsafou, K.P. and Kuhn, M., 2014. STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life. *Nucleic acids research*, 43(D1): D447-D452.
- Sznarkowska, A., Kostecka, A., Meller, K. and Bielawski, K.P., 2017. Inhibition of cancer antioxidant defense by natural compounds. *Oncotarget*, 8(9): p.15996.
- Takai, S., Jin, D. and Miyazaki, M., 2012. Multiple mechanisms for the action of chymase inhibitors. *Journal of pharmacological sciences*, 118(3):311-316.
- Takai, S., Jin, D., Sakaguchi, M., Katayama, S., Muramatsu, M., Sakaguchi, M., Matsumura, E., Kim, S. and Miyazaki, M., 2003. A novel chymase inhibitor, 4-[1-[[bis-(4-methyl-phenyl)-methyl]-carbamoyl]-3-(2-ethoxy-benzyl)-4-oxo-azetidine-2-yloxy]-benzoic acid (BCEAB), suppressed cardiac fibrosis in cardiomyopathic hamsters. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 305(1):17-23.
- Teller, P., and White T.K., 2011. The physiology of wound healing: injury through maturation. *Perioperative Nursing Clinics*, 6(2):159-170.
- Tharayil, A.M., Ganaw, A., Abdulrahman, S., Awan, Z.M. and Prabhakaran, S.M., 2017. Abdominal Compartment Syndrome: What Is New?. *Intensive Care*: 57.
- The, F.O., Bennink, R.J., Ankum, W.M., Buist, M.R., Busch, O.R.C., Gouma, D.J., van der Heide, S., van den Wijngaard, R.M., de Jonge, W.J. and Boeckstaens, G.E., 2008. Intestinal handling-induced mast cell activation and inflammation in human postoperative ileus. *Gut*, 57(1):33-40.
- Tian, L., Li, H., Li, Y., Liu, K., Sun, Y., Cong, Z., Luan, X., Li, Y., Chen, J., Wang, L. and Ren, Z., 2018. A combination of chitosan, cellulose, and seaweed polysaccharide inhibits postoperative intra-abdominal adhesion in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 364(3), pp.399-408.
- Trott, O. and Olson, A.J., 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2): 455-461.
- Unsal, M.A., Guven S., Imamoglu M., Aydin S., and Alver A., 2009. The effect of CO₂ insufflation-desufflation attacks in tissue oxidative stress markers during laparoscopy: a rat model. *Fert. Steril*, 92(1):363-368.
- Vaze, M.N., Joshi C.G., and Patil D.B., 2010. Molecular basis of Post-surgical Peritoneal adhesions-An Overview. *Veterinary World*, 3(12):561-566.
- Veekash, G., Wei L.X., and Su M., 2010. Carbon dioxide pneumoperitoneum, physiologic changes and anesthetic concerns. *Ambulatory Surgery*, 162:41-46.
- Virupakshaiah, D.B.M. and Rozindar, A., 2016. Role of Chymases in Human Biology: Significance, Mechanism and Functions. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 5(7):824-835.
- Volz, J., Koster S., Space, Z., and Pawletz N., 1999. Characteristic alterations of the peritoneum after carbon dioxide pneumoperitoneum. *Surg Endosc*, 13(6) :611-614.

- Wang, R., Chen, J., Zhang, Z. and Cen, Y., 2015. Role of chymase in the local renin-angiotensin system in keloids: inhibition of chymase may be an effective therapeutic approach to treat keloids. *Drug design, development and therapy*; 9, p.4979.
- Wei, D., Zhang, X.L., Wang, Y.Z., Yang, C.X. and Chen, G., 2010. Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Australian Dental Journal*, 55(1):70-78.
- Wei, G., Chen X., Wang G., Jia, P., Xu Q., Ping G., Wang K., and Li X., 2015. Inhibition of cyclooxygenase-2 prevents intra-abdominal adhesions by decreasing activity of peritoneal fibroblasts. *Drug design, development and therapy*, 9:3083.
- Weng, Z., Patel A.B., Panagiotidou, S., and Theoharides, T.C., 2014. The novel flavone tetramethoxyluteolin is a potent inhibitor of human mast cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 135(4):1044-1052.
- Widajanto, E., 2012. Mastosit, Mast cell: Studi tentang Hiposelulariti Sumsum Tulang Pada Anemia Aplastik., 1st Ed. UB Press Malang.
- Windari, T., 2017. Peranan Ekstrak Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia) Sebagai Agen Anti Tukak Lambung (Peptic ulcer) pada Tikus Wistar (Rattus norvegicus) Jantan yang Diinduksi Etanol. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 5(1).
- Wolf Jr, J.S., Carrier, S. and Stoller, M.L., 1994. Gas embolism: helium is more lethal than carbon dioxide. *Journal of laparoendoscopic surgery*, 4(3):173-177.
- Wu, X., 2011. The role of peritoneal mesothelial cells and the inflammatory response in peritoneal fibrosis. Dissertation. University of Edinburgh Edinburgh.
- Wynn, T.A. and Vannella, K.M., 2016. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. *Immunity*, 44(3): pp.450-462.
- Yang, M.Q., Ma, Y.Y., Ding, J. and Li, J.Y., 2014. The role of mast cells in ischemia and reperfusion injury. *Inflammation Research*, 63(11): pp.899-905.
- Yao, W., Yang, H., Yin, N. and Ding, G., 2014. Mast cell-nerve cell interaction at acupoint: modeling mechanotransduction pathway induced by acupuncture. *International journal of biological sciences*, 10(5): p.511.
- Yazici, S., Demirtas, S., Guclu, O., Karahan, O., Yavuz, C., Caliskan, A. and Mavitas, B., 2014. Using oxidant and antioxidant levels to predict the duration of both acute peripheral and mesenteric ischemia. *Perfusion*, p.0267659114524012.
- Yiannakopoulou E, Nikiteas N, Perrea D, Tsigris C., 2013 Effect of Laparoscopic Surgery on Oxidative Stress Response: Systematic Review. *Surgical Laparoscopy, Endoscopy & Percutaneous Techniques*, 23(2):101-108.
- Yilmaz, H.G., Tacyildiz, I.H., Keles, C., Gedik, E. and Kilinc, N., 2005. Micronized purified flavonoid fraction may prevent formation of intraperitoneal adhesions in rats. *Fertility and sterility*, 84, pp.1083-1088.
- Yoshida, K., Murata, M., Yamaguchi, T., Matsuzaki, K. and Okazaki, K., 2016. Reversible Human TGF- β Signal Shifting between Tumor Suppression and Fibro-Carcinogenesis: Implications of Smad Phospho-Isoforms for Hepatic Epithelial-Mesenchymal Transitions. *Journal of clinical medicine*, 5(1):7.

- Yung, S. and Chan, T.M., 2001. Peritoneal mesothelial cells and the extracellular matrix. *Nephrology*, 6(6), pp.250-258.
- Yung, S. and Chan, T.M., 2011. Pathophysiology of the peritoneal membrane during peritoneal dialysis: the role of hyaluronan. *BioMed Research International*, 2011.
- Yung, S. and Chan, T.M., 2012. Pathophysiological changes to the peritoneal membrane during PD-related peritonitis: the role of mesothelial cells. *Mediators of inflammation*, 2012.
- Zhou, C., Jia, P., Jiang, Z., Chen, K., Wang, G., Wang, K., Wei, G. and Li, X., 2016. Preventive Effects of the Intestine Function Recovery Decoction, a Traditional Chinese Medicine, on Postoperative Intra-Abdominal Adhesion Formation in a Rat Model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Zhu, Y.P., Brown, J.R., Sag, D., Zhang, L. and Suttles, J., 2014. Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase regulates IL-10-mediated anti-inflammatory signaling pathways in macrophages. *The Journal of Immunology*, 194(2): pp.584-594.
- Zou, Z.Y., Zhao, Y.L., Yang, X.L., Zhang, G.Y. and Zhou, H.G., 2014. Effects of different remifentanyl target concentrations on MAC BAR of sevoflurane in gynaecological patients with CO₂ pneumoperitoneum stimulus. *British journal of anaesthesia*, 114(4), pp.634-639.

Lampiran X : Analisis Statistik Bab 6

1. Perbedaan kadar TGF- β cairan peritoneal kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg cairan peritoneal

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	0,075876355	0,068506395	0,064052607	0,183394037	0,197207105
2	0,069433647	0,077318045	0,063537993	0,189915097	0,17921197
3	0,063537993	0,067591526	0,061686197	0,174863064	0,176285501
4	0,061026282	0,064919575	0,075469403	0,178575562	0,199856361
5	0,069061249	0,067955998	0,062018826	0,181370791	0,183867872
6	0,068506395	0,062185813	0,064225069	0,199856361	0,193867872
Mean	0,067906987	0,068079559	0,065165016	0,184662485	0,18838278
SD	0,005176202	0,005108953	0,005156534	0,008988518	0,009903841
Q1	0,064780094	0,065587563	0,062398618	0,179274369	0,180375946
Median	0,068783822	0,067773762	0,0637953	0,182382414	0,188867872
Q3	0,069340547	0,068368796	0,064181954	0,188284832	0,196372297
MIN	0,061026282	0,062185813	0,061686197	0,174863064	0,176285501
MAX	0,075876355	0,077318045	0,075469403	0,199856361	0,199856361

Shapiro-Wilk

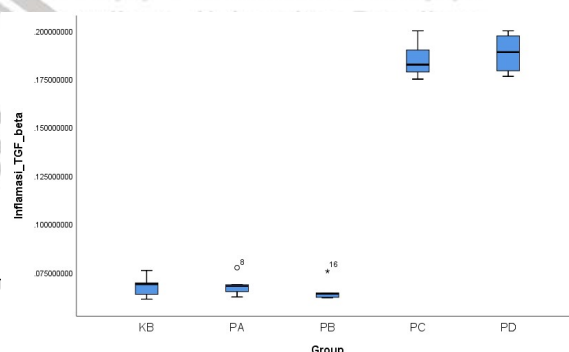
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.945	6	.700
5 mmHg	.889	6	.311
8 mmHg	.683	6	.004
10 mmHg	.935	6	.617
12 mmHg	.907	6	.416

8 mmHg nilai $P < 0.05$ tidak berdistribusi normal
Setelah ditransformasi tetap tidak normal - uji non parametrik

Kruskal Wallis

Group	N	Mean Rank
Kontrol	6	10.83
5 mmHg	6	10.75
8 mmHg	6	6.92
10 mmHg	6	23.75
12 mmHg	6	25.25
Total	30	

Kelompok TGF- β cairan peritoneal nilai $P = 0.000$ terdapat perbedaan bermakna



Test Statistics^{a,b}

Kruskal-Wallis H	21.780
df	4
Asymp. Sig.	.000
a. Kruskal Wallis Tests	
b. Grouping Variable: Group	

Uji Post Hoc Mann Withney

Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a
Kontrol	6	6.92	41.50	Z
5 mmHg	6	6.08	36.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	6	7.42	44.50	Z
8 mmHg	6	5.58	33.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	6	3.50	21.00	Z
10 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	6	3.50	21.00	Z
12 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
5 mmHg	6	8.17	49.00	Z
8 mmHg	6	4.83	29.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
5 mmHg	6	3.50	21.00	Z
10 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
5 mmHg	6	3.50	21.00	Z
12 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
8 mmHg	6	3.50	21.00	Z
10 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
8 mmHg	6	3.50	21.00	Z
12 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
10 mmHg	6	5.75	34.50	Z
12 mmHg	6	7.25	43.50	Asymp. Sig. (2-tailed)

2. Perbedaan kadar IL-10 cairan peritoneal kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	60,43404369	50,16436424	50,2673323	30,49796088	43,21438938
2	55,82891969	45,87184202	38,07674699	52,16181824	49,37343503
3	49,18726898	43,52359354	45,87184202	45,48864364	48,19572935
4	36,65313122	45,48864364	49,37343503	46,25622076	29,83996948
5	42,46586887	45,10662825	33,52359354	35,59856089	36,30035088
6	43,21438938	44,34615703	48,58713621	43,21438938	41,38937567
Mean	47,96393697	45,75020479	44,28334768	42,2029323	41,38554163
SD	8,939567526	2,31997207	6,885596163	7,849223893	7,384973904
Q1	42,652999	44,53627484	40,02552075	37,50251801	37,57260708
Median	46,20082918	45,29763595	47,22948912	44,35151651	42,30188252
Q3	54,16850701	45,77604242	49,17686033	46,06432648	46,95039436
MIN	36,65313122	43,52359354	33,52359354	30,49796088	29,83996948
MAX	60,43404369	50,16436424	50,26733231	52,16181824	49,37343503

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.958	6	.807
5 mmHg	.832	6	.112
8 mmHg	.848	6	.151
10 mmHg	.952	6	.753
12 mmHg	.946	6	.706

IL-10 cairan peritoneal $P \geq 0.05$
berdistribusi normal

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	2,183	4	25

Nilai $P > 0.05$ homogen

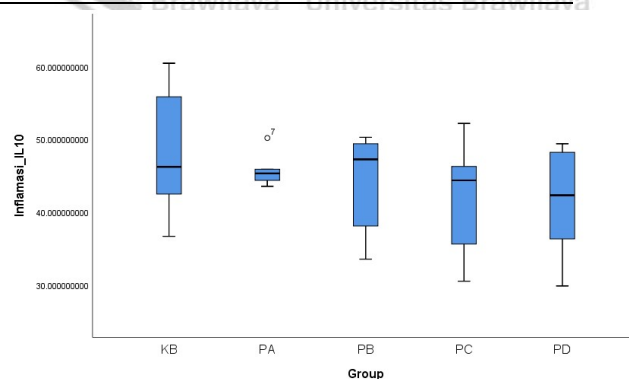
Anova

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	170.509	4	42.627	.856	.503
Within Groups	1244.289	25	49.772		
Total	1414.797	29			

Nilai $P = 0.503$ ($p > 0.05$) data IL-10 kontrol 5mmHg, 8mmHg, 10mmHg dan 12mmHg tidak terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD

		95% Confidence Interval					
(I) variabel	(J) variabel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound	
Kontrol	5 mmHg	2.213732185000	4.073145612939	.592	-6.17506823582	10.60253260582	
Kontrol	8 mmHg	3.680589288333	4.073145612939	.375	-4.70821113249	12.06938970916	
Kontrol	10 mmHg	5.761004673333	4.073145612939	.170	-2.62779574749	14.14980509416	
Kontrol	12 mmHg	6.578395340000	4.073145612939	.119	-1.81040508082	14.96719576082	
5 mmHg	8 mmHg	1.466857103333	4.073145612939	.722	-6.92194331749	9.85565752416	
5 mmHg	10 mmHg	3.547272488333	4.073145612939	.392	-4.84152793249	11.93607290916	
5 mmHg	12 mmHg	4.364663155000	4.073145612939	.294	-4.02413726582	12.75346357582	
8 mmHg	10 mmHg	2.080415385000	4.073145612939	.614	-6.30838503582	10.46921580582	
8 mmHg	12 mmHg	2.897806051667	4.073145612939	.483	-5.49099436916	11.28660647249	
10 mmHg	12 mmHg	.817390666667	4.073145612939	.843	-7.57140975416	9.20619108749	

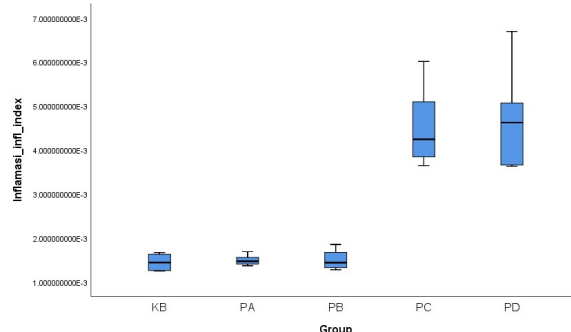


3. Perbedaan rasio TGF- β /IL-10 cairan peritoneal kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg cairan peritoneal

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	0,001255523	0,001365639	0,001274239	0,006013321	0,004563459
2	0,001243686	0,001685523	0,001668682	0,003640883	0,003629725
3	0,001291757	0,001552986	0,001344751	0,003844104	0,0036577
4	0,001664968	0,00142716	0,001528543	0,003860574	0,006697606
5	0,001626277	0,001506563	0,001850005	0,005094891	0,005065182
6	0,001585268	0,001402282	0,001321853	0,004624764	0,004684001
Mean	0,00144458	0,001490025	0,001498012	0,00451309	0,004716279
SD	0,000200416	0,000117966	0,0002274	0,000920404	0,00112898
Q1	0,001264582	0,001408501	0,001327578	0,003848221	0,00388414
Median	0,001438513	0,001466862	0,001436647	0,004242669	0,00462373
Q3	0,001616024	0,00154138	0,001633647	0,004977359	0,004969886
MIN	0,001243686	0,001365639	0,001274239	0,003640883	0,003629725
MAX	0,001664968	0,001685523	0,001850005	0,006013321	0,006697606

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	Df	Sig.
Kontrol	.800	6	.059
5 mmHg	.934	6	.615
8 mmHg	.905	6	.406
10 mmHg	.892	6	.330
12 mmHg	.888	6	.306

Indeks Inflamasi $P \geq 0.05$ berdistribusi normal



Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	4.285	4	25	.009

Nilai $P < 0.05$ tidak homogeny dilanjutkan dengan Uji Welch Post Hoc Games-Howell

Anova					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	4	.000	39.839	.000
Within Groups	.000	25	.000		
Total	.000	29			

Nilai $P = 0.000$ data Indeks Inflamasi terdapat perbedaan bermakna

Uji Welch Robust Tests of Equality of Means				
Statistic ^a	df1	df2	Sig.	
Welch	24.040	4	11.621	.000

Nilai $P = 0.000$ data Indeks Inflamasi terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Games-Howell						
		Mean Difference			95% Confidence Interval	
(I) Group	(J) Group	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	-.000045445667	.000094940926	.987	-.00037252124	.00028162991
Kontrol	8 mmHg	-.000053432333	.000123745484	.992	-.00046193127	.00035506661
Kontrol	10 mmHg	-.003068509667*	.000384558387	.002	-.00455819008	-.00157882925
Kontrol	12 mmHg	-.003271699000*	.000468109976	.004	-.00510503000	-.00143836800
5 mmHg	8 mmHg	-.000007986667	.000104584021	1.000	-.00037512324	.00035914991
5 mmHg	10 mmHg	-.003023064000*	.000378827171	.002	-.00452326626	-.00152286174
5 mmHg	12 mmHg	-.003226253333*	.000463413231	.005	-.00506919707	-.00138330959
8 mmHg	10 mmHg	-.003015077333*	.000387051923	.002	-.00450121049	-.00152894418
8 mmHg	12 mmHg	-.003218266667*	.000470160598	.004	-.00504800386	-.00138852947
10 mmHg	12 mmHg	-.000203189333	.000594662254	.997	-.00217566747	.00176928880

4. Perbedaan kadar peroksida (H_2O_2)/Total Oxidant Status (TOS) cairan peritoneal kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg cairan peritoneal

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	0,536423996	0,60947505	0,263902579	2,960396262	1,726565091
2	0,340688588	0,346738843	0,241028931	0,902522578	0,953293859
3	0,427079813	0,235370544	0,207457472	0,22973689	1,153657349
4	0,263902579	0,201953518	0,196476822	0,458763423	0,529868781
5	0,252418433	0,427079813	0,960588011	0,58938425	0,677309385
6	0,264102682	0,264123554	0,273890763	2,028160681	1,808138893
Mean	0,347436015	0,347456887	0,357224096	1,194827347	1,141472226
SD	0,114066419	0,152100537	0,297143873	1,071155558	0,531383778
Q1	0,263952605	0,242558797	0,215850337	0,49141863	0,746305504
Median	0,302395635	0,305431198	0,252465755	0,745953414	1,053475604
Q3	0,405482007	0,40699457	0,271393717	1,746751155	1,583338156
MIN	0,252418433	0,201953518	0,196476822	0,22973689	0,529868781
MAX	0,536423996	0,60947505	0,960588011	2,960396262	1,808138893

Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	Df	Sig.
Kontrol	.850	6	.158
5 mmHg	.903	6	.390
8 mmHg	.594	6	.000
10 mmHg	.862	6	.197
12 mmHg	.911	6	.443

Kadar Peroksida (H_2O_2) $P \geq 0.05$
berdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances inverse

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	.890	4	25	.484

Nilai $P > 0.05$ data homogen

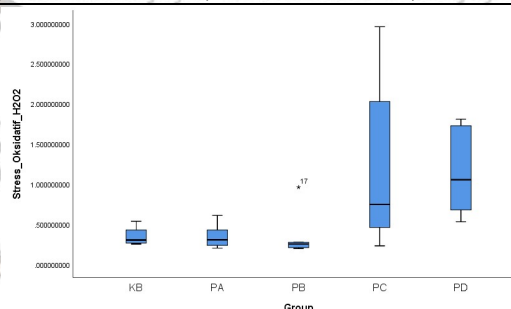
ANOVA inverse

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	31.605	4	7.901	5.761	.002
Within Groups	34.288	25	1.372		
Total	65.893	29			

Nilai $P = 0.002$, kadar peroksida (H_2O_2) terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD inverse

(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	-.19572	.67614	.775	-1.5883	1.1968
Kontrol	8 mmHg	-.64365	.67614	.350	-2.0362	.7489
Kontrol	10 mmHg	1.41836*	.67614	.046	.0258	2.8109
Kontrol	12 mmHg	2.04442*	.67614	.006	.6519	3.4370
5 mmHg	8 mmHg	-.44793	.67614	.514	-1.8405	.9446
5 mmHg	10 mmHg	1.61408*	.67614	.025	.2215	3.0066
5 mmHg	12 mmHg	2.24015*	.67614	.003	.8476	3.6327
8 mmHg	10 mmHg	2.06201*	.67614	.005	.6695	3.4546
8 mmHg	12 mmHg	2.68808*	.67614	.001	1.2955	4.0806
10 mmHg	12 mmHg	.62606	.67614	.363	-.7665	2.0186



Transformasi inverse - Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.877	6	.257
5 mmHg	.977	6	.934
8 mmHg	.840	6	.131
10 mmHg	.883	6	.284
12 mmHg	.916	6	.480

$P > 0.05$ berdistribusi normal

5. Perbedaan kadar Total Antioxidant Capacity (TAC) cairan peritoneal kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg cairan peritoneal

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	7,291777188	12,96816976	17,31830239	8,22546419	6,071618037
2	6,734748011	10,26259947	10,81962865	6,82493369	6,018567639
3	12,83554377	6,522546419	6,575596817	6,575596817	7,795755968
4	12,0928382	12,33156499	8,485411141	6,973474801	8,087533156
5	21,933687	15,14323607	6,973474801	6,67639257	8,83554377
6	20,933687	10,24323607	13,31830239	5,575596817	7,53554377
Mean	13,63704686	11,24522546	10,58178603	6,808576481	7,39076039
SD	6,52696498	2,953519638	4,156681205	0,851706611	1,129683535
Q1	8,49204244	10,24807692	7,351458886	6,600795755	6,43759947
Median	12,46419098	11,29708223	9,652519896	6,75066313	7,665649869
Q3	18,90915119	12,8091857	12,69363396	6,936339523	8,014588859
MIN	6,734748011	6,522546419	6,575596817	5,575596817	6,018567639
MAX	21,933687	15,14323607	17,31830239	8,22546419	8,83554377

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.877	6	.255
5 mmHg	.966	6	.863
8 mmHg	.916	6	.475
10 mmHg	.922	6	.519
12 mmHg	.903	6	.390

Kelompok TAC $P \geq 0.05$ berdistribusi normal

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	5.858	4	25	.002

Nilai $P < 0.05$ tidak homogen sehingga menggunakan uji welch dan post hoc games howell

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	192.527	4	48.132	3.409	.023
Within Groups	353.021	25	14.121		
Total	545.548	29			

Nilai $P = 0.023$, TAC terdapat perbedaan bermakna

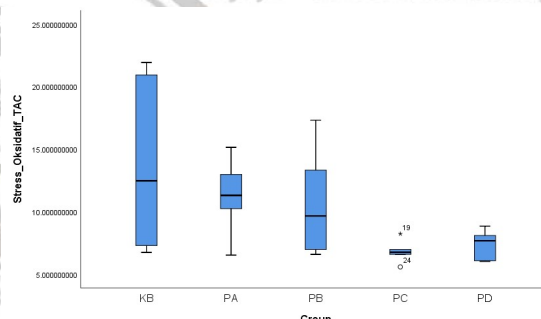
Robust Tests of Equality of Means

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	4.701	4	11.577	.017

Nilai $P = 0.017$, TAC terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc Games Howell

(I) variabel	(J) variabel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	2.391821398333	2.924737882243	.917	-8.08764924977	12.87129204644
Kontrol	8 mmHg	3.055260830000	3.159094555541	.863	-7.70820581201	13.81872747201
Kontrol	10 mmHg	6.828470380667	2.687212805750	.215	-3.80838239389	17.46532315523
Kontrol	12 mmHg	6.246286471500	2.704239163405	.271	-4.35653048300	16.84910342600
5 mmHg	8 mmHg	.663439431667	2.081717115181	.997	-6.33261213344	7.65949099677
5 mmHg	10 mmHg	4.436648982333	1.254902546088	.066	-.31775869480	9.19105665947
5 mmHg	12 mmHg	3.854465073167	1.290959793984	.113	-.88129086050	8.59022100684
8 mmHg	10 mmHg	3.773209550667	1.732214516508	.310	-2.96157904461	10.50799814595
8 mmHg	12 mmHg	3.191025641500	1.758511848327	.446	-3.50793746641	9.88998874941
10 mmHg	12 mmHg	-.582183909167	.577579581743	.846	-2.51106432031	1.34669650197



6. Perbedaan Oksidatif Stres Index (OSI) kelompok Kontrol, Laparoskopik dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopik dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopik dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopik dengan tekanan 12 mmHg cairan peritoneal

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	0,073565604	0,046997769	0,015238363	0,359906285	6,071618037
2	0,050586687	0,033786649	0,022277006	0,132239025	6,018567639
3	0,033273215	0,036085683	0,031549603	0,0349378	7,795755968
4	0,021823047	0,016376958	0,023154661	0,065786919	8,087533156
5	0,011508254	0,028202678	0,137748832	0,088278849	8,83554377
6	0,012616157	0,025785167	0,020564991	0,363756697	7,53554377
Mean	0,033895494	0,031205817	0,041755576	0,174150929	7,39076039
SD	0,024299973	0,010374554	0,047321199	0,14880126	1,129683535
Q1	0,01491788	0,026389545	0,020992994	0,071409902	6,43759947
Median	0,027548131	0,030994663	0,022715834	0,110258937	7,665649869
Q3	0,046258319	0,035510925	0,029450868	0,30298947	8,014588859
MIN	0,011508254	0,016376958	0,015238363	0,0349378	6,018567639
MAX	0,073565604	0,046997769	0,137748832	0,363756697	8,83554377

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.901	6	.379
5 mmHg	.989	6	.987
8 mmHg	.600	6	.000
10 mmHg	.801	6	.061
12 mmHg	.929	6	.569

8 mmHg tidak berdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances inverse				
Levene				
	Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	3.986	4	25	.012

P < 0.05 tidak homogen

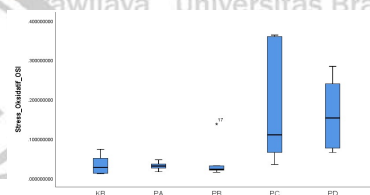
ANOVA inverse					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7182.600	4	1795.650	5.454	.003
Within Groups	8230.960	25	329.238		
Total	15413.561	29			

Uji Welch inverse				
	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	8.631	4	11.395	.002

P = 0.002, OSI terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc Games Howell inverse

(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	10.25139	13.82406	.939	-39.3379	59.8407
Kontrol	8 mmHg	5.68553	14.91868	.995	-45.1974	56.5685
Kontrol	10 mmHg	34.52600	13.22408	.184	-15.1187	84.1707
Kontrol	12 mmHg	37.72215	12.76523	.137	-12.5240	87.9683
5 mmHg	8 mmHg	-4.56586	9.77663	.989	-37.4230	28.2912
5 mmHg	10 mmHg	24.27461*	6.92038	.041	.9875	47.5617
5 mmHg	12 mmHg	27.47076*	5.99721	.019	5.2151	49.7264
8 mmHg	10 mmHg	-4.56586	9.77663	.989	-37.4230	28.2912
8 mmHg	12 mmHg	24.27461*	6.92038	.041	.9875	47.5617
10 mmHg	12 mmHg	3.19615	4.44277	.946	-12.5025	18.8948



Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.892		.327
5 mmHg	.887		.302
8 mmHg	.945		.697
10 mmHg	.881		.273
12 mmHg	.868		.217

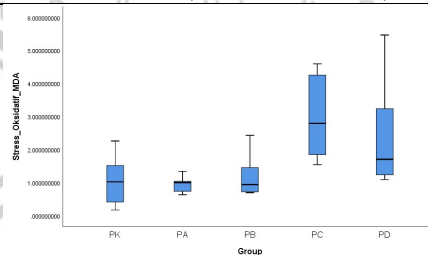
P > 0.05 berdistribusi normal

7. Perbedaan kadar MDA jaringan peritoneal kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	0,410715272	1,341407998	1,452378204	1,8477094	1,836257382
2	0,81164222	0,736891947	0,722789186	1,54313556	1,575975116
3	2,26021273	0,631344642	0,692036941	1,99903428	1,236790449
4	0,16722655	1,038400096	0,994219669	4,59791925	5,471303611
5	1,513602776	0,975192128	2,43007642	4,25591244	1,089795799
6	1,23267991	1,024400096	0,884219669	3,58888193	3,236564045
Mean	1,066013243	0,957939484	1,195953348	2,97209881	2,407781067
SD	0,76891666	0,250504644	0,664003599	1,33603391	1,685164459
Q1	0,510947009	0,796466992	0,763146807	1,88554062	1,321586616
Median	1,022161065	0,999796112	0,939219669	2,7939581	1,706116249
Q3	1,44337206	1,034900096	1,33783857	4,08915481	2,886487379
MIN	0,16722655	0,631344642	0,692036941	1,54313556	1,089795799
MAX	2,26021273	1,341407998	2,43007642	4,59791925	5,471303611

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.969	6	.886
5 mmHg	.948	6	.728
8 mmHg	.805	6	.065
10 mmHg	.866	6	.212
12 mmHg	.815	6	.080

MDA $P \geq 0.05$ berdistribusi normal



Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	5.250	4	25	.003

Nilai $P < 0.05$ tidak homogen

Anova					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.943	4	4.986	4.358	.008
Within Groups	28.598	25	1.144		
Total	48.541	29			

Robust Tests of Equality of Means				
Uji Welch				
	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	3.677	4	11.092	.039

Nilai $P = 0.039$ data MDA terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Games-Howell						
(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
Kontrol	5 mmHg	.108073758500	.330147796841	.997	-1.12698135249	1.34312886949
Kontrol	8 mmHg	-.129940105167	.414755672948	.998	-1.50053436266	1.24065415233
Kontrol	10 mmHg	-1.906085567167	.629314367608	.090	-4.08122116758	.26905003325
Kontrol	12 mmHg	-1.341767824000	.756197954888	.453	-4.04794728126	1.36441163326
5 mmHg	8 mmHg	-.238013863667	.289727848123	.915	-1.30276600701	.82673827967
5 mmHg	10 mmHg	-2.014159325667	.554938312800	.066	-4.18195944830	.15364079696
5 mmHg	12 mmHg	-1.449841582500	.695525200631	.345	-4.19252738118	1.29284421618
8 mmHg	10 mmHg	-1.776145462000	.609082286310	.111	-3.92818156018	.37589063618
8 mmHg	12 mmHg	-1.211827718833	.739445741888	.523	-3.91367888730	1.49002344963
10 mmHg	12 mmHg	.564317743167	.877948922336	.964	-2.35425720037	3.48289268670

8. Profil total sel mast mesenterium kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	43	65	84	69	94
2	53	60	63	95	83
3	36	58	54	87	93
4	46	62	66	114	91
5	47	53	61	84	91
6	42	60	66	90	90
Mean	44,5	59,66666667	65,66666667	89,83333333	90,33333333
SD	5,683308895	4,03319559	10,01332446	14,74336009	3,881580434
Q1	42,25	58,5	61,5	84,75	90,25
Median	44,5	60	64,5	88,5	91
Q3	46,75	61,5	66	93,75	92,5
MIN	36	53	54	69	83
MAX	53	65	84	114	94

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.983	6	.965
5 mmHg	.960	6	.823
8 mmHg	.876	6	.252
10 mmHg	.959	6	.813
12 mmHg	.832	6	.111

Total mast cell mesenterium, $P \geq 0.05$ berdistribusi normal

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	1.534	4	25	.223

Nilai $P > 0.05$ data homogen

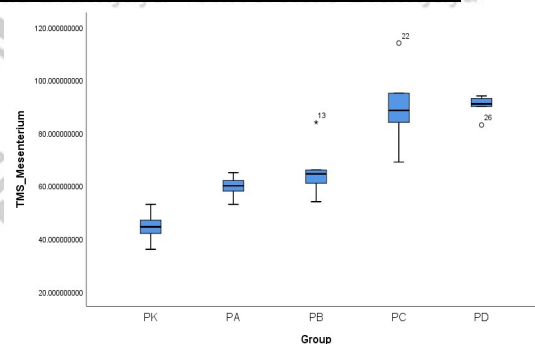
Anova

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9495.667	4	2373.917	31.132	.000
Within Groups	1906.333	25	76.253		
Total	11402.000	29			

Nilai $P = 0.000$ ($p < 0.05$) data total mast cell terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD

(I) variabel	(J) variabel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	-15.166666666667	5.041604682815	.006	-25.55004587866	-4.78328745467
Kontrol	8 mmHg	-21.166666666667	5.041604682815	.000	-31.55004587866	-10.78328745467
Kontrol	10 mmHg	-45.333333333333	5.041604682815	.000	-55.71671254533	-34.94995412134
Kontrol	12 mmHg	-45.833333333333	5.041604682815	.000	-56.21671254533	-35.44995412134
5 mmHg	8 mmHg	-6.000000000000	5.041604682815	.245	-16.38337921200	4.38337921200
5 mmHg	10 mmHg	-30.166666666667	5.041604682815	.000	-40.55004587866	-19.78328745467
5 mmHg	12 mmHg	-30.666666666667	5.041604682815	.000	-41.05004587866	-20.28328745467
8 mmHg	10 mmHg	-24.166666666667	5.041604682815	.000	-34.55004587866	-13.78328745467
8 mmHg	12 mmHg	-24.666666666667	5.041604682815	.000	-35.05004587866	-14.28328745467
10 mmHg	12 mmHg	-.500000000000	5.041604682815	.922	-10.88337921200	9.88337921200



9. Profil degranulasi sel mast omentum kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg	
1		2	72,30769231	88,0952381	89,85507246	95,3125
2		0	90	77,36507937	93,33333333	71,42857143
3		0	100	100	97,76119403	91,56626506
4		17	73,5483871	76,96969697	96,31578947	100
5		4,47761194	83,01886792	81,96721311	94,59459459	96,72131148
6		9,756097561	83,5	84,5	94,5	91,5
Mean		5,538951584	83,72915789	84,81620459	94,39333065	91,08810799
SD		6,695528962	10,37996878	8,562749447	2,713286527	10,15771584
Q1		0,5	75,9160073	78,5156128	93,625	91,51656627
Median		3,23880597	83,25943396	83,23360656	94,5472973	93,43938253
Q3		8,436476156	88,375	87,19642857	95,88549075	96,36910861
MIN		0	72,30769231	76,96969697	89,85507246	71,42857143
MAX		17	100	100	97,76119403	100

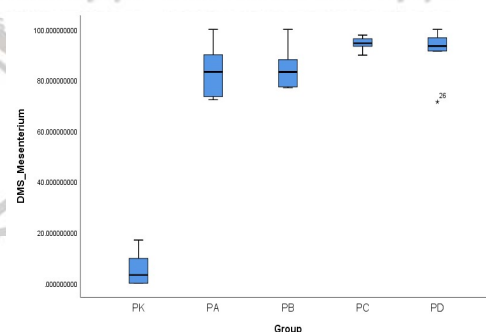
Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	Df	Sig.
Kontrol	.860	6	.191
5 mmHg	.937	6	.634
8 mmHg	.888	6	.308
10 mmHg	.955	6	.780
12 mmHg	.788	6	.046

12 mmHg tidak berdistribusi normal

Setelah ditransformasi tidak ada perubahan - uji non parametrik

Kruskal Walis

Ranks		
Group	N	Mean Rank
Kontrol	6	3.50
5 mmHg	6	15.17
8 mmHg	6	15.50
10 mmHg	6	22.50
12 mmHg	6	20.83
Total	30	



Kruskal-Wallis H	17.172
df	4
Asymp. Sig.	.002

a. Kruskal Wallis Tests

b. Grouping Variable: Group

Degranulasi mast cell mesenterium nilai $P=0.002$ terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Mann Withney

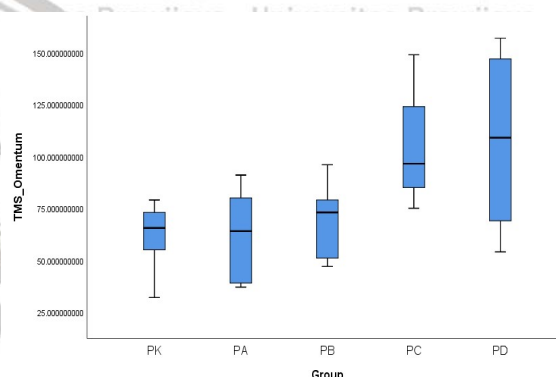
Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a		
Kontrol	6	3.50	21.00	Z		-2.887
5 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.004
Kontrol	6	3.50	21.00	Z		-2.887
8 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.004
Kontrol	6	3.50	21.00	Z		-2.887
10 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.004
Kontrol	6	3.50	21.00	Z		-2.887
12 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.004
5 mmHg	6	6.25	37.50	Z		-.241
8 mmHg	6	6.75	40.50	Asymp. Sig. (2-tailed)		.810
5 mmHg	6	4.67	28.00	Z		-1.761
10 mmHg	6	8.33	50.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.078
5 mmHg	6	5.25	31.50	Z		-1.203
12 mmHg	6	7.75	46.50	Asymp. Sig. (2-tailed)		.229
8 mmHg	6	4.50	27.00	Z		-1.922
10 mmHg	6	8.50	51.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.055
8 mmHg	6	5.25	31.50	Z		-1.203
12 mmHg	6	7.75	46.50	Asymp. Sig. (2-tailed)		.229
10 mmHg	6	6.67	40.00	Z		-.160
12 mmHg	6	6.33	38.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.873

10. Profil total sel mast omentum kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	67	91	76	75	157
2	55	80	96	85	147
3	73	39	47	89	69
4	32	37	79	149	118
5	64	65	51	124	54
6	79	63	70	104	100
Mean	61,66666667	62,5	69,83333333	104,3333333	107,5
SD	16,65733072	21,57544901	18,34575337	27,75367843	41,28316848
Q1	57,25	45	55,75	86	76,75
Median	65,5	64	73	96,5	109
Q3	71,5	76,25	78,25	119	139,75
MIN	32	37	47	75	54
MAX	79	91	96	149	157

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.910	6	.438
5 mmHg	.925	6	.544
8 mmHg	.946	6	.706
10 mmHg	.930	6	.581
12 mmHg	.944	6	.695

Total mast cell omentum $P > 0.05$ berdistribusi normal



Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	2.252	4	25	.092

Nilai $P > 0.05$ data homogeny

Anova					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12523.667	4	3130.917	4.405	.008
Within Groups	17770.500	25	710.820		
Total	30294.167	29			

Nilai $P = 0.008$ ($p < 0.05$) data total mast cell omentum terdapat perbedaan bermakna

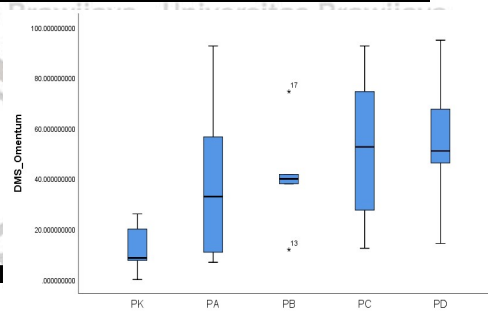
Post Hoc LSD						
(I) variabel	(J) variabel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	-.8333333333333	15.392855485582	.957	-32.53551264285	30.86884597618
Kontrol	8 mmHg	-8.1666666666667	15.392855485582	.600	-39.86884597618	23.53551264285
Kontrol	10 mmHg	-42.666666666666	15.392855485582	.010	-74.36884597618	-10.96448735715
Kontrol	12 mmHg	-45.833333333333	15.392855485582	.006	-77.53551264285	-14.13115402382
5 mmHg	8 mmHg	-7.3333333333333	15.392855485582	.638	-39.03551264285	24.36884597618
5 mmHg	10 mmHg	-41.833333333333	15.392855485582	.012	-73.53551264285	-10.13115402382
5 mmHg	12 mmHg	-45.000000000000	15.392855485582	.007	-76.70217930951	-13.29782069049
8 mmHg	10 mmHg	-34.500000000000	15.392855485582	.034	-66.20217930951	-2.79782069049
8 mmHg	12 mmHg	-37.666666666667	15.392855485582	.022	-69.36884597618	-5.96448735715
10 mmHg	12 mmHg	-3.1666666666667	15.392855485582	.839	-34.86884597618	28.53551264285

11. Profil degranulasi sel mast omentum kelompok kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8 mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	0	10,82802548	11,84210526	57,33333333	14,28571429
2	20	6,802721088	41,66666667	12,38095238	46,25
3	26,02739726	56,52173913	38,29787234	27,52293578	94,87179487
4	9,375	27,11864407	37,97468354	92,59259259	67,56756757
5	7,8125	92,59259259	74,50980392	74,50980392	47,69230769
6	7,594936709	38,7	41,5	47,83456544	54,25543678
Mean	11,80163899	38,76062039	40,96518862	52,02903057	54,15380353
SD	9,469552843	32,09490627	19,95109516	29,56022898	26,57660547
Q1	7,649327532	14,90068013	38,05548074	32,60084319	46,61057692
Median	8,59375	32,90932203	39,89893617	52,58394939	50,97387224
Q3	17,34375	52,06630435	41,625	70,21568627	64,23953487
MIN	0	6,802721088	11,84210526	12,38095238	14,28571429
MAX	26,02739726	92,59259259	74,50980392	92,59259259	94,87179487

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.924	6	.535
5 mmHg	.925	6	.539
8 mmHg	.870	6	.226
10 mmHg	.985	6	.974
12 mmHg	.965	6	.857

Degranulasi mast cell omentum $P > 0.05$, berdistribusi normal



Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	1.290	4	25	.301

Nilai $P > 0.05$ data homogen

Anova

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6849.566	4	1712.392	2.764	.050
Within Groups	15489.624	25	619.585		
Total	22339.190	29			

Nilai $P = 0.05$, data degranulasi mast cell omentum tidak terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) variabel	(J) variabel				Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	-26.958981398167	14.371093054245	.072	-56.55680158859	2.63883879225
Kontrol	8 mmHg	-29.163549626833	14.371093054245	.053	-58.76136981725	.43427056359
Kontrol	10 mmHg	-40.227391578500*	14.371093054245	.010	-69.82521176892	-10.62957138808
Kontrol	12 mmHg	-42.352164538500*	14.371093054245	.007	-71.94998472892	-12.75434434808
5 mmHg	8 mmHg	-2.204568228667	14.371093054245	.879	-31.80238841909	27.39325196175
5 mmHg	10 mmHg	-13.268410180333	14.371093054245	.365	-42.86623037075	16.32941001009
5 mmHg	12 mmHg	-15.393183140333	14.371093054245	.294	-44.99100333075	14.20463705009
8 mmHg	10 mmHg	-11.063841951667	14.371093054245	.449	-40.66166214209	18.53397823875
8 mmHg	12 mmHg	-13.188614911667	14.371093054245	.368	-42.78643510209	16.40920527875
10 mmHg	12 mmHg	-2.124772960000	14.371093054245	.884	-31.72259315042	27.47304723042

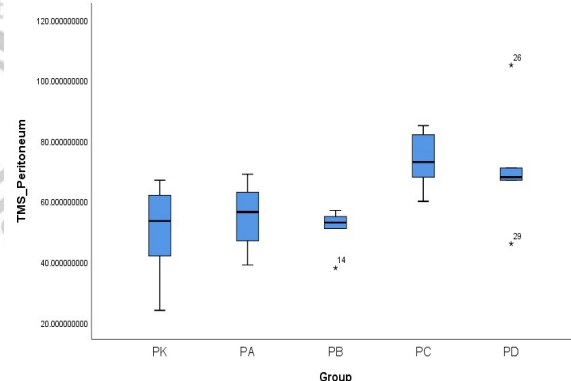
12. Profil total sel mast peritoneal kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg tekanan 8mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	24	39	55	68	69
2	42	58	38	72	105
3	60	63	53	82	67
4	67	69	53	60	67
5	47	47	57	85	46
6	62	55	51	74	71
Mean	50,33333333	55,16666667	51,16666667	73,5	70,83333333
SD	16,00833116	10,85203514	6,765106552	9,159694318	19,06217896
Q1	43,25	49	51,5	69	67
Median	53,5	56,5	53	73	68
Q3	61,5	61,75	54,5	80	70,5
MIN	24	39	38	60	46
MAX	67	69	57	85	105

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	Df	Sig.
Kontrol	.924	6	.535
5 mmHg	.982	6	.961
8 mmHg	.778	6	.037
10 mmHg	.971	6	.898
12 mmHg	.847	6	.150

8 mmHg tidak berdistribusi normal
Setelah ditransformasi tidak ada perubahan - uji non parametrik
Kruskal Walis

Ranks		
Group	N	Mean Rank
Kontrol	6	10.67
5 mmHg	6	12.75
8 mmHg	6	8.92
10 mmHg	6	24.58
12 mmHg	6	20.58
Total	30	



Kruskal-Wallis H	14.166
df	4
Asymp. Sig.	.007

a. Kruskal Wallis Tests
b. Grouping Variable: Group

Total mast cell peritoneum, nilai P=0.007 terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Mann Withney

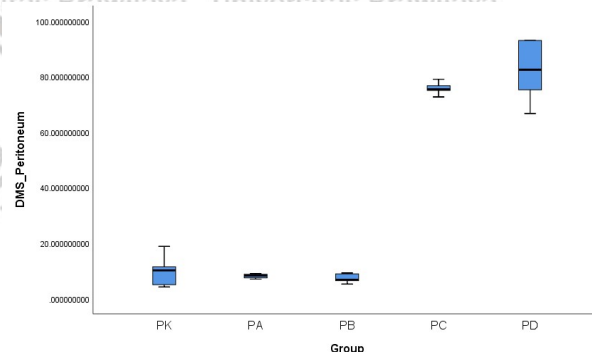
Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a
Kontrol	6	6.08	36.50	Z
5 mmHg	6	6.92	41.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	6	6.83	41.00	Z
8 mmHg	6	6.17	37.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	6	3.92	23.50	Z
10 mmHg	6	9.08	54.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	6	4.33	26.00	Z
12 mmHg	6	8.67	52.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
5 mmHg	6	7.58	45.50	Z
8 mmHg	6	5.42	32.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
5 mmHg	6	4.00	24.00	Z
10 mmHg	6	9.00	54.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
5 mmHg	6	4.75	28.50	Z
12 mmHg	6	8.25	49.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
8 mmHg	6	3.50	21.00	Z
10 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
8 mmHg	6	4.33	26.00	Z
12 mmHg	6	8.67	52.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
10 mmHg	6	7.50	45.00	Z
12 mmHg	6	5.50	33.00	Asymp. Sig. (2-tailed)

13 Profil degranulasi sel mast peritoneal kelompok Kontrol, tekanan 5 mmHg, tekanan 8mmHg, tekanan 10 mmHg dan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	4,166666667	8,974358974	5,230769231	72,64705882	66,66666667
2	11,42857143	8,448275862	9,210526316	75	75,23809524
3	5	6,984126984	6,438356164	79,03225806	92,98245614
4	18,80597015	8,695652174	6,438356164	76,66666667	92,98245614
5	10,63829787	7,446808511	8,867924528	75,29411765	82,60869565
6	9,677419355	8,15	7,25	75,5	82,3
Mean	9,952820912	8,116537084	7,239322067	75,69001687	82,12972831
SD	5,274691112	0,763320649	1,539836578	2,100141928	10,22176782
Q1	6,169354839	7,622606383	6,438356164	75,07352941	77,00357143
Median	10,15785861	8,299137931	6,844178082	75,39705882	82,45434783
Q3	11,23100304	8,633808096	8,463443396	76,375	90,38901602
MIN	18,80597015	8,974358974	9,210526316	79,03225806	92,98245614
MAX	4,166666667	6,984126984	5,230769231	72,64705882	66,66666667

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.918	6	.493
5 mmHg	.942	6	.675
8 mmHg	.926	6	.546
10 mmHg	.956	6	.788
12 mmHg	.920	6	.509

Degranulasi mast cell peritoneum $P \geq 0.05$ berdistribusi normal



Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	4.541	4	25

Nilai $P < 0.05$ tidak homogen sehingga menggunakan uji welch dan post hoc games howell

Anova				
	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Between Groups	35906.469	4	8976.617	321.348
Within Groups	698.356	25	27.934	
Total	36604.825	29		

Robust Tests of Equality of Means				
	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	1255.655	4	11.278	.000

Nilai $P = 0.000$, Degranulasi mast cell peritoneum terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc Games Howell

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) variabel	(J) variabel				Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	1.836283827833	2.175814971412	.906	-6.75103758996	10.42360524563
Kontrol	8 mmHg	2.713498844833	2.243266331851	.748	-5.77539829494	11.20239598461
Kontrol	10 mmHg	-65.737195954667*	2.317792140628	.000	-74.19420216176	-57.28018974757
Kontrol	12 mmHg	-72.176907394667*	4.695865266919	.000	-88.67465156066	-55.67916322867
5 mmHg	8 mmHg	.877215017000	.701635601010	.726	-1.60279938931	3.35722942331
5 mmHg	10 mmHg	-67.573479782500*	.912254946899	.000	-70.94204703842	-64.20491252658
5 mmHg	12 mmHg	-74.013191222500*	4.184638489290	.000	-90.72492233806	-57.30146010694
8 mmHg	10 mmHg	-68.450694799500*	1.063147277634	.000	-72.01131340681	-64.89007619219
8 mmHg	12 mmHg	-74.890406239500*	4.220103355588	.000	-91.52433943820	-58.25647304080
10 mmHg	12 mmHg	-6.439711440000	4.260186486925	.594	-23.00058259286	10.12115971286

14. Perbedaan kadar *histamine* cairan peritoneal kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	0,014107146	0,061342941	0,013459721	0,053998881	0,103600454
2	0,076038912	0,02668937	0,013459721	0,17952341	0,252797177
3	0,035858024	0,007357166	0,092998884	0,401687628	0,128346693
4	0,060932622	0,055468149	0,075530293	0,613429415	0,114507599
5	0,019732202	0,014394061	0,0346747	0,818181454	0,892773099
6	0,045858024	0,02668937	0,013459721	0,918181454	0,992773099
Mean	0,042087822	0,031990176	0,040597173	0,497500374	0,41413302
SD	0,023847515	0,021842187	0,035243898	0,346476976	0,41420517
Q1	0,023763658	0,017467888	0,013459721	0,235064464	0,117967372
Median	0,040858024	0,02668937	0,02406721	0,507558521	0,190571935
Q3	0,057163973	0,048273454	0,065316394	0,766993444	0,732779118
MIN	0,014107146	0,007357166	0,013459721	0,053998881	0,103600454
MAX	0,076038912	0,061342941	0,092998884	0,918181454	0,992773099

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.961	6	.826
5 mmHg	.896	6	.353
8 mmHg	.799	6	.057
10 mmHg	.946	6	.709
12 mmHg	.748	6	.019

12 mmHgr P <0.05 tidak berdistribusi normal ...

Transformasi log10 - Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.947	6	.714
5 mmHg	.934	6	.612
8 mmHg	.805	6	.065
10 mmHg	.881	6	.275
12 mmHg	.819	6	.086

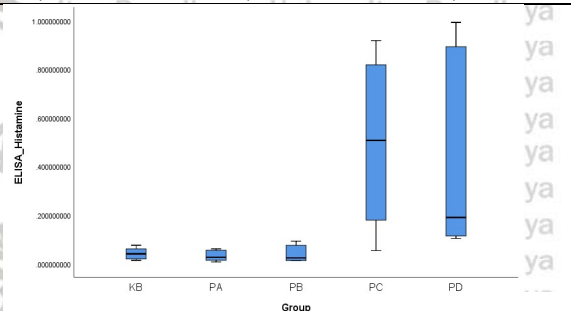
P>0.05 berdistribusi normal

ANOVA log10					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.452	4	1.863	11.920	.000
Within Groups	3.907	25	.156		
Total	11.359	29			

Nilai P=0.000, Histamin terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD log 10

(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	.15285	.22824	.509	-.3172	.6229
Kontrol	8 mmHg	.09213	.22824	.690	-.3779	.5622
Kontrol	10 mmHg	-.98791*	.22824	.000	-1.4580	-.5178
Kontrol	12 mmHg	-.86774*	.22824	.001	-1.3378	-.3977
5 mmHg	8 mmHg	-.06072	.22824	.792	-.5308	.4093
5 mmHg	10 mmHg	-1.14076*	.22824	.000	-1.6108	-.6707
5 mmHg	12 mmHg	-1.02059*	.22824	.000	-1.4907	-.5505
8 mmHg	10 mmHg	-1.08004*	.22824	.000	-1.5501	-.6100
8 mmHg	12 mmHg	-.95987*	.22824	.000	-1.4299	-.4898
10 mmHg	12 mmHg	.12017	.22824	.603	-.3499	.5902



Test of Homogeneity of Variances log 10

Levene				
	Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	.705	4	25	.596

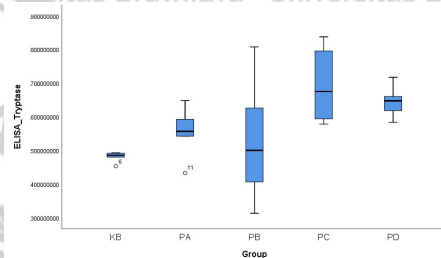
P>0.05 data homogen

15. Perbedaan *tryptase* cairan peritoneal kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	0,48780849	0,542280288	0,807561061	0,660092752	0,618222179
2	0,479881778	0,592292005	0,626062559	0,795440298	0,717344473
3	0,491511004	0,560343075	0,469118531	0,837620901	0,63480187
4	0,492751409	0,647731829	0,313036127	0,578278286	0,660092752
5	0,482915155	0,432767288	0,406339156	0,593786748	0,583402237
6	0,452853541	0,552628837	0,530786004	0,690092752	0,660092752
Mean	0,481286896	0,554673887	0,525483906	0,692551956	0,645659377
SD	0,01477552	0,070888709	0,174481108	0,105360045	0,045391705
Q1	0,480640122	0,544867425	0,422034	0,610363249	0,622367102
Median	0,485361823	0,556485956	0,499952267	0,675092752	0,647447311
Q3	0,490585375	0,584304773	0,60224342	0,769103412	0,660092752
MIN	0,452853541	0,432767288	0,313036127	0,578278286	0,583402237
MAX	0,492751409	0,647731829	0,807561061	0,837620901	0,717344473

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.789	6	.047
5 mmHg	.931	6	.587
8 mmHg	.974	6	.919
10 mmHg	.920	6	.507
12 mmHg	.973	6	.910

Tryptase kontrol $P < 0.05$ tidak berdistribusi normal



Transformasi exp2 - Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.793	6	.051
5 mmHg	.943	6	.681
8 mmHg	.945	6	.697
10 mmHg	.914	6	.461
12 mmHg	.968	6	.880

$P > 0.05$ berdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances exp2

Levene			
Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	4.014	4	.012

$P < 0.05$ data tidak homogen

ANOVA exp2

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.592	4	.148	4.478	.007
Within Groups	.827	25	.033		
Total	1.419	29			

Uji Welch exp2

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	17.702	4	10.558	.000

Nilai $P = 0.000$, *Tryptase* terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc Games Howell exp2

(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	-.12667	.05051	.218	-.3236	.0702
Kontrol	8 mmHg	-.09510	.12718	.936	-.6029	.4127
Kontrol	10 mmHg	-.38986*	.08805	.033	-.7397	-.0400
Kontrol	12 mmHg	-.29059*	.03686	.002	-.4310	-.1502
5 mmHg	8 mmHg	.03158	.13615	.999	-.4664	.5296
5 mmHg	10 mmHg	-.26318	.10059	.158	-.6117	.0853
5 mmHg	12 mmHg	-.16391	.06102	.133	-.3687	.0409
8 mmHg	10 mmHg	-.29476	.15408	.376	-.8143	.2248
8 mmHg	12 mmHg	-.19549	.13170	.606	-.6958	.3048
10 mmHg	12 mmHg	.09927	.09447	.825	-.2445	.4430

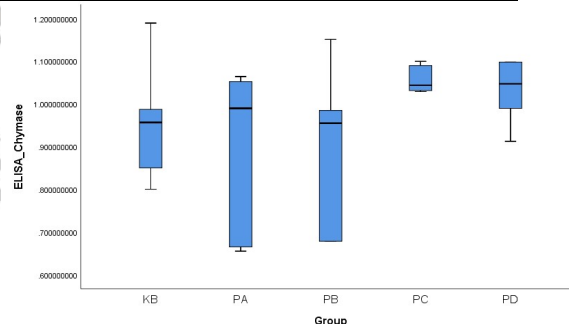
16. Perbedaan *chymase* cairan peritoneal kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg (P2), Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	0,98720117	0,982275027	1,151361866	1,089716923	0,989673498
2	1,189415168	0,997127695	0,929683144	1,036544875	1,068128396
3	0,929683144	1,064128419	0,984735018	1,028796008	0,912405432
4	0,800125656	0,664926321	0,678365511	1,031372506	1,097924644
5	0,983504253	1,05221814	0,979821181	1,050903032	1,026225947
6	0,850012566	0,654926321	0,678365511	1,099716923	1,097924644
Mean	0,956656993	0,90260032	0,900388705	1,056175045	1,032047094
SD	0,135965269	0,190573682	0,187540986	0,030980213	0,072284298
Q1	0,86993021	0,744263498	0,741194919	1,032665598	0,99881161
Median	0,956593699	0,989701361	0,954752163	1,043723953	1,047177171
Q3	0,986276941	1,038445529	0,983506559	1,08001345	1,090475582
	0,800125656	0,654926321	0,678365511	1,028796008	0,912405432
MIN					
MAX	0,800125656	0,654926321	0,678365511	1,028796008	0,912405432

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.932	6	.598
5 mmHg	.767	6	.029
8 mmHg	.885	6	.294
10 mmHg	.834	6	.115
12 mmHg	.900	6	.376

Chymase 5mmHg nilai $P < 0.05$ tidak berdistribusi normal
Setelah ditransformasi tetap tidak normal - uji non parametrik
Kruskal Walis

Ranks			
	Group	N	Mean Rank
ELISA Chymase	Kontrol	6	12.58
	5 mmHg	6	12.50
	8 mmHg	6	11.25
	10 mmHg	6	21.83
	12 mmHg	6	19.33
	Total	30	



Test Statistics ^{a,b}	
ELISA Chymase	
Kruskal-Wallis H	7.001
df	4
Asymp. Sig.	.136

a. Kruskal Wallis Tests

b. Grouping Variable: Group

Kelompok *Chymase* nilai $P = 0.136$, tidak terdapat perbedaan bermakna

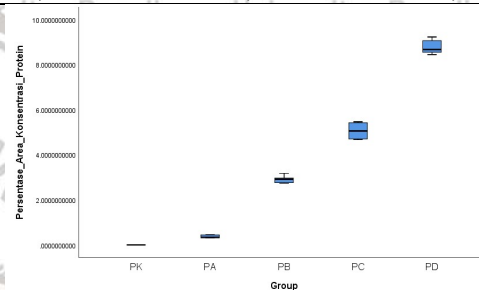
Uji Post Hoc Mann Withney					
Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a	
Kontrol	6	6.50	39.00	Z	.000
5 mmHg	6	6.50	39.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Kontrol	6	7.08	42.50	Z	-.562
8 mmHg	6	5.92	35.50	Asymp. Sig. (2-tailed)	.574
Kontrol	6	4.50	27.00	Z	-1.922
10 mmHg	6	8.50	51.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.055
Kontrol	6	5.00	30.00	Z	-1.444
12 mmHg	6	8.00	48.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.149
5 mmHg	6	6.67	40.00	Z	-.160
8 mmHg	6	6.33	38.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.873
5 mmHg	6	4.83	29.00	Z	-1.601
10 mmHg	6	8.17	49.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.109
5 mmHg	6	5.00	30.00	Z	-1.444
12 mmHg	6	8.00	48.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.149
8 mmHg	6	4.50	27.00	Z	-1.925
10 mmHg	6	8.50	51.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.054
8 mmHg	6	5.00	30.00	Z	-1.446
12 mmHg	6	8.00	48.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.148
10 mmHg	6	7.17	43.00	Z	-.642
12 mmHg	6	5.83	35.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.521

17. Perbedaan ekspresi Zone Occludin-1 jaringan peritoneal kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	0,001488125	0,3134	2,9680625	5,4638125	9,059125
2	0,00171875	0,363125	2,952375	4,8914375	8,554375
3	0,001473125	0,3200625	2,741375	5,2214375	9,2243125
4	0,001567438	0,449875	2,7629375	5,4180625	8,7846875
5	0,00171875	0,447625	3,17753125	4,674625	8,5443125
6	0,00171875	0,3164375	2,8773125	4,703125	8,444875
Mean	0,001614156	0,368420833	2,913265625	5,062083333	8,768614583
SD	0,000118976	0,06481391	0,159878779	0,352589361	0,314112265
Q1	0,001484375	0,315678125	2,757546875	4,696	8,519453125
Median	0,001643094	0,34159375	2,91484375	5,0564375	8,66953125
Q3	0,00171875	0,4265	2,964140625	5,36890625	8,990515625
MIN	0,00171875	0,449875	3,17753125	5,4638125	9,2243125
MAX	0,001473125	0,3134	2,741375	4,674625	8,444875

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.787	6	.045
5 mmHg	.785	6	.043
8 mmHg	.929	6	.575
10 mmHg	.874	6	.244
12 mmHg	.899	6	.369

Kontrol dan 5 mmHg, $P < 0.05$ tidak berdistribusi normal



Test of Homogeneity of Variances inverse				
Levene				
	Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	51.294	4	25	.000

$P < 0.05$ data tidak homogen

Transformasi inverse - Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.793	6	.051
5 mmHg	.804	6	.064
8 mmHg	.940	6	.658
10 mmHg	.874	6	.241
12 mmHg	.904	6	.395

$P > 0.05$ berdistribusi normal

ANOVA inverse					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1854185.406	4	463546.352	1070.288	.000
Within Groups	10827.607	25	433.104		
Total	1865013.013	29			

Uji Welch inverse				
	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	488.226	4	10.564	.000

Nilai $P = 0.000$, Luas area konsentrasi protein terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc Games Howellinverse						
(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	619.5946309507314	18.9978985729994	.000	543.390420084240	695.798841817223
Kontrol	8 mmHg	622.0315486615843	18.9969866855941	.000	545.825055908296	698.238041414872
Kontrol	10 mmHg	622.1773000148587	18.9969860301086	.000	545.970805620578	698.383794409139
Kontrol	12 mmHg	622.2614853470840	18.9969852637214	.000	546.054989034171	698.467981659998
5 mmHg	8 mmHg	2.4369177108530	.1864417415068	.000	1.689994576734	3.183840844972
5 mmHg	10 mmHg	2.5826690641273	.1863749405793	.000	1.835580637339	3.329757490916
5 mmHg	12 mmHg	2.6668543963526	.1862968072253	.000	1.919571251853	3.414137540852
8 mmHg	10 mmHg	.1457513532743	.0094106931690	.000	.114303011981	.177199694568
8 mmHg	12 mmHg	.2299366854997	.0077099320553	.000	.200077509748	.259795861251
10 mmHg	12 mmHg	.0841853322253	.0058769509228	.000	.061945054278	.106425610172

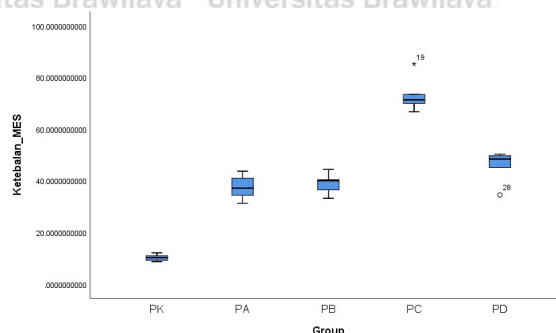
18. Perbedaan ketebalan MES jaringan peritoneal kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	8,7	41	39,9	85,2	45,1
2	10,5	34,4	44,4	71,4	49,7
3	11,0	31,3	40,2	73,4	47,8
4	12,1	34,8	40,4	66,7	34,5
5	10,0	39,5	33,2	69,9	49
6	9,2	43,7	36,5	71,2	50,3
Mean	10,25	37,45	39,1	72,96666667	46,06666667
SD	1,234098862	4,69073555	3,826225294	6,388948792	5,957404356
Q1	9,2	34,4	36,5	69,9	45,1
Median	10,25	37,15	40,05	71,3	48,4
Q3	10,875	40,625	40,35	72,9	49,525
MIN	8,7	31,3	33,2	66,7	34,5
MAX	12,1	43,7	44,4	85,2	50,3

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.983	6	.964
5 mmHg	.953	6	.766
8 mmHg	.946	6	.710
10 mmHg	.815	6	.079
12 mmHg	.753	6	.021

MES 12 mmhg nilai $P < 0.05$ tidak berdistribusi normal
Setelah di transformasi tetap tidak normal - uji non parametric
Kruskal Wallis

Ranks		
Group	N	Mean Rank
Kontrol	6	3.50
5 mmHg	6	12.50
8 mmHg	6	14.00
10 mmHg	6	27.50
12 mmHg	6	20.00
Total	30	



Test Statistics^{a,b}

Ketebalan MES	
Kruskal-Wallis H	24.735
df	4
Asymp. Sig.	.004
a. Kruskal Wallis Tests	
b. Grouping Variable: Group	

Ketebalan MES nilai $P = 0.004$ terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Mann Withney

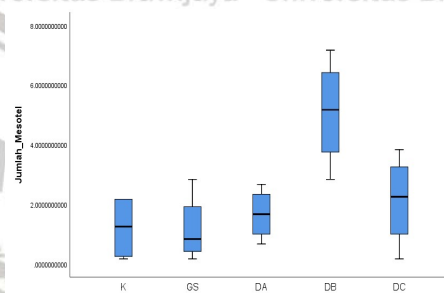
Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a	
Kontrol	6	3.50	21.00	Z	-2.882
5 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Kontrol	6	3.50	21.00	Z	-2.882
8 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Kontrol	6	3.50	21.00	Z	-2.882
10 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Kontrol	6	3.50	21.00	Z	-2.882
12 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
5 mmHg	6	5.83	35.00	Z	-.641
8 mmHg	6	7.17	43.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.522
5 mmHg	6	3.50	21.00	Z	-2.882
10 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
5 mmHg	6	4.17	25.00	Z	-2.242
12 mmHg	6	8.83	53.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.025
8 mmHg	6	3.50	21.00	Z	-2.882
10 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
8 mmHg	6	4.33	26.00	Z	-2.082
12 mmHg	6	8.67	52.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
10 mmHg	6	9.50	57.00	Z	-2.882
12 mmHg	6	3.50	21.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.004

19. Perbedaan mesotel peritoneum kelompok Kontrol (K), Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg (P1), Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg (P2), Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg (P3) dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg (P4)

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
Omentum	29,66666667	18,16666667	6	3,833333333	0,833333333
Hepar	20,33333333	14,33333333	0,833333333	0,166666667	1,166666667
Peritoneum	19,83333333	11,66666667	0,833333333	0,333333333	0,166666667
Usus	20	15,16666667	2,833333333	2,166666667	1,166666667
Mean	22,45833333	14,83333333	2,625	1,625	0,833333333
SD	4,81004928	2,677063067	2,439546861	1,728706431	0,471404521
Q1	19,95833333	13,66666667	0,833333333	0,291666667	0,666666667
Median	20,16666667	14,75	1,833333333	1,25	1
Q3	22,66666667	15,91666667	3,625	2,583333333	1,166666667
MIN	19,83333333	11,66666667	0,833333333	0,166666667	0,166666667
MAX	29,66666667	18,16666667	6	3,833333333	1,166666667

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.765	4	.053
5 mmHg	.879	4	.335
8 mmHg	.993	4	.972
10 mmHg	.997	4	.990
12 mmHg	.991	4	.963

Kelompok jumlah mesotel
 $P \geq 0.05$ berdistribusi normal



Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	.603	4	15	.666

Nilai $P > 0.05$ data homogen

Anova					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.569	4	10.642	5.909	.005
Within Groups	27.014	15	1.801		
Total	69.583	19			

Nilai $P = 0.005$ ($p < 0.05$) data jumlah mesotel terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD						
		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) variabel	(J) variabel				Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	.041666667500	.9489272695923	.966	-1.980923930792	2.064257264292
Kontrol	8 mmHg	-.4583333332500	.9489272695923	.636	-2.480923930792	1.564257264292
Kontrol	10 mmHg	-3.8750000000000	.9489272695923	.001	-5.897590597542	-1.852409402458
Kontrol	12 mmHg	-.9166666665000	.9489272695923	.349	-2.939257264042	1.105923931042
5 mmHg	8 mmHg	-.5000000000000	.9489272695923	.606	-2.522590597542	1.522590597542
5 mmHg	10 mmHg	-3.916666667500*	.9489272695923	.001	-5.939257264292	-1.894076069208
5 mmHg	12 mmHg	-.9583333332500	.9489272695923	.329	-2.980923930792	1.064257264292
8 mmHg	10 mmHg	-3.416666667500*	.9489272695923	.003	-5.439257264292	-1.394076069208
8 mmHg	12 mmHg	-.4583333332500	.9489272695923	.636	-2.480923930792	1.564257264292
10 mmHg	12 mmHg	2.9583333335000*	.9489272695923	.007	.935742735958	4.980923931042

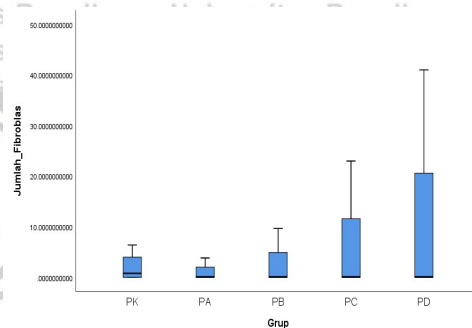
20. Perubahan fibroblas peritoneum kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
Omentum	0	0	0	0	0
Hepar	0	0	0	0	0
Peritoneum	1,6	0,166666667	0,166666667	0,166666667	0,166666667
Usus	6,4	3,833333333	9,666666667	23	41
Mean	2	1,89052217	2,458333333	5,791666667	10,29166667
SD	3,028751118	1,89052217	4,806197773	11,47249125	20,47237298
Q1	0	0	0	0	0
Median	0,8	0,083333333	0,083333333	0,083333333	0,083333333
Q3	2,8	1,083333333	2,541666667	5,875	10,375
MIN	0	0	0	0	0
MAX	6,4	3,833333333	9,666666667	23	41

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	Df	Sig.
Kontrol	.791	4	.086
5 mmHg	.661	4	.004
8 mmHg	.642	4	.002
10 mmHg	.635	4	.002
12 mmHg	.633	4	.001

5mmHg, 8 mmHg, 10mmHg, 12mmHg tidak berdistribusi Normal. Setelah ditransformasi tidak ada perubahan uji non parametrik Kruskal Wallis

Ranks		
Group	N	Mean Rank
Kontrol	4	10.75
5 mmHg	4	9.88
8 mmHg	4	10.38
10 mmHg	4	10.63
12 mmHg	4	10.88
Total	20	



Kruskal-Wallis H	.082
df	4
Asymp. Sig.	.999
a. Kruskal Wallis Tests	
b. Grouping Variable: Group	

Kelompok jumlah fibroblas nilai $P=0.999$, tidak terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Mann Withney

Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a
Kontrol	4	4.75	19.00	Z
5 mmHg	4	4.25	17.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	4	4.50	18.00	Z
8 mmHg	4	4.50	18.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	4	4.50	18.00	Z
10 mmHg	4	4.50	18.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	4	4.50	18.00	Z
12 mmHg	4	4.50	18.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
5 mmHg	4	4.38	17.50	Z
8 mmHg	4	4.63	18.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
5 mmHg	4	4.38	17.50	Z
10 mmHg	4	4.63	18.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
5 mmHg	4	4.38	17.50	Z
12 mmHg	4	4.63	18.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
8 mmHg	4	4.38	17.50	Z
10 mmHg	4	4.63	18.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
8 mmHg	4	4.38	17.50	Z
12 mmHg	4	4.63	18.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
10 mmHg	4	4.38	17.50	Z
12 mmHg	4	4.63	18.50	Asymp. Sig. (2-tailed)

21 Perubahan vaskular peritoneum kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
Omentum	1	8,833333333	5,166666667	1,833333333	8,666666667
Hepar	0,2	0	0	0	0
Peritoneum	1	6,5	12,66666667	0,333333333	12,16666667
Usus	5,5	3,833333333	5,5	2,5	6,5
Mean	1,925	4,791666667	5,833333333	1,166666667	6,833333333
SD	2,412985702	3,791742978	5,205054523	1,194121403	5,118955333
Q1	1	5,166666667	5,333333333	1,083333333	7,583333333
Median	0,8	2,875	3,875	0,25	4,875
Q3	1	5,166666667	5,333333333	1,083333333	7,583333333
MIN	2,125	7,083333333	7,291666667	2	9,541666667
MAX	0,2	0	0	0	0

Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.760	4	.047
5 mmHg	.984	4	.924
8 mmHg	.944	4	.681
10 mmHg	.905	4	.457
12 mmHg	.968	4	.827

Kontrol $P < 0.05$ tidak berdistribusi normal

Transformasi exp0.25 - Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.869	4	.294
5 mmHg	.885	4	.359
8 mmHg	.913	4	.499
10 mmHg	.934	4	.620
12 mmHg	.846	4	.215

$P > 0.05$ berdistribusi normal

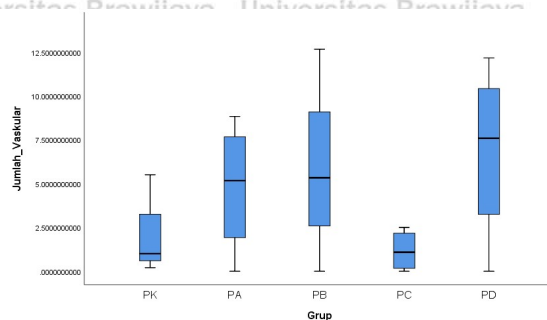
ANOVA exp 0.25

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.433	4	1.358	.905	.486
Within Groups	22.504	15	1.500		
Total	27.937	19			

Nilai $P = 0.486$ ($p > 0.05$), jumlah vaskular tidak terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD inverse

(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	-.6717676796691	.8661080871446	.450	-2.517833368419	1.174298009081
Kontrol	8 mmHg	-.8462106929708	.8661080871446	.344	-2.692276381721	.999854995779
Kontrol	10 mmHg	.3199814939442	.8661080871446	.717	-1.526084194806	2.166047182694
Kontrol	12 mmHg	-1.0472708733595	.8661080871446	.245	-2.893336562110	.798794815391
5 mmHg	8 mmHg	-.1744430133016	.8661080871446	.843	-2.020508702052	1.671622675448
5 mmHg	10 mmHg	.9917491736134	.8661080871446	.270	-.854316515137	2.837814862363
5 mmHg	12 mmHg	-.3755031936903	.8661080871446	.671	-2.221568882440	1.470562495060
8 mmHg	10 mmHg	1.1661921869150	.8661080871446	.198	-.679873501835	3.012257875665
8 mmHg	12 mmHg	-.2010601803887	.8661080871446	.820	-2.047125869139	1.645005508361
10 mmHg	12 mmHg	-1.3672523673037	.8661080871446	.135	-3.213318056054	.478813321446



Test of Homogeneity of Variances exp 0.25

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	.541	4	15	.708

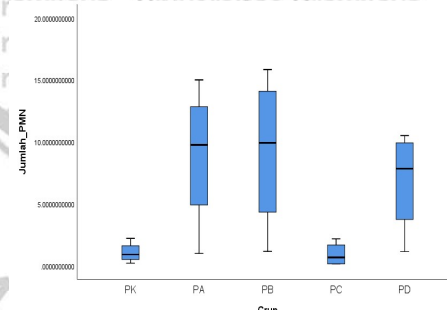
$P > 0.05$ data homogen

22. Perubahan sel polimorfonuklear peritoneum kelompok Kontrol (K), Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg (P1), Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg (P2), Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg (P3) dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg (P4)

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
Omentum	0,2	0,983333333	1,15	0,133333333	1,133333333
Hepar	0,8	10,66666667	12,33333333	0,166666667	10,5
Peritoneum	2,2	15	15,83333333	2,166666667	6,333333333
Usus	1	8,833333333	7,5	1,166666667	9,333333333
Mean	1,05	8,870833333	9,204166667	0,908333333	6,825
SD	0,838649708	5,859629223	6,36425747	0,966235536	4,180676447
Q1	0,65	6,870833333	5,9125	0,158333333	5,033333333
Median	0,9	9,75	9,916666667	0,666666667	7,833333333
Q3	1,3	11,75	13,20833333	1,416666667	9,625
MIN	0,2	0,983333333	1,15	0,133333333	1,133333333
MAX	2,2	15	15,83333333	2,166666667	10,5

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.939	4	.650
5 mmHg	.959	4	.772
8 mmHg	.977	4	.884
10 mmHg	.873	4	.310
12 mmHg	.918	4	.524

Jumlah PMN $P \geq 0.05$ berdistribusi normal



Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	2.703	4	15	.071

Nilai $P > 0.05$ data homogen

Anova					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	270.570	4	67.643	3.600	.030
Within Groups	281.862	15	18.791		
Total	552.432	19			

Nilai $P = 0.030$ ($p < 0.05$) data jumlah PMN kontrol terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) variabel	(J) variabel				Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	-7.8208333340000*	3.0651921271432	.022	-14.354135700453	-1.287530967547
Kontrol	8 mmHg	-8.1541666650000*	3.0651921271432	.018	-14.687469031453	-1.620864298547
Kontrol	10 mmHg	-1.4166666650000	3.0651921271432	.964	-6.391635699953	6.674969032953
Kontrol	12 mmHg	-5.7749999997500	3.0651921271432	.079	-12.308302366203	-.758302366703
5 mmHg	8 mmHg	-.3333333310000	3.0651921271432	.915	-6.866635697453	6.199969035453
5 mmHg	10 mmHg	7.9625000005000*	3.0651921271432	.020	1.429197634047	14.495802366953
5 mmHg	12 mmHg	2.0458333342500	3.0651921271432	.515	-4.487469032203	8.579135700703
8 mmHg	10 mmHg	8.2958333315000*	3.0651921271432	.016	1.762530965047	14.829135697953
8 mmHg	12 mmHg	2.3791666652500	3.0651921271432	.450	-4.154135701203	8.912469031703
10 mmHg	12 mmHg	8.2958333315000*	3.0651921271432	.016	1.762530965047	14.829135697953

23. Perubahan penebalan glikokalix peritoneum kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg.

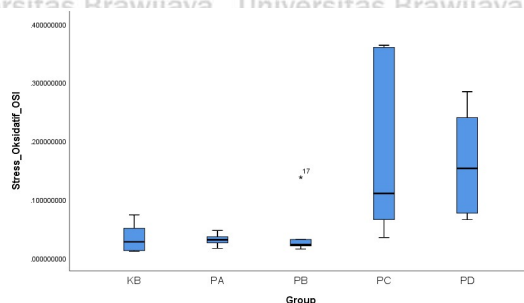
Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
Omentum	2,95	2,7	1,216666667	0,316666667	0,333333333
Hepar	2,233333333	2,066666667	0,8	0,183333333	0,35
Peritoneum	15,71025	7,6	2,45	1,85	1,016666667
Usus	2,216666667	0,8	0,733333333	0,183333333	0,383333333
Mean	5,7775625	3,291666667	1,3	0,633333333	0,520833333
SD	6,630609077	2,978860707	0,795938766	0,813542778	0,331208505
Q1	2,591666667	2,383333333	1,008333333	0,25	0,366666667
Median	2,229166667	1,75	0,783333333	0,183333333	0,345833333
Q3	2,591666667	2,383333333	1,008333333	0,25	0,366666667
MIN	6,1400625	3,925	1,525	0,7	0,541666667
MAX	2,216666667	0,8	0,733333333	0,183333333	0,333333333

Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.669	4	.005
5 mmHg	.858	4	.253
8 mmHg	.821	4	.145
10 mmHg	.687	4	.008
12 mmHg	.686	4	.008

Kontrol, 10 mmHg, 12 mmHg P < 0.05

tidak berdistribusi normal



Test of Homogeneity of Variances inverse

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	5.968	4	15	.004

P < 0.05 data tidak homogen

Transformasi inverse - Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.813	4	.128
5 mmHg	.884	4	.357
8 mmHg	.928	4	.585
10 mmHg	.860	4	.262
12 mmHg	.779	4	.070

P > 0.05 berdistribusi normal

ANOVA inverse

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	31.617	4	7.904	5.810	.005
Within Groups	20.408	15	1.361		
Total	52.025	19			

Uji Welch inverse

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	6.049	4	6.725	.021

Nilai P = 0.021 (p < 0.05), glikokaliks terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc Games Howell inverse

(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	.23357	.25834	.882	-1.4082	.9411
Kontrol	8 mmHg	-.63555	.23631	.213	-1.6840	.4129
Kontrol	10 mmHg	-3.32650	1.17343	.226	-9.4976	2.8446
Kontrol	12 mmHg	-2.03698	.47544	.078	-4.4345	.3606
5 mmHg	8 mmHg	-.40197	.32558	.735	-1.6276	.8236
5 mmHg	10 mmHg	-3.09293	1.19461	.262	-9.0833	2.8975
5 mmHg	12 mmHg	-1.80341	.52555	.098	-4.0090	.4022
8 mmHg	10 mmHg	-2.69095	1.19004	.342	-8.7168	3.3349
8 mmHg	12 mmHg	-1.40143	.51508	.200	-3.6224	.8195
10 mmHg	12 mmHg	1.28952	1.25952	.834	-4.3612	6.9402

24. Perbedaan Skoring Makroskopis kelompok Kontrol, Laparoskopi dengan tekanan 5 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 8 mmHg, Laparoskopi dengan tekanan 10 mmHg dan Laparoskopi dengan tekanan 12 mmHg.

Sampel	Kontrol	5 mmHg	8 mmHg	10 mmHg	12 mmHg
1	0	4	0	4	4
2	0	0	4	0	4
3	0	4	0	4	5
4	0	4	4	4	4
5	0	0	5	4	5
6	0	3	4	4	5
Mean	0	2,5	2,833333333	3,333333333	4,5
SD	0	1,974841766	2,228601953	1,632993162	0,547722558
Q1	0	0,75	1	4	4
Median	0	3,5	4	4	4
Q3	0	4	4	4	5
MIN	0	0	0	0	4
MAX	0	4	5	4	5

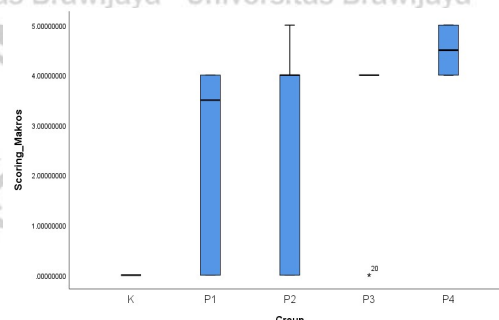
Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.	6	.
5 mmHg	.734	6	.014
8 mmHg	.758	6	.024
10 mmHg	.496	6	.000
12 mmHg	.683	6	.004

Skoring makros kontrol tidak berdistribusi normal.

Kontrol nilai konstan – tidak bisa transformasi

uji non parametrik Kruskal Wallis

Ranks		
Group	N	Mean Rank
Kontrol	6	6.00
5 mmHg	6	13.75
8 mmHg	6	16.50
10 mmHg	6	17.25
12 mmHg	6	24.00
Total	30	



Test Statistics^{a,b}

Kruskal-Wallis H	15.493
df	4
Asymp. Sig.	.004

a. Kruskal Wallis Tests

b. Grouping Variable: Group

Kelompok skoring macros nilai P=0.004 terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Mann Withney

Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a
Kontrol	6	4.50	27.00	Z
5 mmHg	6	8.50	51.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	6	4.50	27.00	Z
8 mmHg	6	8.50	51.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	6	4.00	24.00	Z
10 mmHg	6	9.00	54.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	6	3.50	21.00	Z
12 mmHg	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
5 mmHg	6	5.92	35.50	Z
8 mmHg	6	7.08	42.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
5 mmHg	6	5.58	33.50	Z
10 mmHg	6	7.42	44.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
5 mmHg	6	4.25	25.50	Z
12 mmHg	6	8.75	52.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
8 mmHg	6	6.42	38.50	Z
10 mmHg	6	6.58	39.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
8 mmHg	6	5.00	30.00	Z
12 mmHg	6	8.00	48.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
10 mmHg	6	4.75	28.50	Z
12 mmHg	6	8.25	49.50	Asymp. Sig. (2-tailed)

Lampiran X : Analisis Statistik Bab 7

1. Perbedaan kadar TGF- β cairan peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30 mg/KgBB	BD 60 mg/KgBB	BD 90 mg/KgBB
1	0,183394037	0,064571389	0,102302367	0,072681202	0,058299494
2	0,189915097	0,060373426	0,099054091	0,073073119	0,069247198
3	0,174863064	0,055994865	0,089915097	0,058142943	0,068690849
4	0,178575562	0,061355352	0,089192698	0,064397996	0,076080653
5	0,181370791	0,062185813	0,061355352	0,070943425	0,061686197
6	0,199856361	0,065798279	0,065094372	0,068322436	0,066153081
Mean	0,184662485	0,061713187	0,084485663	0,067926854	0,066692912
SD	0,008988518	0,003455514	0,01727624	0,005770993	0,006236247
Q1	0,179274369	0,060618908	0,071118954	0,065379106	0,062802918
Median	0,182382414	0,061770583	0,089553898	0,069632931	0,067421965
Q3	0,188284832	0,063974995	0,096769343	0,072246758	0,069108111
MIN	0,174863064	0,055994865	0,061355352	0,058142943	0,058299494
MAX	0,199856361	0,065798279	0,102302367	0,073073119	0,076080653

Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.935	6	.617
Mediclor	.956	6	.789
30mg/kgBB	.865	6	.206
60mg/kgBB	.887	6	.305
90mg/kgBB	.976	6	.932

Kelompok TGF- β $P \geq 0.05$ berdistribusi normal

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	5.668	4	25	.002

Nilai $P < 0.05$ tidak homogen sehingga menggunakan uji welch dan post hoc games howell

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.065	4	.016	174.376	.000
Within Groups	.002	25	.000		
Total	.067	29			

Robust Tests of Equality of Means

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	214.528	4	11.895	.000

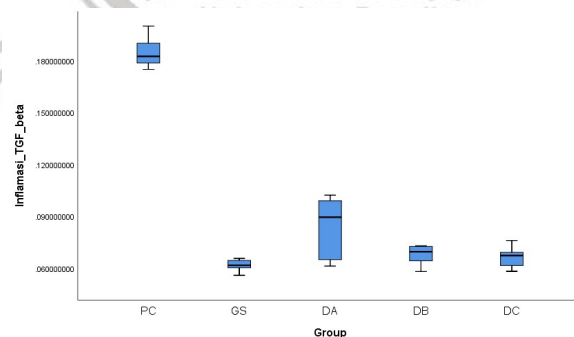
a. Asymptotically F distributed.

Nilai $P = 0.000$ ($p < 0.05$) data TGF- β kontrol, mediclor, 30mg/kgBB, 60mg/kgBB, 90mg/kgBB

terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc Games Howell

(I) variabel	(J) variabel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediclor	-.122949298000*	.003931370315	.000	-.10853713344	.13736146256
Kontrol	30mg/kgBB	-.100176822500*	.007950492051	.000	-.07227940921	.12807423579
Kontrol	60mg/kgBB	-.116735631833*	.004360768668	.000	-.10189412811	.13157713556
Kontrol	90mg/kgBB	-.117969573333*	.004466248174	.000	-.10291801036	.13302113631
Mediclor	30mg/kgBB	-.022772475500	.007192693756	.106	-.05077534048	.00523038948
Mediclor	60mg/kgBB	-.006213666167	.002746055898	.248	-.01565063191	.00322329957
Mediclor	90mg/kgBB	-.004979724667	.002910651538	.479	-.01509664441	.00513719507
30mg/kgBB	60mg/kgBB	.016558809333	.007436092676	.283	-.01118011039	.04429772906
30mg/kgBB	90mg/kgBB	.017792750833	.007498436082	.237	-.00991961309	.04550511476
60mg/kgBB	90mg/kgBB	.001233941500	.003468792758	.996	-.01019533277	.01266321577

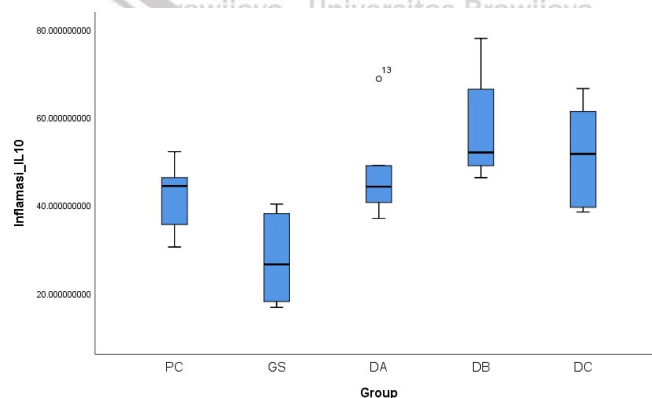


2. Perbedaan kadar IL-10 cairan peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol (K), Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30 mg/KgBB	BD 60 mg/KgBB	BD 90 mg/KgBB
1	30,49796088	29,83996948	68,69959623	50,56155915	56,65621413
2	52,16181824	23,25670837	47,02850891	48,9797056	61,28568441
3	45,48864364	16,76421808	40,61569991	66,33212951	39,52020384
4	46,25622076	18,10879145	48,9797056	46,25622076	46,64177725
5	35,59856089	40,24931162	41,35213064	77,89786561	66,48680349
6	43,21438938	38,07674699	37,00716418	53,37400005	38,43575882
Mean	42,2029323	27,71595767	47,28046758	57,23358011	51,50440699
SD	7,849223893	10,01064923	11,3739618	12,31127436	11,70250031
Q1	37,50251801	19,39577068	40,79980759	49,37516899	41,3005972
Median	44,35151651	26,54833893	44,19031978	51,9677796	51,64899569
Q3	46,06432648	36,01755262	48,49190643	63,09259715	60,12831684
MIN	30,49796088	16,76421808	37,00716418	46,25622076	38,43575882
MAX	52,16181824	40,24931162	68,69959623	77,89786561	66,48680349

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.952	6	.753
Mediclor	.904	6	.400
30mg/kgBB	.834	6	.116
60mg/kgBB	.856	6	.175
90mg/kgBB	.915	6	.470

Kelompok IL-10 $P \geq 0.05$ berdistribusi normal



Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	.554	4	25	.698

Nilai $P > 0.05$ data homogen

Anova					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3021.326	4	755.331	6.515	.001
Within Groups	2898.532	25	115.941		
Total	5919.858	29			

Nilai $P = 0.001$ ($p < 0.05$) data IL-10 kontrol, mediclor, 30mg/kgBB, 60mg/kgBB dan 90mg/kgBB

terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD

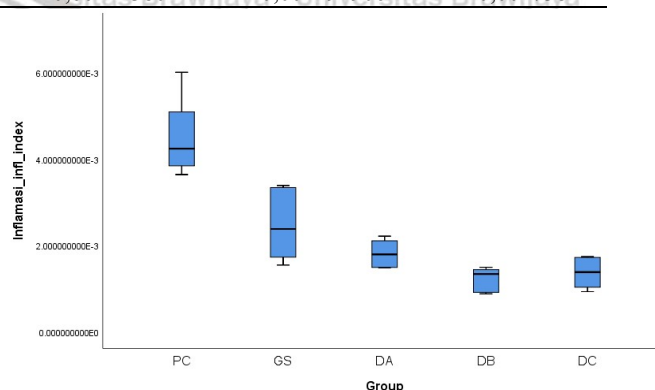
		95% Confidence Interval					
(I) variabel	(J) variabel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound	
Kontrol	Mediclor	14.48697463333	6.216678697606	.028	1.68348518553	27.29046408113	
Kontrol	30mg/kgBB	-5.077535280000	6.216678697606	.422	-17.88102472780	7.72595416780	
Kontrol	60mg/kgBB	-15.030647815000	6.216678697606	.023	-27.83413726280	-2.22715836720	
Kontrol	90mg/kgBB	-9.301474691667	6.216678697606	.147	-22.10496413947	3.50201475613	
Mediclor	30mg/kgBB	-19.564509913333	6.216678697606	.004	-32.36799936113	-6.76102046553	
Mediclor	60mg/kgBB	-29.517622448333	6.216678697606	.000	-42.32111189613	-16.71413300053	
Mediclor	90mg/kgBB	-23.788449325000	6.216678697606	.001	-36.59193877280	-10.98495987720	
30mg/kgBB	60mg/kgBB	-9.953112535000	6.216678697606	.122	-22.75660198280	2.85037691280	
30mg/kgBB	90mg/kgBB	-4.223939411667	6.216678697606	.503	-17.02742885947	8.57955003613	
60mg/kgBB	90mg/kgBB	5.729173123333	6.216678697606	.366	-7.07431632447	18.53266257113	

3. Perbedaan rasio TGF- β /IL-10 cairan peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30 mg/KgBB	BD 60 mg/KgBB	BD 90 mg/KgBB
1	0,006013321	0,002163923	0,001489126	0,001437479	0,001029004
2	0,003640883	0,002595957	0,002106256	0,001491906	0,001129908
3	0,003844104	0,003340142	0,002213801	0,000876543	0,00173812
4	0,003860574	0,003388153	0,001821013	0,001392202	0,00163117
5	0,005094891	0,001545016	0,001483729	0,000910724	0,000927796
6	0,004624764	0,001728044	0,001758967	0,00128007	0,001721134
Mean	0,00451309	0,002460206	0,001812149	0,001231487	0,001362855
SD	0,000920404	0,000789331	0,000304281	0,000271041	0,000373143
Q1	0,003848221	0,001837013	0,001556586	0,00100306	0,00105423
Median	0,004242669	0,00237994	0,00178999	0,001336136	0,001380539
Q3	0,004977359	0,003154096	0,002034946	0,00142616	0,001698643
Min	0,003640883	0,001545016	0,001483729	0,000876543	0,000927796
Max	0,006013321	0,003388153	0,002213801	0,001491906	0,00173812

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.892	6	.330
Mediclor	.901	6	.382
30 mg/kgBB	.907	6	.420
60 mg/kgBB	.834	6	.116
90 mg/kgBB	.829	6	.105

Kelompok rasio TGF- β /IL-10 $P \geq 0.05$ berdistribusi normal



Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	4.618	4	25	.006

Nilai $P < 0.05$ tidak homogen ... Uji Welch Post Hoc Games-Howell

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	4	.000	30.324	.000
Within Groups	.000	25	.000		
Total	.000	29			

Robust Tests of Equality of Means

Uji Welch

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	17.945	4	12.112	.000

a. Asymptotically F distributed.

Nilai $P = 0.000$ data rasio TGF- β /IL-10 si kontrol mediclor, BD 30mg/kgBB, BD 60mg/kgBB, dan BD 90mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Games-Howell

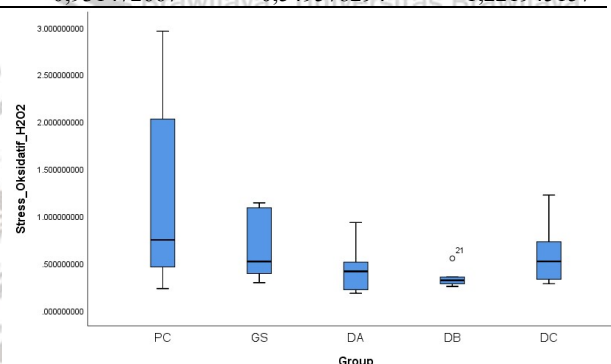
		Mean Difference		95% Confidence Interval		
(I) Group	(J) Group	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	.002052883667*	.000495006393	.014	.00041645604	.00368931129
Kontrol	8 mmHg	.002700940833*	.000395754751	.003	.00122289962	.00417898204
Kontrol	10 mmHg	.003281602167*	.000391707183	.001	.00180058197	.00476262236
Kontrol	12 mmHg	.003150234167*	.000405458535	.001	.00167447996	.00462598837
5 mmHg	8 mmHg	.000648057167	.000345357428	.411	-.00061754269	.00191365703
5 mmHg	10 mmHg	.001228718500	.000340711677	.057	-.00003815220	.00249558920
5 mmHg	12 mmHg	.001097350500	.000356435904	.092	-.00017152669	.00236622769
8 mmHg	10 mmHg	.000580661333*	.000166357870	.037	.00003176110	.00112956156
8 mmHg	12 mmHg	.000449293333	.000196563089	.229	-.00020268899	.00110127566
10 mmHg	12 mmHg	-.000131368000	.000188281018	.952	-.00076257910	.00049984310

4. Perbedaan kadar peroksida (H_2O_2)/Total Oxidant Status (TOS) Kelompok Tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30 mg/KgBB	BD 60 mg/KgBB	BD 90 mg/KgBB
1	2,960396262	0,293010104	0,510292257	0,287144419	0,677309385
2	0,902522578	0,549578294	0,931472667	0,346738843	0,358897161
3	0,22973689	0,38962063	0,340688588	0,549578294	1,221945157
4	0,458763423	0,484402685	0,218545324	0,352808438	0,725550982
5	0,58938425	1,138580519	0,484402685	0,252418433	0,328646971
6	2,028160681	1,086100051	0,180215175	0,281300533	0,281300533
Mean	1,194827347	0,656882047	0,444269449	0,34499816	0,598941698
SD	1,071155558	0,363691131	0,273766944	0,107603448	0,358296314
Q1	0,49141863	0,413316144	0,24908114	0,282761504	0,336209518
Median	0,745953414	0,51699049	0,412545636	0,316941631	0,518103273
Q3	1,746751155	0,951969612	0,503819864	0,351291039	0,713490583
MIN	0,22973689	0,293010104	0,180215175	0,252418433	0,281300533
MAX	2,960396262	1,138580519	0,931472667	0,549578294	1,221945157

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.862	6	.197
Mediclor	.839	6	.128
30 mg/kgBB	.890	6	.320
60 mg/kgBB	.809	6	.071
90 mg/kgBB	.863	6	.200

Kelompok peroksida (H_2O_2)/Total Oxidant Status (TOS) $P \geq 0.05$ berdistribusi normal



Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	8.294	4	25	.000

Nilai $P < 0.05$ tidak homogen ... Uji Welch Post Hoc Games-Howell

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.609	4	.652	2.182	.100
Within Groups	7.473	25	.299		
Total	10.082	29			

Robust Tests of Equality of Means

Uji Welch

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	2.093	4	11.182	.149

a. Asymptotically F distributed.

Nilai $P = 0.149$ data peroksida (H_2O_2)/Total Oxidant Status (TOS) kontrol mediclor, BD 30mg/kgBB, BD 60mg/kgBB, dan BD 90mg/kgBB tidak terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Games-Howell

Mean Difference					95% Confidence Interval	
(I) Group	(J) Group	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	5 mmHg	.537945300167	.461816245773	.770	-1.18151307117	2.25740367150
Kontrol	8 mmHg	.750557898000	.451353994469	.517	-.97783371609	2.47894951209
Kontrol	10 mmHg	.849829187333	.439498337570	.404	-.89913081234	2.59878918701
Kontrol	12 mmHg	.595885649167	.461112871043	.705	-1.12393912331	2.31571042165
5 mmHg	8 mmHg	.212612597833	.185840244382	.781	-.40811470799	.83333990365
5 mmHg	10 mmHg	.311883887167	.154838486286	.361	-.27327857204	.89704634637
5 mmHg	12 mmHg	.057940349000	.208425641297	.998	-.62803509892	.74391579692
8 mmHg	10 mmHg	-.099271289333	.120088052273	.914	-.53820699841	.33966441974
8 mmHg	12 mmHg	-.253943538167	.152727835763	.516	-.83026464147	.32237756513
10 mmHg	12 mmHg	.253943538167	.152727835763	.516	-.32237756513	.83026464147

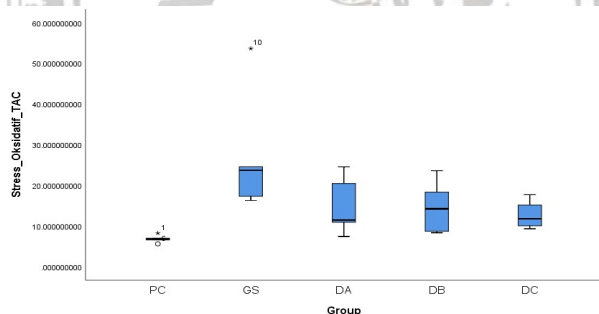
5. Perbedaan kadar Total Anti-oksidan Capacity (TAC) kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30 mg/KgBB	BD 60 mg/KgBB	BD 90 mg/KgBB
1	8,22546419	16,25729443	24,5331565	13,55172414	17,68965517
2	6,82493369	24,5596817	10,89920424	23,60477454	15,14323607
3	6,575596817	23,07427056	7,397877984	18,32625995	9,307692308
4	6,973474801	53,65782493	20,44827586	14,87798408	10,05039788
5	6,67639257	24,29442971	11,37665782	8,326259947	10,71352785
6	5,575596817	17,29177719	11,50928382	8,671087533	12,80901857
Mean	6,808576481	26,52254642	14,36074271	14,5596817	12,61892131
SD	0,851706611	13,76672646	6,603565345	5,842074958	3,265355056
Q1	6,600795755	18,73740053	11,01856764	9,891246685	10,21618037
Median	6,75066313	23,68435014	11,44297082	14,21485411	11,76127321
Q3	6,936339523	24,4933687	18,21352785	17,46419098	14,5596817
MIN	5,575596817	16,25729443	7,397877984	8,326259947	9,307692308
MAX	8,22546419	53,65782493	24,5331565	23,60477454	17,68965517

Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.922	6	.519
Mediclor	.724	6	.011
30mg/kgBB	.862	6	.196
60mg/kgBB	.938	6	.642
90mg/kgBB	.920	6	.506

Mediclor P<0.05 tidak berdistribusi normal



Transformasi inverse - Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.924	6	.534
Mediclor	.914	6	.462
30mg/kgBB	.918	6	.491
60mg/kgBB	.894	6	.340
90mg/kgBB	.951	6	.747

P>0.05 berdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances inverse

Levene	Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	1.557	4	25	.217

P>0.05 data homogen

ANOVA inverse

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.035	4	.009	13.756	.000
Within Groups	.016	25	.001		
Total	.050	29			

Nilai P=**0.000**, Total Anti-oksidan Capacity (TAC) kelompok kontrol, mediclor, BD 30mg/kgBB, BD 60mg/kgBB, dan BD 90mg/kgBB **terdapat perbedaan bermakna**

Post Hoc LSD inverse

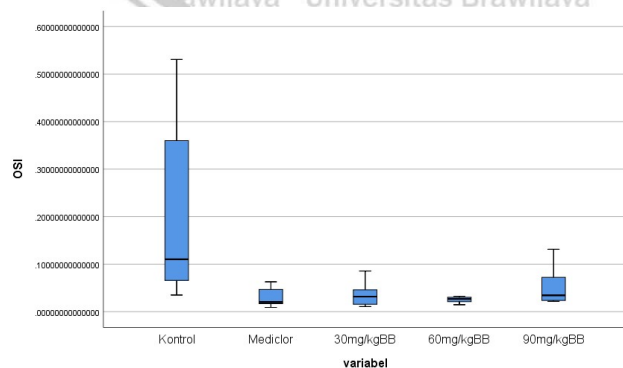
(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediclor	10492*	.01450	.000	.0751	.1348
Kontrol	30mg/kgBB	-.06689*	.01450	.000	-.0370	-.0967
Kontrol	60mg/kgBB	-.06989*	.01450	.000	-.0400	-.0997
Kontrol	90mg/kgBB	-.06530*	.01450	.000	-.0354	-.0952
Mediclor	30mg/kgBB	-.03803*	.01450	.015	-.0679	-.0082
Mediclor	60mg/kgBB	-.03503*	.01450	.023	-.0649	-.0052
Mediclor	90mg/kgBB	-.03962*	.01450	.011	-.0695	-.0098
30mg/kgBB	60mg/kgBB	.00300	.01450	.838	-.0269	.0329
30mg/kgBB	90mg/kgBB	-.00159	.01450	.914	-.0314	.0283
60mg/kgBB	90mg/kgBB	-.00459	.01450	.754	-.0344	.0253

6. Perbedaan kadar Oxidative Stress Index (OSI) kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30 mg/KgBB	BD 60 mg/KgBB	BD 90 mg/KgBB
1	0,359906285	0,018023301	0,020800106	0,021188774	0,038288445
2	0,132239025	0,022377256	0,085462447	0,014689352	0,023700163
3	0,0349378	0,016885501	0,046052204	0,029988568	0,131283364
4	0,065786919	0,009027624	0,010687714	0,023713457	0,07219127
5	0,088278849	0,046865908	0,042578646	0,030315944	0,030675887
6	0,530955942	0,062810204	0,015658244	0,032441206	0,021961131
Mean	0,20201747	0,031593299	0,040087851	0,026229705	0,055962363
SD	0,198700418	0,022462258	0,029840431	0,007227039	0,046832066
Q1	0,071409902	0,016885501	0,015658244	0,023713457	0,023700163
Median	0,110258937	0,022377256	0,042578646	0,029988568	0,030675887
Q3	0,30298947	0,046865908	0,046052204	0,030315944	0,07219127
MIN	0,0349378	0,009027624	0,010687714	0,014689352	0,021961131
MAX	0,530955942	0,062810204	0,085462447	0,032441206	0,131283364

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.832	6	.113
Mediclor	.867	6	.213
30mg/kgBB	.885	6	.292
60mg/kgBB	.918	6	.488
90mg/kgBB	.792	6	.050

Kelompok Oxidative Stress Index (OSI)
 $P \geq 0.05$ berdistribusi normal



Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	14.376	4	25	.000

Nilai $P < 0.05$ tidak homogen sehingga menggunakan uji welch dan post hoc games howell

Anova					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.135	4	.034	3.959	.013
Within Groups	.213	25	.009		
Total	.347	29			

Robust Tests of Equality of Means

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	1.702	4	10.768	.221

a. Asymptotically F distributed.

Nilai $P = 0.221$ ($p > 0.05$) data OSI kontrol, mediclor, 30mg/kgBB, 60mg/kgBB, 90mg/kgBB tidak terdapat perbedaan bermakna

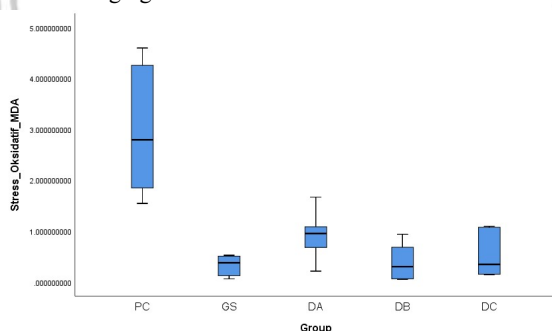
Post Hoc Games Howell

		Mean Difference (I-J)			95% Confidence Interval	
(I) variabel	(J) variabel	J	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediclor	.172685837707505	.081564074429725	.336	-.151664712258269	.497036387673278
Kontrol	30mg/kgBB	.165144243326523	.081910744199867	.371	-.158454844904302	.488743331557347
Kontrol	60mg/kgBB	.176627920054489	.081166367650237	.318	-.148664069734463	.501919909843440
Kontrol	90mg/kgBB	.149000760382189	.082954316114424	.457	-.172699325783064	.470700846547443
Mediclor	30mg/kgBB	-.007541594380982	.014193291574806	.982	-.054972819363622	.039889630601658
Mediclor	60mg/kgBB	.003942082346984	.008947555413904	.990	-.029533229865947	.037417394559915
Mediclor	90mg/kgBB	-.023685077325315	.019326098218814	.739	-.092108340580853	.044738185930222
30mg/kgBB	60mg/kgBB	.011483676727966	.011693182872216	.854	-.033459631042941	.056426984498872
30mg/kgBB	90mg/kgBB	-.016143482944334	.020740536400042	.930	-.086550115013122	.054263149124455
60mg/kgBB	90mg/kgBB	.027627159672299	.017572110639274	.565	-.041493735519767	.096748054864366

7. Perbedaan kadar MDA jaringan peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB
1	1,847709399	0,507989406	0,2129155	0,094110559	0,414702768
2	1,543135561	0,250923116	0,678792623	0,682079748	1,074115556
3	1,999034283	0,525461549	1,084543781	0,054784508	0,152560623
4	4,597919252	0,062417285	0,933700988	0,507989406	0,146777704
5	4,255912441	0,505541269	1,667142547	0,063787602	0,276376742
6	3,588881925	0,125147671	0,970492416	0,938222533	1,09507325
Mean	2,97209881	0,329580049	0,924597976	0,390162393	0,526600996
SD	1,33603391	0,210008221	0,478760166	0,375796323	0,443224261
Q1	1,88554062	0,156591532	0,742519714	0,071368341	0,183514652
Median	2,793958104	0,378232193	0,952096702	0,301049983	0,345539755
Q3	4,089154812	0,507377372	1,05603094	0,638557162	0,909262359
MIN	1,543135561	0,062417285	0,2129155	0,054784508	0,146777704
MAX	4,597919252	0,525461549	1,667142547	0,938222533	1,09507325

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.866	6	.212
Mediclor	.829	6	.106
BD 30mg/kgBB	.966	6	.864
BD 60mg/kgBB	.857	6	.181
BD 90mg/kgBB	.790	6	.047
BD 90 mg/kgBB P<0.05 tidak berdistribusi normal			



Transformasi EXP 0.25 - Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.869	6	.224
Mediclor	.844	6	.142
BD 30mg/KgBB	.940	6	.662
BD 60mg/KgBB	.852	6	.164
BD 90 mg/KgBB	.835	6	.118

P<0.05 berdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances EXP 0.25

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	2.053	4	25	.117

P>0.05 data homogen

ANOVA EXP 0.25

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.513	4	1.378	14.673	.000
Within Groups	2.348	25	.094		
Total	7.861	29			

Nilai P=0.000, MDA kelompok kontrol, mediclor, BD 30mg/kgBB, BD 60mg/kgBB, dan BD 90mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD EXP 0.25

(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediclor	1.14399*	.17694	.000	.7796	1.5084
Kontrol	BD 30mg/kgBB	.75796*	.17694	.000	.3935	1.1224
Kontrol	BD 60mg/kgBB	1.13608*	.17694	.000	.7717	1.5005
Kontrol	BD 90mg/kgBB	1.01514*	.17694	.000	.6507	1.3796
Mediclor	BD 30mg/kgBB	-.38603*	.17694	.039	-.7504	-.0216
Mediclor	BD 60mg/kgBB	-.00791	.17694	.965	-.3723	.3565
Mediclor	BD 90mg/kgBB	-.12885	.17694	.473	-.4933	.2356
BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	.37812*	.17694	.043	.0137	.7425
BD 30mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	.25718	.17694	.159	-.1072	.6216
BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	-.12094	.17694	.501	-.4853	.2435

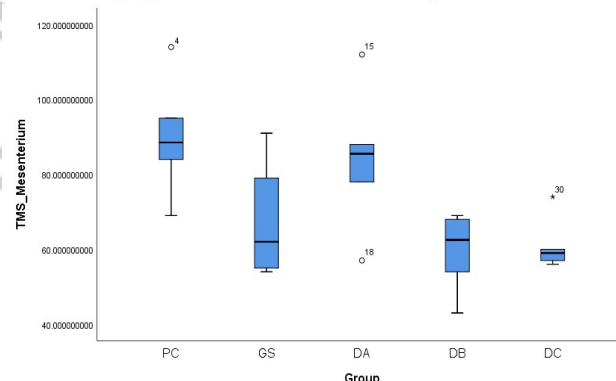
8. Perbedaan Total Sel Mast Mesenterium kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB
1	69	54	78	43	57
2	95	79	88	69	59
3	87	67	112	62	60
4	114	55	83	63	56
5	84	91	88	54	59
6	90	57	57	68	74
Mean	89,83333333	67,16666667	84,33333333	59,83333333	60,83333333
SD	14,74336009	15,05213163	17,78388784	9,82683401	6,615638039
Q1	84,75	55,5	79,25	56	57,5
Median	88,5	62	85,5	62,5	59
Q3	93,75	76	88	66,75	59,75
MIN	69	54	57	43	56
MAX	114	91	112	69	74

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	Df	Sig.
Kontrol	.959	6	.813
Mediclor	.871	6	.230
BD 30mg/kgBB	.943	6	.682
BD 60mg/kgBB	.890	6	.321
BD 90mg/kgBB	.704	6	.007

BD 90mg/kgBB tidak berdistribusi normal Setelah ditransformasi tidak ada perubahan - uji non parametrik

Kruskal Wallis		
Group	N	Mean Rank
Kontrol	6	24.25
Mediclor	6	12.42
BD 30mg/kgBB	6	20.83
BD 60mg/kgBB	6	10.00
BD 90mg/kgBB	6	10.00
Total	30	



Kruskal-Wallis H	13.574
df	4
Asymp. Sig.	.009
a. Kruskal Wallis Tests	
b. Grouping Variable: Group	

Kelompok Total Sel Mast Mesenterium nilai P=0.009 terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Mann Withney						
Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a		
Kontrol	6	8.67	52.00	Z		-2.082
Mediclor	6	4.33	26.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.037
Kontrol	6	7.33	44.00	Z		-.802
BD 30mg/kgBB	6	5.67	34.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.423
Kontrol	6	9.42	56.50	Z		-2.807
BD 60mg/kgBB	6	3.58	21.50	Asymp. Sig. (2-tailed)		.005
Kontrol	6	9.33	56.00	Z		-2.727
BD 90mg/kgBB	6	3.67	22.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.006
Mediclor	6	4.92	29.50	Z		-1.527
BD 30mg/kgBB	6	8.08	48.50	Asymp. Sig. (2-tailed)		.127
Mediclor	6	7.08	42.50	Z		-.561
BD 60mg/kgBB	6	5.92	35.50	Asymp. Sig. (2-tailed)		.575
Mediclor	6	6.58	39.50	Z		-.080
BD 90mg/kgBB	6	6.42	38.50	Asymp. Sig. (2-tailed)		.936
BD 30mg/kgBB	6	8.83	53.00	Z		-2.246
BD 60mg/kgBB	6	4.17	25.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.025
BD 30mg/kgBB	6	8.75	52.50	Z		-2.173
BD 90mg/kgBB	6	4.25	25.50	Asymp. Sig. (2-tailed)		.030
BD 60mg/kgBB	6	6.83	41.00	Z		-.321
BD 90mg/kgBB	6	6.17	37.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.748

9. Perbedaan degranulasi Sel Mast Mesenterium kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	mediclor	30mg/kgBB	60mg/kgBB	90mg/kgBB
1	89,85507246	53,7037037	92,30769231	50	64,21052632
2	93,33333333	65,82278481	33,82352941	54,05797101	61,91919192
3	97,76119403	52,23880597	53,57142857	44,44444444	63,33333333
4	96,31578947	69,09090909	95,87301587	52,65060241	61,66666667
5	94,59459459	21,97802198	95,45454545	58,14814815	66,44067797
6	94,5	84,21052632	96,49122807	54,54545455	65,94594595
Mean	94,39333065	57,84079198	77,92023995	52,30777009	63,91939036
SD	2,713286527	21,0726185	27,27276632	4,678796381	1,998379321
Q1	93,625	52,6050304	63,25549451	50,6626506	62,27272727
Median	94,5472973	59,76324426	93,88111888	53,35428671	63,77192982
Q3	95,88549075	68,27387802	95,76839827	54,42358366	65,51209104
MIN	89,85507246	21,97802198	33,82352941	44,44444444	61,66666667
MAX	97,76119403	84,21052632	96,49122807	58,14814815	66,44067797

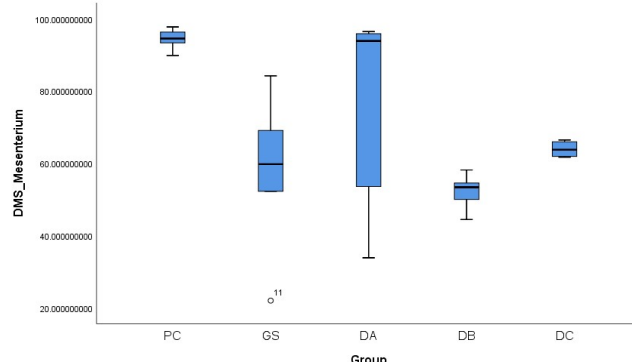
Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	Df	Sig.
Kontrol	.955	6	.780
Mediclor	.945	6	.702
BD 30mg/kgBB	.740	6	.016
BD 60mg/kgBB	.953	6	.761
BD 90mg/kgBB	.916	6	.479

Mediclor tidak berdistribusi normal, Setelah ditransformasi tidak ada perubahan - uji non parametrik

Kruskal Wallis

Group	N	Mean Rank
Kontrol	6	25.17
Mediclor	6	11.50
BD 30mg/kgBB	6	18.83
BD 60mg/kgBB	6	7.17
BD 90mg/kgBB	6	14.83
Total	30	



Kruskal-Wallis H	14.744
Df	4
Asymp. Sig.	.005

a. Kruskal Wallis Tests

b. Grouping Variable: Group

Kelompok degranulasi Sel Mast Mesenterium nilai $P=0.005$ terdapat perbedaan bermakna

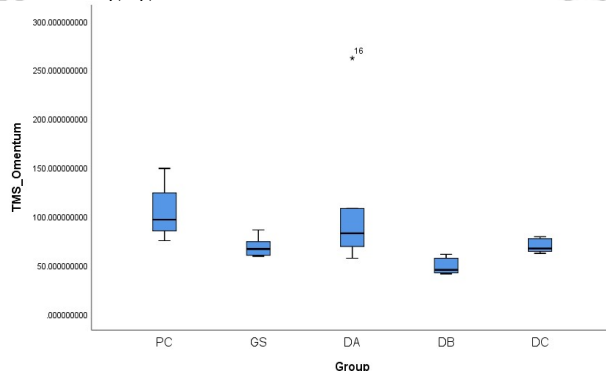
Uji Post Hoc Mann Withney

Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a
Kontrol	6	9.50	57.00	Z -2.882
Mediclor	6	3.50	21.00	Asymp. Sig. (2-tailed) .004
Kontrol	6	7.17	43.00	Z -.641
BD 30mg/kgBB	6	5.83	35.00	Asymp. Sig. (2-tailed) .522
Kontrol	6	9.50	57.00	Z -2.882
BD 60mg/kgBB	6	3.50	21.00	Asymp. Sig. (2-tailed) .004
Kontrol	6	9.50	57.00	Z -2.882
BD 90mg/kgBB	6	3.50	21.00	Asymp. Sig. (2-tailed) .004
Mediclor	6	5.00	30.00	Z -1.441
BD 30mg/kgBB	6	8.00	48.00	Asymp. Sig. (2-tailed) .150
Mediclor	6	7.33	44.00	Z -.801
BD 60mg/kgBB	6	5.67	34.00	Asymp. Sig. (2-tailed) .423
Mediclor	6	6.17	37.00	Z -.320
BD 90mg/kgBB	6	6.83	41.00	Asymp. Sig. (2-tailed) .749
BD 30mg/kgBB	6	8.00	48.00	Z -1.441
BD 60mg/kgBB	6	5.00	30.00	Asymp. Sig. (2-tailed) .150
BD 30mg/kgBB	6	7.50	45.00	Z -.961
BD 90mg/kgBB	6	5.50	33.00	Asymp. Sig. (2-tailed) .337
BD 60mg/kgBB	6	3.50	21.00	Z -2.882
BD 90mg/kgBB	6	9.50	57.00	Asymp. Sig. (2-tailed) .004

10. Perbedaan Total Sel Mast Omentum kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediolor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediolor	BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB
1	75	60	108	41	68
2	85	68	57	42	66
3	89	65	85	57	62
4	149	74	262	44	77
5	124	59	69	61	64
6	104	86	80	46	79
Mean	104,3333333	68,6666667	110,1666667	48,5	69,3333333
SD	27,75367843	10,11269829	76,3188487	8,408329204	7,033254344
Q1	86	61,25	71,75	42,5	64,5
Median	96,5	66,5	82,5	45	67
Q3	119	72,5	102,25	54,25	74,75
MIN	75	59	57	41	62
MAX	149	86	262	61	79

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.930	6	.581
Mediolor	.909	6	.427
BD 30mg/kgBB	.704	6	.007
BD 60mg/kgBB	.841	6	.134
BD 90mg/kgBB	.880	6	.271
BD 30mg/kgBB P<0.05 tidak berdistribusi normal			



Transformasi inverse - Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.959	6	.811
Mediolor	.930	6	.578
BD 30mg/KgBB	.852	6	.164
BD 60mg/KgBB	.857	6	.178
BD 90 mg/KgBB	.891	6	.325
P>0.05 berdistribusi normal			

Test of Homogeneity of inverse

Levene				
	Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	1.761	4	25	.168
P>0.05 data homogen				

ANOVA inverse

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	4	.000	11.791	.000
Within Groups	.000	25	.000		
Total	.001	29			

Nilai P=0.000, total mast cell omentum kontrol, mediolor, BD 30mg/kgBB, BD 60mg/kgBB, dan BD 90mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD Inverse

(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediolor	-.004687072171*	.001740523321	.012	-.00827174705	-.00110239729
Kontrol	BD 30mg/kgBB	-.001442011316	.001740523321	.415	-.00502668620	.00214266357
Kontrol	BD 60mg/kgBB	-.010979694789*	.001740523321	.000	-.01456436967	-.00739501991
Kontrol	BD 90mg/kgBB	-.004421894364*	.001740523321	.018	-.00800656925	.000083721948
Mediolor	BD 30mg/kgBB	.003245060855	.001740523321	.074	-.00033961403	.00682973574
Mediolor	BD 60mg/kgBB	-.006292622618*	.001740523321	.001	-.00987729750	-.00270794774
Mediolor	BD 90mg/kgBB	-.000265177807	.001740523321	.880	-.00331949708	.00384985269
BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	-.009537683473*	.001740523321	.000	-.01312235836	-.00595300859
BD 30mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	-.002979883048	.001740523321	.099	-.00656455793	.00060479183
BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	.006557800425*	.001740523321	.001	.00297312554	.01014247531

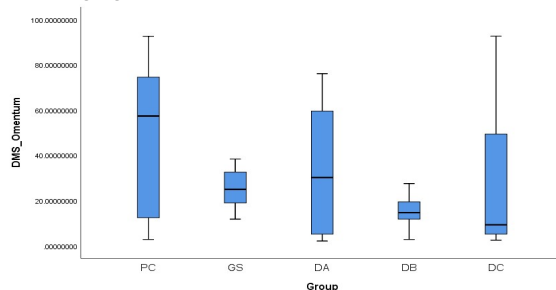
11. Perbedaan Degranulasi Sel Mast Omentum kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB
1	57,33333333	38,33333333	20,98765432	2,777777778	92,64705882
2	12,38095238	11,76470588	59,52380952	14,03508772	5,172413793
3	27,52293578	26,15384615	5,194805195	11,76470588	2,459016393
4	92,59259259	18,91891892	2,127659574	15,26717557	9,090909091
5	74,50980392	23,72881356	39,3442623	19,42028986	9,423076923
6	47,83456544	32,55813953	76,08695652	27,5	49,36708861
Mean	52,02903057	25,24295956	33,87752457	15,12750613	28,02659394
SD	29,56022898	9,483131427	29,8869683	8,204190369	36,08846567
Q1	32,60084319	20,12139258	9,143017476	12,33230134	6,152037618
Median	52,58394939	24,94132986	30,16595831	14,65113165	9,256993007
Q3	70,21568627	30,95706619	54,47892272	18,38201128	39,38108569
MIN	12,38095238	11,76470588	2,127659574	2,777777778	2,459016393
MAX	92,59259259	38,33333333	76,08695652	27,5	92,64705882

Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.916	5	.503
Mediclor	.993	6	.994
BD 30mg/kgBB	.929	6	.575
BD 60mg/kgBB	.979	6	.948
BD 90mg/kgBB	.762	6	.026

BD 90mg/kgBB P<0.05 tidak berdistribusi normal ...



Transformasi exp0.25 - Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.972	6	.907
Mediclor	.985	6	.972
BD 30mg/kgBB	.941	6	.668
BD 60mg/kgBB	.940	6	.658
BD 90mg/kgBB	.843	6	.138

P>0.05 berdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances exp0.25

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	3.675	4	25	.017

P<0.05 data tidak homogen Uji Welch Post Hoc Games-Howell

ANOVA exp 0.25

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33.794	4	8.448	1.622	.200
Within Groups	130.190	25	5.208		
Total	163.984	29			

Uji Welch exp 0.25

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	2.225	4	11.935	.128

Nilai P=**0.128**, Degranulasi Sel Mast Omentum kelompok kontrol, 5mmHg, 8mmHg, 10mmHg dan 12mmHg tidak terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc Games Howell exp 0,25

(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediclor	1.974199741391	.997432379805	.364	-1.61588977245	5.56428925523
Kontrol	BD 30mg/kgBB	1.746314812417	1.503582278866	.772	-3.26811716131	6.76074678615
Kontrol	BD 60mg/kgBB	3.184372592393	1.035360902688	.087	-.43466431632	6.80340950110
Kontrol	BD 90mg/kgBB	2.488114809797	1.585885984797	.549	-2.84676770446	7.82299732405
Mediclor	BD 30mg/kgBB	-.227884928974	1.259755181736	1.000	-4.92482080361	4.46905094566
Mediclor	BD 60mg/kgBB	1.210172851002	.631027453767	.370	-.88167555854	3.30202126054
Mediclor	BD 90mg/kgBB	.513915068406	1.356929550628	.994	-4.59133462392	5.61916476073
BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	1.438057779976	1.289993784653	.795	-3.25275533640	6.12887089635
BD 30mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	.741799997380	1.762709880384	.992	-5.06692187652	6.55052187127
BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	-.696257782596	1.385048248943	.984	-5.78849068501	4.39597511981

12. Perbedaan Total Sel Mast Peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30 mg/KgBB	BD 60 mg/KgBB	BD 90 mg/KgBB
1	68	62	69	42	62
2	72	66	63	46	77
3	82	91	86	37	36
4	60	73	105	52	58
5	85	64	39	44	44
6	74	71	58	62	32
Mean	73,5	71,16666667	70	47,16666667	51,5
SD	9,159694318	10,57197553	22,96083622	8,773064839	17,2017441
Q1	69	64,5	59,25	42,5	38
Median	73	68,5	66	45	51
Q3	80	72,5	81,75	50,5	61
MIN	60	62	39	37	32
MAX	85	91	105	62	77

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.971	6	.898
Mediclor	.836	6	.121
30mg/kgBB	.980	6	.951
60mg/kgBB	.944	6	.690
90mg/kgBB	.949	6	.731

Kelompok total mast cell peritoneum
 $P \geq 0.05$ berdistribusi normal

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	2.116	4	25	.109

Nilai $P > 0.05$ data homogen

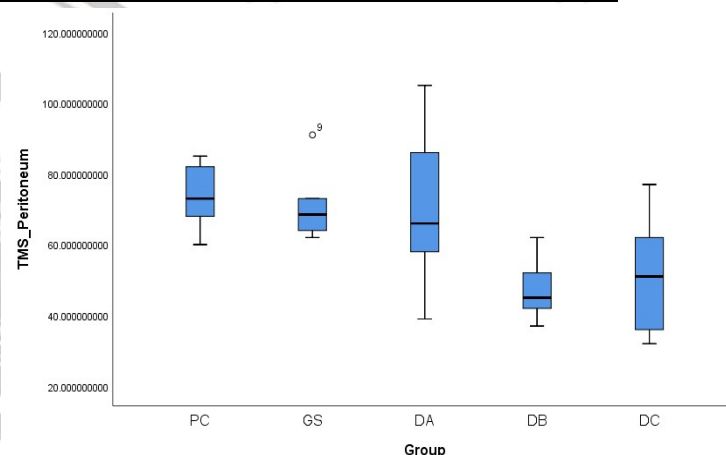
Anova

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3650.000	4	912.500	4.164	.010
Within Groups	5478.667	25	219.147		
Total	9128.667	29			

Nilai $P = 0.010$ ($p < 0.05$) data Total Sel Mast Peritoneal kontrol, mediclor, 30mg/kgBB, 60mg/kgBB, 90mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD

(I) variabel	(J) variabel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediclor	2.3333333333333	8.546864272287	.787	-15.26926314059	19.93592980726
Kontrol	30mg/kgBB	3.5000000000000	8.546864272287	.686	-14.10259647392	21.10259647392
Kontrol	60mg/kgBB	26.333333333333*	8.546864272287	.005	8.73073685941	43.93592980726
Kontrol	90mg/kgBB	22.000000000000*	8.546864272287	.016	4.39740352608	39.60259647392
Mediclor	30mg/kgBB	1.1666666666667	8.546864272287	.893	-16.43592980726	18.76926314059
Mediclor	60mg/kgBB	24.000000000000*	8.546864272287	.010	6.39740352608	41.60259647392
Mediclor	90mg/kgBB	19.666666666667*	8.546864272287	.030	2.06407019274	37.26926314059
30mg/kgBB	60mg/kgBB	22.833333333333*	8.546864272287	.013	5.23073685941	40.43592980726
30mg/kgBB	90mg/kgBB	18.500000000000*	8.546864272287	.040	.89740352608	36.10259647392
60mg/kgBB	90mg/kgBB	-4.3333333333333	8.546864272287	.617	-21.93592980726	13.26926314059



13. Perbedaan degranulasi Sel Mast Peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

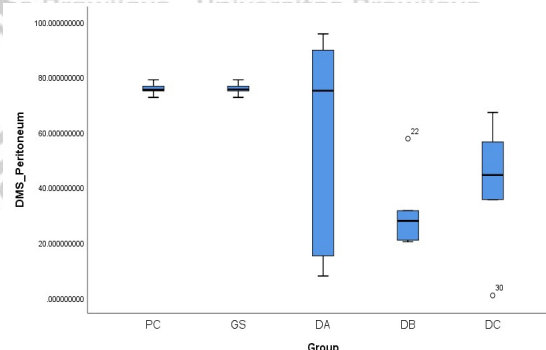
Sampel	Kontrol	Mediclor	30mg/kgBB	60mg/kgBB	90mg/kgBB
1	72,64705882	72,64705882	95,65217391	27,41935484	39,03225806
2	75	75	7,936507937	31,57894737	35,63218391
3	79,03225806	79,03225806	63,95348837	28,35820896	50
4	76,66666667	76,66666667	15,23809524	57,69230769	56,48148148
5	75,29411765	75,29411765	89,74358974	20,90909091	67,1875
6	75,5	75,8	86,20689655	20,32258065	0,875
Mean	75,69001687	75,74001687	59,78845863	31,0467484	41,53473724
SD	2,100141928	2,098283607	38,91569595	13,77269159	23,010636
Q1	75,07352941	75,07352941	27,41694352	22,53665689	36,48220245
Median	75,39705882	75,54705882	75,08019246	27,8887819	44,51612903
Q3	76,375	76,45	88,85941645	30,77376277	54,86111111
MIN	72,64705882	72,64705882	7,936507937	20,32258065	0,875
MAX	79,03225806	79,03225806	95,65217391	57,69230769	67,1875

Shapiro-Wilk				
Variabel	Statistic	Df	Sig.	
Kontrol	.956	6	.788	
Mediclor	.969	6	.884	
BD 30mg/kgBB	.830	6	.107	
BD 60mg/kgBB	.775	6	.034	
BD 90mg/kgBB	.924	6	.534	

BD 60mg/kgBB tidak berdistribusi normal, Setelah ditransformasi tidak ada perubahan - uji non parametrik

Kruskal Wallis

Group	N	Mean Rank
Kontrol	6	21.42
Mediclor	6	21.58
BD 30mg/kgBB	6	17.67
BD 60mg/kgBB	6	7.17
BD 90mg/kgBB	6	9.67
Total	30	



Kruskal-Wallis H	13.965
Df	4
Asymp. Sig.	.007
a. Kruskal Wallis Tests	
b. Grouping Variable: Group	

Kelompok degranulasi Sel Mast Peritoneal nilai P=0.007 terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Mann Withney

Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a	
Kontrol	6	6.42	38.50	Z	-.081
Mediclor	6	6.58	39.50	Asymp. Sig. (2-tailed)	.936
Kontrol	6	6.50	39.00	Z	.000
BD 30mg/kgBB	6	6.50	39.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Kontrol	6	9.50	57.00	Z	-2.882
BD 60mg/kgBB	6	3.50	21.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Kontrol	6	9.50	57.00	Z	-2.882
BD 90mg/kgBB	6	3.50	21.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Mediclor	6	6.50	39.00	Z	.000
BD 30mg/kgBB	6	6.50	39.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Mediclor	6	9.50	57.00	Z	-2.882
BD 60mg/kgBB	6	3.50	21.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Mediclor	6	9.50	57.00	Z	-2.882
BD 90mg/kgBB	6	3.50	21.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
BD 30mg/kgBB	6	7.50	45.00	Z	-.961
BD 60mg/kgBB	6	5.50	33.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.337
BD 30mg/kgBB	6	7.67	46.00	Z	-1.121
BD 90mg/kgBB	6	5.33	32.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.262
BD 60mg/kgBB	6	5.17	31.00	Z	-1.281
BD 90mg/kgBB	6	7.83	47.00	Asymp. Sig. (2-tailed)	.200

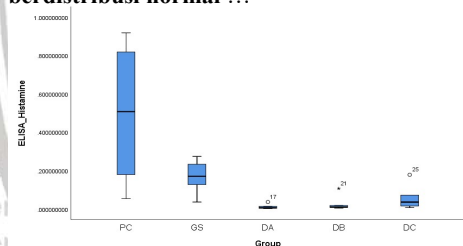
14. Perbedaan kadar *histamine* cairan Peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclur, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Kontrol	Mediclur	30mg/kgBB	60mg/kgBB
1	0,053998881	0,036587315	0,004756124	0,011079214	0,178322589
2	0,17952341	0,134520286	0,003612013	0,008136384	0,045657966
3	0,401687628	0,12748819	0,002670463	0,10707474	0,026869095
4	0,613429415	0,273998986	0,013641606	0,005155015	0,016025773
5	0,818181454	0,206695193	0,036587315	0,00981847	0,072549229
6	0,918181454	0,233235945	0,00841405	0,018327935	0,007506798
Mean	0,497500374	0,168754319	0,011613595	0,026598626	0,057821908
SD	0,346476976	0,086042791	0,012876851	0,03966842	0,063437959
Q1	0,235064464	0,129246214	0,003898041	0,008556906	0,018736604
Median	0,507558521	0,170607739	0,006585087	0,010448842	0,036263531
Q3	0,766993444	0,226600757	0,012334717	0,016515755	0,065826413
Min	0,053998881	0,036587315	0,002670463	0,005155015	0,007506798
Max	0,918181454	0,273998986	0,036587315	0,10707474	0,178322589

Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.946	6	.709
Mediclur	.962	6	.835
BD 30mg/kgBB	.751	6	.020
BD 60mg/kgBB	.596	6	.000
BD 90mg/kgBB	.806	6	.067

BD 30 mg.kgBB dan BD 60 mg/kgBB $P < 0.05$ tidak berdistribusi normal ...



Transformasi log10 - Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.881	6	.275
Mediclur	.844	6	.141
BD 30mg/KgBB	.946	6	.709
BD 60mg/KgBB	.844	6	.140
BD 90 mg/KgBB	.998	6	1.000

$P < 0.05$ berdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances log10

Levene	Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	3.372	4	25	.827

$P > 0.05$ data homogen

ANOVA log10

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.357	4	2.839	14.893	.000
Within Groups	4.766	25	.191		
Total	16.123	29			

Nilai $P = 0.000$, kadar Histamin kelompok kontrol, mediclur, BD 30mg/kgBB, BD 60mg/kgBB, dan BD 90mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD log10

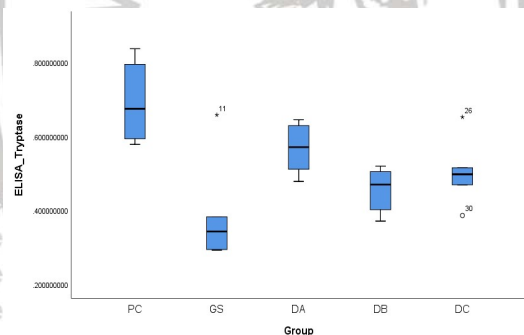
(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediclur	.38925	.25209	.135	-.1299	.9084
Kontrol	BD 30mg/kgBB	1.66152*	.25209	.000	1.1423	2.1807
Kontrol	BD 60mg/kgBB	1.38365*	.25209	.000	.8645	1.9028
Kontrol	BD 90mg/kgBB	.99551*	.25209	.001	.4763	1.5147
Mediclur	BD 30mg/kgBB	1.27228*	.25209	.000	.7531	1.7915
Mediclur	BD 60mg/kgBB	.99441*	.25209	.001	.4752	1.5136
Mediclur	BD 90mg/kgBB	.60626*	.25209	.024	.0871	1.1254
BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	-.27787	.25209	.281	-.7971	.2413
BD 30mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	-.66602*	.25209	.014	-1.1852	-.1468
BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	-.38814	.25209	.136	-.9073	.1310

15. Perbedaan kadar *tryptase* cairan peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	mediclor	BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB
1	0,660092752	0,292073486	0,629226482	0,401756433	0,514972338
2	0,795440298	0,293549534	0,549157562	0,504692512	0,652648176
3	0,837620901	0,343633721	0,478070906	0,447746224	0,500890703
4	0,578278286	0,341475225	0,511093092	0,370624971	0,493994945
5	0,593786748	0,658431097	0,645287561	0,491511004	0,469118531
6	0,690092752	0,382006047	0,593038906	0,519535355	0,38587688
Mean	0,692551956	0,385194852	0,567645775	0,45597775	0,502916929
SD	0,105360045	0,138114011	0,066376078	0,059946835	0,086590059
Q1	0,610363249	0,305530956	0,52060921	0,413253881	0,475337635
Median	0,675092752	0,342554473	0,571098234	0,469628614	0,497442824
Q3	0,769103412	0,372412965	0,620179588	0,501397135	0,511451929
Min	0,578278286	0,292073486	0,478070906	0,370624971	0,38587688
Max	0,837620901	0,658431097	0,645287561	0,519535355	0,652648176

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.920	6	.507
Mediclor	.712	6	.008
BD 30mg/kgBB	.949	6	.728
BD 60mg/kgBB	.919	6	.498
BD 90mg/kgBB	.913	6	.456

Mediclor P<0.05 tidak berdistribusi normal ...



Transformasi inverse - Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.931	6	.592
Mediclor	.852	6	.164
BD 30mg/KgBB	.941	6	.671
BD 60mg/KgBB	.901	6	.381
BD 90 mg/KgBB	.933	6	.601

P<0.05 berdistribusi normal

Test of Homogeneity of inverse

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	1.680	4	25	.186

P>0.05 data homogen

ANOVA inverse

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.005	4	1.501	9.413	.000
Within Groups	3.987	25	.159		
Total	9.992	29			

Nilai P=0.000, kadar Tryptase kelompok kontrol, mediclor, BD 30mg/kgBB, BD 60mg/kgBB, dan BD 90mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD Inverse

(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediclor	-1.32950*	.23057	.000	-1.8044	-.8546
Kontrol	BD 30mg/kgBB	-.31101	.23057	.189	-.7859	.1639
Kontrol	BD 60mg/kgBB	-.75549*	.23057	.003	-1.2304	-.2806
Kontrol	BD 90mg/kgBB	-.56493*	.23057	.022	-1.0398	-.0901
Mediclor	BD 30mg/kgBB	1.01849*	.23057	.000	.5436	1.4934
Mediclor	BD 60mg/kgBB	.57401*	.23057	.020	.0991	1.0489
Mediclor	BD 90mg/kgBB	.76458*	.23057	.003	.2897	1.2394
BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	-.44448	.23057	.065	-.9194	.0304
BD 30mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	-.25392	.23057	.281	-.7288	.2210
BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	.19056	.23057	.416	-.2843	.6654

16. Perbedaan kadar *chymase* cairan Peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30 mg/KgBB	BD 60 mg/KgBB	BD 90 mg/KgBB
1	1,089716923	0,676670869	0,949660406	0,902193315	0,92736068
2	1,036544875	0,704300424	1,077520244	1,2043837	0,822445766
3	1,028796008	0,722138905	0,997127695	0,60691005	1,010939847
4	1,031372506	0,758233888	1,207399936	0,978596558	0,955617358
5	1,050903032	0,733058138	0,695547114	0,962815045	1,06946506
6	1,099716923	0,588964308	1,352934772	1,061470093	0,990911983
Mean	1,056175045	0,697227755	1,046698361	0,952728127	0,962790116
SD	0,030980213	0,059698764	0,226157705	0,199032748	0,084252014
Q1	1,032665598	0,683578258	0,961527228	0,917348748	0,934424849
Median	1,043723953	0,713219665	1,03732397	0,970705801	0,973264671
Q3	1,08001345	0,73032833	1,174930013	1,040751709	1,005932881
Min	1,028796008	0,588964308	0,695547114	0,60691005	0,822445766
Max	1,099716923	0,758233888	1,352934772	1,2043837	1,06946506

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.834	6	.115
Mediclor	.894	6	.341
30mg/kgBB	.986	6	.977
60mg/kgBB	.935	6	.616
90mg/kgBB	.969	6	.882

Kelompok ELISA Chymase $P \geq 0,05$
berdistribusi normal

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	2.680	4	25	.055

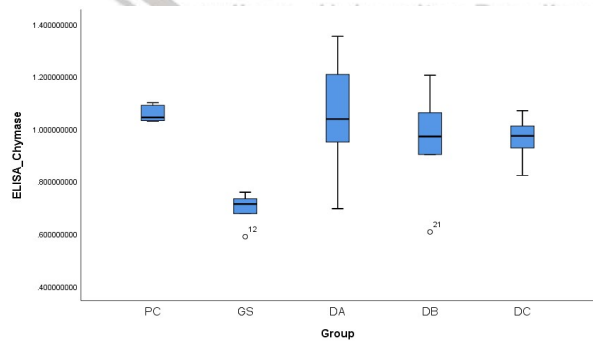
Nilai $P > 0,05$ data homogen

Anova					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.507	4	.127	6.186	.001
Within Groups	.512	25	.020		
Total	1.019	29			

Nilai $P = 0,001$ ($p < 0,05$) data kadar chymase kontrol, mediclor, 30mg/kgBB, 60mg/kgBB, 90mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD

(I) variabel	(J) variabel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediclor	.358947289167*	.082616971758	.000	.18879445072	.52910012761
Kontrol	30mg/kgBB	.009476683333	.082616971758	.910	-.16067615511	.17962952178
Kontrol	60mg/kgBB	.103446917667	.082616971758	.222	-.06670592078	.27359975611
Kontrol	90mg/kgBB	.093384928833	.082616971758	.269	-.07676790961	.26353776728
Mediclor	30mg/kgBB	-.349470605833*	.082616971758	.000	-.51962344428	-.17931776739
Mediclor	60mg/kgBB	-.255500371500*	.082616971758	.005	-.42565320995	-.08534753305
Mediclor	90mg/kgBB	-.265562360333*	.082616971758	.004	-.43571519878	-.09540952189
30mg/kgBB	60mg/kgBB	.093970234333	.082616971758	.266	-.07618260411	.26412307278
30mg/kgBB	90mg/kgBB	.083908245500	.082616971758	.320	-.08624459295	.25406108395
60mg/kgBB	90mg/kgBB	-.010061988833	.082616971758	.904	-.18021482728	.16009084961

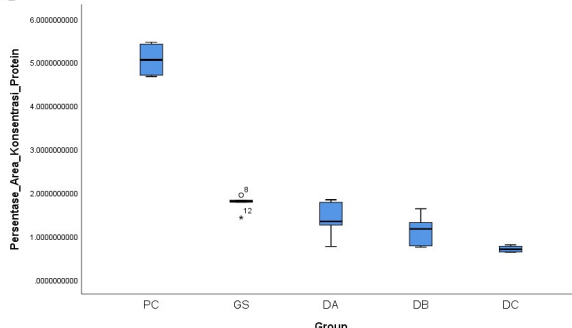


17. Perbedaan % luas ekspresi ZO-1 jaringan Peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediolor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediolor	BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB
1	5,4638125	1,805875	1,2655625	1,629	0,798625
2	4,8914375	1,943625	1,409375	0,745625	0,6339375
3	5,2214375	1,789	1,25575	1,29475	0,632375
4	5,4180625	1,825375	0,76225	1,035375	0,6393125
5	4,674625	1,780125	1,775125	0,7754375	0,753625
6	4,703125	1,4253125	1,836625	1,312	0,7653125
Mean	5,062083333	1,761552083	1,384114583	1,13203125	0,703864583
SD	0,352589361	0,175125002	0,393837666	0,34399285	0,076679868
Q1	4,696	1,677492188	1,132375	0,767984375	0,633546875
Median	5,0564375	1,7974375	1,33746875	1,1650625	0,69646875
Q3	5,36890625	1,8205	1,6836875	1,3076875	0,762390625
Min	5,4638125	1,943625	1,836625	1,629	0,798625
Max	4,674625	1,4253125	0,76225	0,745625	0,632375

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.874	6	.244
Mediolor	.787	6	.045
BD 30mg/kgBB	.930	6	.580
BD 60mg/kgBB	.929	6	.575
BD 90mg/kgBB	.805	6	.065

mediolor P<0.05 tidak berdistribusi normal ...



Transformasi exp2 - Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.872	6	.234
Mediolor	.834	6	.116
BD 30mg/kgBB	.924	6	.536
BD 60mg/kgBB	.915	6	.473
BD 90mg/kgBB	.810	6	.071

P>0.05 berdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances exp2				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	38.436	4	25	.000

P<0.05 data tidak homogen ... Uji Welch Post Hoc Games-Howell

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	126572.602	4	31643.151	48.044	.000
Within Groups	16465.589	25	658.624		
Total	143038.191	29			

Uji Welch exp2				
	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	34.710	4	10.265	.000

Nilai P=**0.000**, % luas ekspresi ZO-1 kelompok kontrol, 5mmHg, 8mmHg, 10mmHg dan 12mmHg terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc Games Howell exp2

				95% Confidence Interval	
(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	
Kontrol	Mediolor	160.31973*	23.41416	.005	66.4138 254.2256
Kontrol	BD 30mg/kgBB	161.96628*	23.41985	.005	68.0746 255.8580
Kontrol	BD 60mg/kgBB	162.95136*	23.41566	.005	69.0492 256.8535
Kontrol	BD 90mg/kgBB	164.18449*	23.41115	.005	70.2711 258.0979
Mediolor	BD 30mg/kgBB	1.64655	.74555	.266	-.9190 4.2121
Mediolor	BD 60mg/kgBB	2.63162*	.59969	.010	1.4434 4.6199
Mediolor	BD 90mg/kgBB	3.86476*	.38565	.001	2.3505 5.3790
BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	.98508	.79127	.728	-.6690 3.6392
BD 30mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	2.21821	.64437	.085	-.3465 4.7830
BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	1.23313	.46796	.194	-.6167 3.0830

18. Perbedaan ketebalan MES jaringan Peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30mg/KgBB	BD 60mg/KgBB	BD 90 mg/KgBB
1	75,2	11,3	15,1	15,5	0
2	61,4	37,7	17,3	0	1,2
3	133,4	22,1	18,1	4,8	22,8
4	66,7	4,1	21,3	8,6	6,3
5	49,9	12,6	16,1	15,3	2,9
6	51,2	25,7	13,3	34	28,3
Mean	72,96666667	18,91666667	16,86666667	13,03333333	10,25
SD	31,10013934	12,05328448	2,749302942	11,90070026	12,16466194
Median	64,05	17,35	16,7	11,95	4,6
Q1	51,2	12,05328448	15,1	8,6	2,9
Q2	64,05	17,35	16,7	11,95	4,6
Q3	73,075	24,8	17,9	15,45	18,675
MIN	51,2	4,1	13,3	0	0
MAX	133,4	37,7	21,3	34	28,3

MES - Shapiro-Wilk

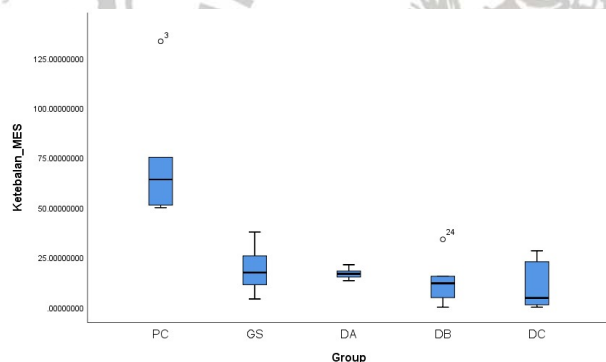
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.767	6	.029
Mediclor	.966	6	.862
BD 30mg/KgBB	.982	6	.961
BD 60mg/KgBB	.915	6	.471
BD 90 mg/KgBB	.815	6	.080

Kontrol P<0.05 tidak berdistribusi normal ...

Transformasi EXP 0.25 - Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.814	6	.078
Mediclor	.982	6	.960
BD 30mg/KgBB	.990	6	.990
BD 60mg/KgBB	.971	6	.898
BD 90 mg/KgBB	.932	6	.598

P<0.05 berdistribusi normal



Test of Homogeneity of Variances EXP 0.25

Levene	Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	2.012	4	25	.123

Nilai P>0.05 data homogen

ANOVA EXP 0.25

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	126.941	4	31.735	12.004	.000
Within Groups	66.093	25	2.644		
Total	193.034	29			

Nilai P=0.000, ketebalan MES kelompok kontrol, mediclor, BD 30mg/kgBB, BD 60mg/kgBB, dan BD 90mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD EXP 0.25

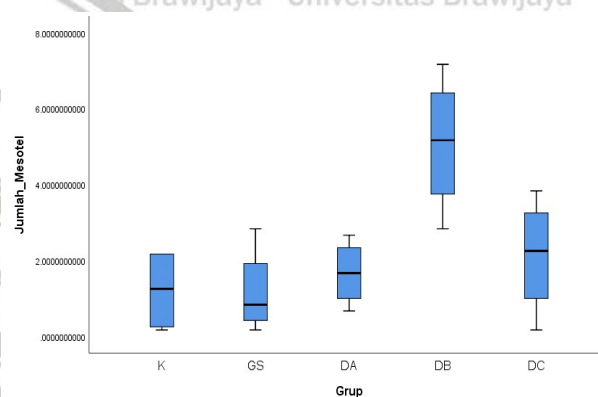
(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
Kontrol	Mediclor	4.26621*	.93874	.000	2.3328	6.1996
	BD 30mg/kgBB	4.31162*	.93874	.000	2.3782	6.2450
	BD 60mg/kgBB	5.27350*	.93874	.000	3.3401	7.2069
	BD 90mg/kgBB	5.84014*	.93874	.000	3.9068	7.7735
Mediclor	BD 30mg/kgBB	.04541	.93874	.962	-1.8880	1.9788
Mediclor	BD 60mg/kgBB	1.00729	.93874	.294	-.9261	2.9407
Mediclor	BD 90mg/kgBB	1.57393	.93874	.106	-.3595	3.5073
BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	.96188	.93874	.315	-.9715	2.8953
BD 30mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	1.52852	.93874	.116	-.4049	3.4619
BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	.56665	.93874	.552	-1.3667	2.5000

19. Perubahan mesotel peritoneum kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30 mg/KgBB	BD 60 mg/KgBB	BD 90 mg/KgBB
Omentum	3,833333333	2,833333333	2,666666667	7,166666667	3,833333333
Hepar	0,166666667	0,666666667	2	4,666666667	2,666666667
Peritoneum	0,333333333	1	1,333333333	5,666666667	1,833333333
Usus	2,166666667	0,166666667	0,666666667	2,833333333	0,166666667
Mean	1,625	1,166666667	1,666666667	5,083333333	2,125
SD	1,728706431	1,162691641	0,860662966	1,818118686	1,541854343
Q1	0,291666667	0,541666667	1,166666667	4,208333333	1,416666667
Median	1,25	0,833333333	1,666666667	5,166666667	2,25
Q3	2,583333333	1,458333333	2,166666667	6,041666667	2,958333333
MIN	0,166666667	0,166666667	0,666666667	2,833333333	0,166666667
MAX	3,833333333	2,833333333	2,666666667	7,166666667	3,833333333

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	,765	4	,053
Mediclor	,879	4	,335
30mg/kgBB	,993	4	,972
60mg/kgBB	,997	4	,990
90mg/kgBB	,991	4	,963

Kelompok jumlah mesotel
 $P \geq 0.05$ berdistribusi normal



Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	.603	4	15	.666

Nilai $P > 0.05$ data homogen

Anova

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.569	4	10.642	5.909	.005
Within Groups	27.014	15	1.801		
Total	69.583	19			

Nilai $P = 0.005$ ($p < 0.05$) data jumlah mesotel kontrol, mediclor, 30mg/kgBB, 60mg/kgBB, 90mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD

		Mean Difference (I- J)		Sig.	95% Confidence Interval	
(I) variabel	(J) variabel		Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediclor	.041666667500	.9489272695923	.966	-1.980923930792	2.064257264292
Kontrol	30mg/kgBB	-.4583333332500	.9489272695923	.636	-2.480923930792	1.564257264292
Kontrol	60mg/kgBB	-3.8750000000000	.9489272695923	.001	-5.897590597542	-1.852409402458
Kontrol	90mg/kgBB	-.9166666665000	.9489272695923	.349	-2.939257264042	1.105923931042
Mediclor	30mg/kgBB	-.5000000000000	.9489272695923	.606	-2.522590597542	1.522590597542
Mediclor	60mg/kgBB	-3.916666667500*	.9489272695923	.001	-5.939257264292	-1.894076069208
Mediclor	90mg/kgBB	-.9583333332500	.9489272695923	.329	-2.980923930792	1.064257264292
30mg/kgBB	60mg/kgBB	-3.416666667500*	.9489272695923	.003	-5.439257264292	-1.394076069208
30mg/kgBB	90mg/kgBB	-.4583333332500	.9489272695923	.636	-2.480923930792	1.564257264292
60mg/kgBB	90mg/kgBB	2.9583333335000*	.9489272695923	.007	.935742735958	4.980923931042

20. Perubahan fibroblas peritoneum kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediolor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediolor	30mg/kgBB	60mg/kgBB	90mg/kgBB
Omentum	0	0	0,166666667	0	3,833333333
Hepar	0	0	0,166666667	0	0
Peritoneum	0,166666667	0,666666667	1	0,833333333	0,833333333
Usus	23	11,5	25,16666667	3,5	7,666666667
Mean	5,791666667	3,041666667	6,625	1,083333333	3,083333333
SD	11,47249125	5,647639625	12,36735173	1,658312395	3,470777477
Q1	0	0	0,166666667	0	0,625
Median	0,083333333	0,333333333	0,583333333	0,416666667	2,333333333
Q3	5,875	3,375	7,041666667	1,5	4,791666667
MIN	0	0	0,166666667	0	0
MAX	23	11,5	25,16666667	3,5	7,666666667

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	Df	Sig.
Kontrol	.630	4	.001
Mediolor	.671	4	.005
BD 30mg/kgBB	.654	4	.003
BD 60mg/kgBB	.785	4	.077
BD 90mg/kgBB	.921	4	.540

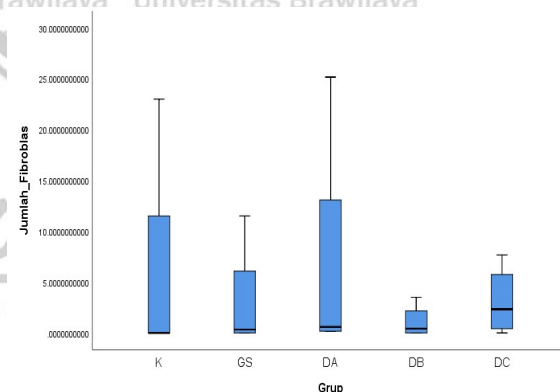
Kontrol, mediolor dan BD 30mg/kgBB

tidak berdistribusi normal

Setelah ditransformasi tidak ada perubahan - uji non parametrik

Kruskal Wallis

Group	N	Mean Rank
Kontrol	4	8.13
Mediolor	4	9.50
BD 30mg/kgBB	4	13.25
BD 60mg/kgBB	4	9.13
BD 90mg/kgBB	4	12.50
Total	20	



Kruskal-Wallis H	2.455
df	4
Asymp. Sig.	.653

a. Kruskal Wallis Tests

b. Grouping Variable: Group

Kelompok jumlah fibroblas nilai $P=0.653$ tidak terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Mann Withney

Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a
Kontrol	4	4.25	17.00	Z
Mediolor	4	4.75	19.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	4	3.25	13.00	Z
BD 30mg/kgBB	4	5.75	23.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	4	4.25	17.00	Z
BD 60mg/kgBB	4	4.75	19.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	4	3.88	15.50	Z
BD 90mg/kgBB	4	5.13	20.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
Mediolor	4	3.75	15.00	Z
BD 30mg/kgBB	4	5.25	21.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Mediolor	4	4.50	18.00	Z
BD 60mg/kgBB	4	4.50	18.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Mediolor	4	4.00	16.00	Z
BD 90mg/kgBB	4	5.00	20.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
BD 30mg/kgBB	4	5.25	21.00	Z
BD 60mg/kgBB	4	3.75	15.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
BD 30mg/kgBB	4	4.50	18.00	Z
BD 90mg/kgBB	4	4.50	18.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
BD 60mg/kgBB	4	3.63	14.50	Z
BD 90mg/kgBB	4	5.38	21.50	Asymp. Sig. (2-tailed)

21. Perubahan vaskuler peritoneum kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

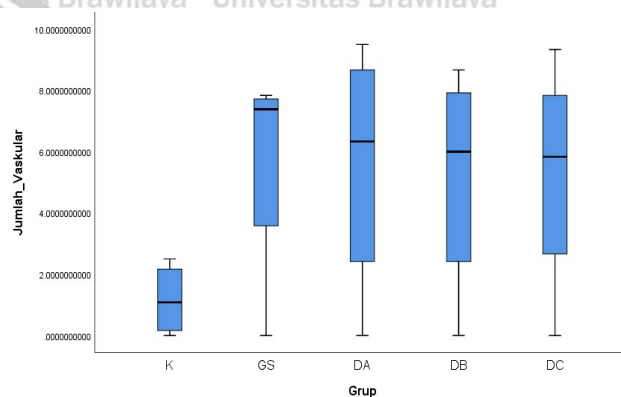
Sampel	Kontrol	Mediclor	30mg/kgBB	60mg/kgBB	90mg/kgBB
Omentum	1,833333333	7,833333333	9,5	8,666666667	6,333333333
Hepar	0	0	0	0	0
Peritoneum	0,333333333	7,6	7,833333333	4,833333333	9,333333333
Usus	2,5	7,166666667	4,833333333	7,166666667	5,333333333
Mean	1,166666667	5,65	5,541666667	5,166666667	5,25
SD	1,194121403	3,776780914	4,168610658	3,788383805	3,89087251
Q1	0,25	5,375	3,625	3,625	4
Median	1,083333333	7,383333333	6,333333333	6	5,833333333
Q3	2	7,658333333	8,25	7,541666667	7,083333333
MIN	0	0	0	0	0
MAX	2,5	7,833333333	9,5	8,666666667	9,333333333

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	Df	Sig.
Kontrol	.905	4	.457
Mediclor	.696	4	.010
BD 30mg/kgBB	.947	4	.700
BD 60mg/kgBB	.935	4	.623
BD 90mg/kgBB	.954	4	.738

Mediclor tidak berdistribusi normal
Setelah ditransformasi tidak ada perubahan uji non parametrik

Kruskal-Wallis

Group	N	Mean Rank
Kontrol	4	6.00
Mediclor	4	12.00
BD 30mg/kgBB	4	12.25
BD 60mg/kgBB	4	11.00
BD 90mg/kgBB	4	11.25
Total	20	



Kruskal-Wallis H	3.067
df	4
Asymp. Sig.	.547

a. Kruskal Wallis Tests
b. Grouping Variable: Group

Kelompok jumlah vaskular jumlah nilai P=0.547 tidak terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Mann Withney

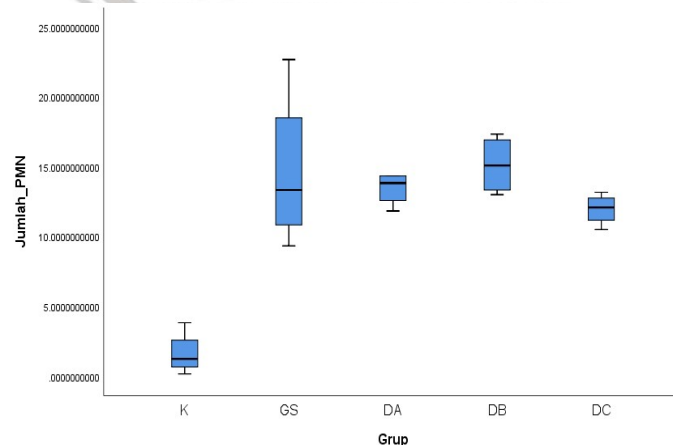
Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a
Kontrol	4	3.38	13.50	Z
Mediclor	4	5.63	22.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	4	3.38	13.50	Z
BD 30mg/kgBB	4	5.63	22.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	4	3.38	13.50	Z
BD 60mg/kgBB	4	5.63	22.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol	4	3.38	13.50	Z
BD 90mg/kgBB	4	5.63	22.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
Mediclor	4	4.25	17.00	Z
BD 30mg/kgBB	4	4.75	19.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Mediclor	4	4.75	19.00	Z
BD 60mg/kgBB	4	4.25	17.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
Mediclor	4	4.88	19.50	Z
BD 90mg/kgBB	4	4.13	16.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
BD 30mg/kgBB	4	4.75	19.00	Z
BD 60mg/kgBB	4	4.25	17.00	Asymp. Sig. (2-tailed)
BD 30mg/kgBB	4	4.63	18.50	Z
BD 90mg/kgBB	4	4.38	17.50	Asymp. Sig. (2-tailed)
BD 60mg/kgBB	4	4.38	17.50	Z
BD 90mg/kgBB	4	4.63	18.50	Asymp. Sig. (2-tailed)

22. Perubahan sel polimorfonuklear peritoneum kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	Mediclor	BD 30 mg/KgBB	BD 60 mg/KgBB	BD 90 mg/KgBB
Omentum	0,133333333	14,33333333	13,33333333	13	13,16666667
Hepar	0,166666667	12,33333333	14,33333333	13,66666667	10,5
Peritoneum	2,166666667	9,333333333	11,83333333	17,33333333	11,83333333
Usus	1,166666667	22,66666667	14,33333333	16,5	12,33333333
Mean	0,908333333	14,66666667	13,45833333	15,125	11,95833333
SD	0,966235536	5,715476066	1,181453907	2,114215554	1,116998292
Q1	0,158333333	11,58333333	12,95833333	13,5	11,5
Median	0,666666667	13,33333333	13,83333333	15,08333333	12,08333333
Q3	1,416666667	16,41666667	14,33333333	16,70833333	12,54166667
MIN	0,133333333	9,333333333	11,83333333	13	10,5
MAX	2,166666667	22,66666667	14,33333333	17,33333333	13,16666667

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.889	4	.380
Mediclor	.920	4	.538
30mg/kgBB	.848	4	.220
60mg/kgBB	.887	4	.371
90mg/kgBB	.981	4	.906

Kelompok jumlah sel polimorfonuklear
 $P \geq 0.05$ berdistribusi normal



Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	2.729	4	15	.069

Nilai $P > 0.05$ data homogen

Anova					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	498.561	4	124.640	14.763	.000
Within Groups	126.639	15	8.443		
Total	625.200	19			

Nilai $P = 0.000$ ($p < 0.05$) data jumlah sel polimorfonuklear kontrol, mediclor, 30mg/kgBB, 60mg/kgBB, 90mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD

(I) variabel	(J) variabel	Mean Difference (I-J)		Sig.	95% Confidence Interval	
			Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediclor	-13.041666667500*	2.0545793482117	.000	-17.420898883812	-8.662434447688
Kontrol	30mg/kgBB	-11.833333330000*	2.0545793482117	.000	-16.212565548062	-7.454101111938
Kontrol	60mg/kgBB	-13.500000000000*	2.0545793482117	.000	-17.879232218062	-9.120767781938
Kontrol	90mg/kgBB	-10.333333332500*	2.0545793482117	.000	-14.712565550562	-5.954101114438
Mediclor	30mg/kgBB	1.2083333357500	2.0545793482117	.565	-3.170898882312	5.587565553812
Mediclor	60mg/kgBB	-.4583333342500	2.0545793482117	.826	-4.837565552312	3.920898883812
Mediclor	90mg/kgBB	2.7083333332500	2.0545793482117	.207	-1.670898884812	7.087565551312
30mg/kgBB	60mg/kgBB	-1.6666666700000	2.0545793482117	.430	-6.045898888062	2.712565548062
30mg/kgBB	90mg/kgBB	1.4999999975000	2.0545793482117	.477	-2.879232220562	5.879232215562
60mg/kgBB	90mg/kgBB	3.1666666675000	2.0545793482117	.144	-1.212565550562	7.545898885562

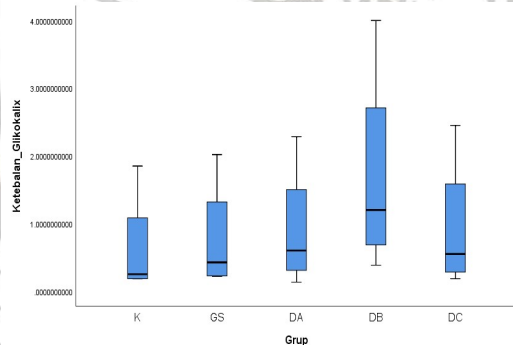
23. Perubahan penebalan glikokalix peritoneum kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediclor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB.

Sampel	Kontrol	mediclor	BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB
Omentum	0,316666667	0,616666667	0,716666667	1,416666667	0,383333333
Hepar	0,183333333	0,233333333	0,483333333	0,983333333	0,716666667
Peritoneum	1,85	2,02	2,283333333	4	2,45
Usus	0,183333333	0,216666667	0,133333333	0,383333333	0,183333333
Mean	0,633333333	0,771666667	0,904166667	1,695833333	0,933333333
SD	0,813542778	0,852484387	0,950182731	1,59346902	1,034766032
Q1	0,183333333	0,229166667	0,395833333	0,833333333	0,333333333
Median	0,25	0,425	0,6	1,2	0,55
Q3	0,7	0,9675	1,108333333	2,0625	1,15
MIN	0,183333333	0,216666667	0,133333333	0,383333333	0,183333333
MAX	1,85	2,02	2,283333333	4	2,45

Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.687	4	.008
Mediclor	.779	4	.069
BD 30mg/kgBB	.849	4	.223
BD 60mg/kgBB	.859	4	.256
BD 90mg/kgBB	.810	4	.122

Kontrol $P < 0.05$ tidak berdistribusi normal ...



Transformasi log10 - Shapiro-Wilk

Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.784	4	.076
Mediclor	.879	4	.333
BD 30mg/KgBB	.989	4	.953
BD 60mg/KgBB	.992	4	.969
BD 90 mg/KgBB	.983	4	.921

$P > 0.05$ berdistribusi normal

Test of Homogeneity of log10

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	.036	4	15	.997

$P > 0.05$ data homogen

ANOVA log10

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.564	4	.141	.644	.640
Within Groups	3.287	15	.219		
Total	3.851	19			

Nilai $P = 0.640$ ($p > 0.05$) lampiran glikokalix kontrol, mediclor, BD 30mg/kgBB, BD 60mg/kgBB, dan BD 90mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna

Post Hoc LSD log10

(I) Variabel	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Mediclor	-.12623	.33099	.708	-.8317	.5793
Kontrol	BD 30mg/kgBB	-.18220	.33099	.590	-.8877	.5233
Kontrol	BD 60mg/kgBB	-.50884	.33099	.145	-1.2143	.1967
Kontrol	BD 90mg/kgBB	-.19926	.33099	.556	-.9047	.5062
Mediclor	BD 30mg/kgBB	-.05598	.33099	.868	-.7615	.6495
Mediclor	BD 60mg/kgBB	-.38261	.33099	.266	-1.0881	.3229
Mediclor	BD 90mg/kgBB	-.07303	.33099	.828	-.7785	.6325
BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	-.32663	.33099	.339	-1.0321	.3789
BD 30mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	-.01706	.33099	.960	-.7225	.6884
BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB	.30958	.33099	.364	-.3959	1.0151

24. Perbedaan skoring makrokopis adesi intra-peritoneal kelompok tekanan 10 mmHg/Kontrol, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Mediolor, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 30 mg/KgBB, Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 60 mg/KgBB dan Tekanan 10 mmHg dengan pemberian Bawang Dayak 90 mg/KgBB

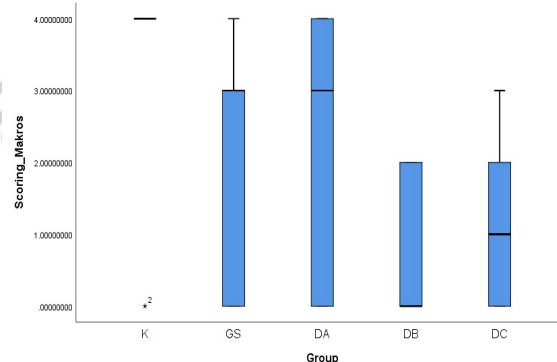
Sampel	Kontrol	Mediolor	BD 30mg/kgBB	BD 60mg/kgBB	BD 90mg/kgBB
1	4	0	0	0	0
2	0	0	3	2	2
3	4	3	4	2	2
4	4	3	4	0	3
5	4	4	0	0	0
6	4	3	3	0	0
Mean	3,333333333	2,166666667	2,333333333	0,666666667	1,166666667
SD	1,632993162	1,722401424	1,861898673	1,032795559	1,329160136
Q1	4	0,75	0,75	0	0
Median	4	3	3	0	2
Q3	4	3	3,75	2	2
MIN	0	0	0	0	0
MAX	4	4	4	2	3

Shapiro-Wilk			
Variabel	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.496	6	.000
Mediolor	.786	6	.044
BD 30mg/kgBB	.788	6	.045
BD 60mg/kgBB	.640	6	.001
BD 90mg/kgBB	.805	6	.065

Skoring makroskopis kontrol , mediolor, BD 30mg/kgBB
BD 60 mgkgBB tidak berdistribusi normal
di transformasi tidak berubah signifikan - uji non parametrik

Kruskal Wallis

Ranks		
Group	N	Mean Rank
Kontrol	6	23.17
Mediolor	6	16.33
BD 30mg/kgBB	6	17.50
BD 60mg/kgBB	6	9.17
BD 90mg/kgBB	6	11.33
Total	30	



Kruskal-Wallis H	10.316
df	4
Asymp. Sig.	.035

a. Kruskal Wallis Tests
b. Grouping Variable: Group

Kelompok skoring makroskopis nilai P=0.035 terdapat perbedaan bermakna

Uji Post Hoc Mann Withney						
Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks	Test Statistics ^a		
Kontrol	6	8.25	49.50	Z		-1.824
Mediolor	6	4.75	28.50	Asymp. Sig. (2-tailed)		.068
Kontrol	6	7.83	47.00	Z		-1.444
BD 30 mg/kgBB	6	5.17	31.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.149
Kontrol	6	8.83	53.00	Z		-2.422
BD 60 mg/kgBB	6	4.17	25.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.015
Kontrol	6	8.75	52.50	Z		-2.289
BD 90 mg/kgBB	6	4.25	25.50	Asymp. Sig. (2-tailed)		.022
Mediolor	6	6.17	37.00	Z		-.341
BD 30 mg/kgBB	6	6.83	41.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.733
Mediolor	6	8.17	49.00	Z		-1.727
BD 60 mg/kgBB	6	4.83	29.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.084
Mediolor	6	7.75	46.50	Z		-1.272
BD 90 mg/kgBB	6	5.25	31.50	Asymp. Sig. (2-tailed)		.203
BD 30 mg/kgBB	6	8.17	49.00	Z		-1.720
BD 60 mg/kgBB	6	4.83	29.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.086
BD 30 mg/kgBB	6	7.83	47.00	Z		-1.344
BD 90 mg/kgBB	6	5.17	31.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.179
BD 60 mg/kgBB	6	5.83	35.00	Z		-.730
BD 90 mg/kgBB	6	7.17	43.00	Asymp. Sig. (2-tailed)		.465

Lampiran : Aalisis Linear Regresi Bivariat

Dependent Variabel : Adhesi Intra Abdomen Makros

Coefficients^a

No.	Variabel Entered	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	1.326	.445		2.981	.006
	ZO-1	.382	.094	.608	4.053	.000
2	(Constant)	.617	.753		.820	.419
	MES	.049	.016	.492	2.993	.006
3	(Constant)	.641	.731		.876	.388
	TGF-beta	17.350	5.666	.501	3.062	.005
4	(Constant)	4.251	2.500		1.700	.100
	IL-10	-.036	.056	-.123	-.655	.518
5	(Constant)	1.232	.683		1.804	.082
	Indeks inflamasi	511.015	213.350	.412	2.395	.024
6	(Constant)	5.004	.847		5.906	.000
	TAC	-.239	.078	-.499	-3.045	.005
7	(Constant)	1.527	.594		2.569	.016
	MDA	.643	.278	.401	2.317	.028
8	(Constant)	2.268	.550		4.124	.000
	TOS	.539	.587	.171	.919	.366
9	(Constant)	2.164	.502		4.312	.000
	OSI	5.294	3.790	.255	1.397	.173
10	(Constant)	3.729	.513		7.265	.000
	Mesotel	-.127	.042	-.586	-3.067	.007
11	(Constant)	2.467	.490		5.031	.000
	Fibroblas	.042	.045	.216	.941	.359
12	(Constant)	1.565	.555		2.819	.011
	Vaskular	.264	.097	.541	2.733	.014
13	(Constant)	2.241	.645		3.472	.003
	PMN	.076	.086	.204	.886	.387
14	(Constant)	3.048	.526		5.794	.000
	Glikokalix	-.173	.126	-.308	-1.371	.187
15	(Constant)	-.650	1.398		-.465	.645
	Total sel mast peritoneum	.055	.022	.417	2.427	.022
16	(Constant)	1.531	.479		3.196	.003
	Degranulasi Sel Mast peritoneum	.030	.009	.515	3.179	.004
17	(Constant)	1.254	1.020		1.229	.229
	Total Sel mast Omentum	.017	.012	.265	1.452	.158
18	(Constant)	1.552	.632		2.455	.021
	Degranulasi Sel Mast Omentum	.027	.013	.366	2.079	.047
19	(Constant)	-2.481	1.030		-2.409	.023
	Total Sel mast Mesenterium	.073	.014	.698	5.156	.000
20	(Constant)	-.217	.670		-.324	.748
	Degranulasi Sel Mast Mesenterium	.040	.008	.665	4.713	.000
21	(Constant)	-1.271	1.294		-.982	.335
	Total Sel Mast semua organ	.055	.018	.508	3.121	.004
22	(Constant)	.115	.628		.183	.856
	Total Degranulasi Sel Mast semua organ	.051	.011	.650	4.529	.000



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT BANJARMASIN- INDONESIA
THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH
MEDICAL FACULTY
UNIVERSITY OF LAMBUNG MANGKURAT
BANJARMASIN - INDONESIA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
(ETHICAL CLEARANCE)

No.984/KEPK-FK UNLAM/EC/IX/2018

Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Dengan Memperhatikan Hak Asasi Manusia dan Kesejahteraan Dalam Penelitian Kedokteran, Setelah Mempelajari Dengan Seksama Rancangan Penelitian Yang Diusulkan, Dengan Ini Menyatakan Bahwa Penelitian Dengan :

The Committee of Medical Research Ethics of Medical Faculty, Lambung Mangkurat University, with regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled:

JUDUL:

Title

Kemampuan Ekstrak Bulbus (Umbi) Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* L. Merr.) Sebagai Anti Adesi Intra Abdominal Pasca Laparaskopi (Kajian In Vivo Sebagai Antioksidan, Pengoptimalan Fisiologis Inflamasi Dan Penstabilan Sel Mast, Pada Hewan Coba *Rattus Norvegicus*)

Abilities Of Extract Dayak Onion Bulb (Eleutherine Americana L. Merr.) As An-Anti-Adesion Intra Abdominal Post-Laparascopy (In-Vivo Study As Anti-Oxidant, An Anti-Inflammation And Mast Cells Stabilizer, In Experimental Animal, Rattus Norvegicus)

NAMA PENELITI
Name of the Investigator

: dr. Hery Poerwosusanta Sp.B,Sp.BA(K)
NIM. 137070100011002

UNIT / LEMBAGA
Name of Institution

: Program Studi S3
Program Doktor Ilmu Kedokteran
Kekhususan Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang
**Doctoral Program
Biomedic In Medical and Health Science
Faculty of Medicine, Brawijaya University, Malang**

DINYATAKAN LAIK ETIK
Approved for ethical clearance

Banjarmasin, 20 September 2018
Komisi Etik Penelitian,
The Ethical Comitte Research

Dr. dr. Ika K. Oktavianti, M.Kes., Sp. PA
NIP. 19681012 199702 2 001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Veteran Malang – 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (0341) 551611 Pes. 213.214; 569117, 567192 – Fax. (62) (0341) 564755
<http://www.fk.ub.ac.id> e-mail : sekr.fk@ub.ac.id

SURAT KETERANGAN

Nomor 456 /UN10.F08.08/PP/2019

Yang bertanda tangan dibawah ini,

nama : Dr.Husnul Khotimah, S.Si., M.Kes
NIP : 197511252005012001
pangkat dan golongan : Penata Muda, III/a
jabatan : Ketua Badan Penerbitan Jurnal Fakultas Kedokteran

dengan ini menerangkan bahwa,

nama : dr. Hery Poerwosusanta, SpB., SpBA
NIM : 137070100011002
program studi : Doktor Ilmu Kedokteran
judul : Ekstrak Bulbulus (Umbi) Bawang Dayak (*Eleutherine americana L. Merr*) Sebagai Anti Adesi Intra Abdominal Pasca Laparoskopi
jenis artikel : Disertasi
jumlah halaman : 167

berdasarkan pemindaian dengan perangkat lunak Turnitin, Badan Penerbitan Jurnal Fakultas Kedokteran menyatakan bahwa Artikel Ilmiah tersebut diatas memiliki **kemiripan 3 %**

Demikian surat keterangan ini agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

09 SEP 2019



Dr. Husnul Khotimah, S.Si., M.Kes
NIP 19751125 200501 2 001