

## UJI EFEKTIVITAS BOVINE COLOSTRUM SECARA INTRAARTIKULAR PADA LUTUT POSTERIOR DALAM MENURUNKAN DERAJAT NYERI PADA TIKUS MODEL OSTEOARTRITIS

Atik Nurjanah\*, Hyang Iman Akbar Saputra\*, Ika Dewi Soraya\*, Rizkha Farida\*, Rais Dzakwan Hidayatullah\*, Edi Widjajanto\*\*

\* Program Studi Kedokteran FKUB

\*\* Laboratorium Patologi Klinik FKUB

### ABSTRAK

Pendahuluan : Osteoarthritis (OA) merupakan suatu peradangan penyakit sendi degeneratif, dimana keseluruhan struktur dari sendi mengalami perubahan patologis. Kolagen tipe II dan proteoglikan membuat sendi memiliki elastisitas yang baik dan daya regang yang tinggi. Pada penderita OA, terjadi kerusakan kartilago yang menyerang ke arah menurunnya sintesis dari proteoglikan akibat inflamasi yang ditandai dengan rasa sakit akibat peradangan dan kerusakan jaringan sendi yang kronis. *Bovine colostrum* mengandung TGF- $\beta$  menunjukkan efek penurunan derajat nyeri viserosensorik dan anti-inflamasi dengan regenerasi kartilago pada sendi OA. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menilai efektivitas *Bovine colostrum* dalam menurunkan derajat nyeri viserosensorik dan adanya regenerasi pada jaringan sendi yang rusak. pada tikus model osteoarthritis. Metode : menggunakan metode *Double Blind Randomized Controlled Trials* dengan rancangan *Randomized Only Post Test Controlled Group Design*. 30 ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dibagi menjadi kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1, 2, 3. Kelompok kontrol positif dan perlakuan diinduksi osteoarthritis dengan 4 kali injeksi CFA pada hari ke 1, 8, 15, dan 22. Kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 diterapi dengan *Bovine colostrum* dosis 100  $\mu$ l, 125  $\mu$ l, 150  $\mu$ l. Pengukuran derajat nyeri viserosensorik dan ketebalan kartilago sendi dilakukan setelah injeksi CFA pada kelompok positif dan kelompok yang di berikan dosis terapi perlakuan *Bovine colostrum* perlakuan 1,2,3. Hasil : Terdapat penurunan derajat nyeri viserosensorik yang signifikan pada kelompok terapi dibandingkan kelompok kontrol positif ( $p = 0,000$ ) dan ditemukan adanya regenerasi jaringan sendi yang sebelumnya mengalami degeneratif hingga mengalami perbaikan yang lebih baik pada kelompok colostrum 3 (260,54 $\mu$ m). Kesimpulan : *deep pain* dan proses degeneratif yang terjadi pada osteoarthritis mampu dihambat dengan pemberian terapi *Bovine colostrum* sehingga meningkatkan ketebalan kartilago dan penyempitan pada celah sendi menjadi berkurang.

Kata kunci : Osteoarthritis, Bovine colostrum, TGF- $\beta$

## ABSTRACT

**Introduction:** Osteoarthritis (OA) is a degenerative inflammatory joint disease, in which the entire structure of the joints undergo pathological changes. Type II collagen and proteoglycans make joint has good elasticity and high tensile strength. In patients with OA, cartilage damage occurs attacking towards decreasing the synthesis of proteoglycans result of inflammation that is characterized by inflammation and pain caused by chronic joint tissue damage. Bovine colostrum contains TGF- $\beta$  shows the effect of decreasing the degree of pain and anti-inflammatory viserosensorik with OA cartilage regeneration in the joints. The purpose of this study was to assess the effectiveness of Bovine colostrum in reducing the degree of pain viserosensorik and regeneration in the damaged joint tissue. in mice models of osteoarthritis. **Methods:** menggunakan methods Randomized Double Blind Randomized Controlled Trials with design Post Test Only Controlled Group Design. 30 male rats (*Rattus norvegicus*) Wistar were divided into negative control, positive control, treatment 1, 2, 3. The positive control group and the treatment of osteoarthritis induced by 4 times the CFA injection on days 1, 8, 15, and 22. Group treatment 1, 2, and 3 were treated with a dose of 100  $\mu$ l Bovine colostrum, 125  $\mu$ l, 150  $\mu$ l. Measurement of the degree of pain and the thickness of the articular cartilage viserosensorik performed after injection of CFA in the positive group and the group given a therapeutic dose treatment of Bovine colostrum treatment 1,2,3. **Results:** There was a decrease in the degree of pain viserosensorik significant in the treatment group compared to the positive control group ( $p = 0.000$ ) and found to have tissue regeneration degenerative joints previously affected up to having a better improvement in the colostrum group 3 (260.54  $\mu$ m). **Conclusion:** deep pain and degenerative processes that occur in osteoarthritis therapy is able to be inhibited by administration of Bovine colostrum thus increasing the thickness of the cartilage and joint narrowing the gap to be reduced.

**Keywords:** Osteoarthritis, Bovine colostrum, TGF- $\beta$

## PENDAHULUAN

Osteoarthritis (OA) merupakan peradangan pada sendi degeneratif yang termasuk kelompok abnormalitas secara mekanis, melibatkan sendi, termasuk kartilago artikuler, dan tulang subkondral. Gejala osteoarthritis di tandai dengan nyeri sendi, hambatan gerakan sendi, kaku pagi, krepitasi, pembesaran sendi, perubahan gaya berjalan serta tanda-tanda peradangan pada sendi (nyeri tekan, gangguan gerak, rasa hangat yang merata dan warna kemerahan) mungkin di jumpai OA karena ada sinovitis. Nyeri dari OA juga dapat berasal dari regangan serabut saraf

periosteum, hipertensi intraosseus, regangan kapsul sendi, hipertensi intraartikular, regangan ligamen, dan mikrofraktur.<sup>1</sup> Diperkirakan 40% dari populasi usia diatas 70 tahun menderita osteoarthritis dan 80% pasien osteoarthritis mempunyai keterbatasan gerak yang mengurangi kualitas hidupnya. Diperkirakan 1 sampai 2 juta orang lanjut usia di Indonesia menderita cacat karena osteoarthritis. Prevalensi gangguan fungsi sendi yang ireversibel sangat tinggi hingga mencapai 45% pada sendi lutut dan 25% pada sendi panggul dari seluruh penderita osteoarthritis. Hal ini menyebabkan terjadinya

ratusan ribu operasi pergantian sendi lutut dan panggul hingga dapat mengeluarkan biaya operasi yang tinggi.<sup>2</sup>

Penyebab dari penyakit ini sangat beragam, mulai dari hereditas, proses perkembangan, metabolik, dan beban mekanis. Proses ini didahului dengan ketidakstabilan antara degradasi dan sintesis pada kartilago sendi, sehingga menyebabkan bagian tulang tidak terproteksi oleh kartilago, dan menjadi rusak. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya nyeri sendi kronis dan gangguan pada fungsi sendi tersebut.<sup>2</sup>

Rasa nyeri menjadi gejala klinis yang paling dominan, sehingga pengembangan obat-obatan seperti *non-steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID), opioid, dan steroid selama ini hanya ditujukan untuk mengurangi nyeri dan tidak cukup efektif karena tidak mampu memperbaiki kerusakan sendi yang terjadi. Selain itu, pengobatan dengan NSAID, opioid (morphin, kodein dan heroin), dan steroid anti inflamasi memiliki efek samping yang menimbulkan perburukan ketika diberikan dengan dosis tinggi atau pemberian yang berulang. Golongan NSAID merupakan salah satu obat yang juga banyak diresepkan dan di gunakan tanpa resep dokter. Kebanyakan obat golongan NSAID memiliki efek samping pada iritasi saluran cerna dan efek samping lainnya yaitu gangguan fungsi trombosit. Obat golongan opioid digunakan untuk OA kronik hebat walaupun memiliki efek ketergantungan.<sup>4</sup>

Peningkatan prevalensi penyakit OA dan tidak adanya metode pengobatan yang efektif saat ini menyebabkan osteoarthritis menjadi salah satu penyakit yang menarik banyak perhatian bagi peneliti untuk mengembangkan suatu strategi pengobatan baru yang efektif. Dengan demikian, dilakukan penelitian untuk mencari terapi alternatif yang memberikan efek menurunkan nyeri kronik hebat, menurunkan kerusakan

sendi, dan memiliki efek samping yang ringan, yaitu dengan eksplorasi menggunakan terapi *Bovine colostrum*.<sup>3</sup>

*Bovine colostrum* mengandung *transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ) yang memiliki efek penekanan penting pada zat sitotoksik (anti inflamasi), sebagai mediator fibrosis, dan angiogenesis (penyembuhan otot jantung dan pembuluh darah), serta mempercepat penyembuhan luka dan pembentukan tulang.<sup>3</sup>

## METODE PENELITIAN

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) di laboratorium secara *in vivo* menggunakan metode *Double Blind Randomized Controlled Trials* dengan rancangan *Randomized Only Post Test Controlled Group Design*.<sup>5</sup>

### Populasi dan Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah Tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar dewasa, jenis kelamin jantan, umur 6-8 minggu, berat badan 120-160 gram dengan kondisi sehat yang ditandai dengan gerakan yang aktif. Jadi dalam penelitian ini, jumlah sampel tiap perlakuan adalah 5 atau lebih. Pada penelitian ini menggunakan ulangan lebih dari 5 yakni 6 pengulangan untuk masing-masing kelompok sehingga jumlah tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar jantan yang digunakan untuk penelitian berjumlah 30 ekor.<sup>5</sup>

Berikut ini adalah pembagian kelompok perlakuan Kontrol negatif : Tikus sehat tidak diinduksi CFA dan tanpa diberikan terapi, kontrol positif: Tikus diinduksi CFA 125  $\mu$ l, kelompok 1 : Tikus diinduksi CFA 125  $\mu$ l dan diberikan terapi kolostrum sapi 100  $\mu$ l, kelompok 2 : Tikus diinduksi CFA 125  $\mu$ l dan

diberikan terapi kolostrum sapi 125  $\mu$ l, kelompok 3: Tikus diinduksi CFA 125  $\mu$ l dan diberikan terapi kolostrum sapi 150  $\mu$ l (perlakuan hewan coba sesuai etik "Ethical Clearance" No. 291 / EC / KEPK-PKM / 04 / 2015).

#### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium FAAL, Laboratorium Patologi Anatomi, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan.

#### Variabel

Variabel Bebas: Pemberian CFA (*Complete Freund's Adjuvant*) dan dosis terapi pemberian *Bovine colostrum*. Variabel Terikat: Derajat nyeri viserosensorik dan kerusakan jaringan kartilago dan celah sendi.

#### Prosedur Penelitian

##### Persiapan Hewan Coba

Dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, sekam, botol minum, pakan, dan seleksi tikus (usia, berat badan, jenis kelamin, kesehatan). Tikus diadaptasikan di dalam laboratorium faal selama tujuh hari dan dibagi kedalam lima kelompok.

##### Induksi Osteoarthritis

Induksi dilakukan dengan injeksi 125  $\mu$ l CFA secara intraartikular pada sendi lutut kanan tikus. Injeksi dilakukan sebanyak 4 kali pada hari ke 1, 8, 15, dan 22. Respon nyeri dan gangguan fungsi sendi di evaluasi tiap minggu.<sup>6</sup>

##### Sterilisasi *Bovine colostrum*

*Bovine colostrum* dapat didinginkan hanya sekitar 1 minggu sebelum kualitas menurun. Jika kolostrum didinginkan, pastikan bahwa kulkas dingin (33-35 ° F, 12° C) untuk mengurangi timbulnya pertumbuhan bakteri. *Bovine colostrum* dapat dibekukan hingga satu tahun tanpa dekomposisi Ig yang signifikan. Pembekuan kolostrum dalam 1 atau 2 botol dengan penutupan merupakan metode yang baik untuk menyimpan kolostrum. Freezer harus dingin (-20 ° C, -5 ° F) Pencairan *Bovine colostrum* yang baik dilakukan dengan air hangat (<120 ° F, 50 ° C) dan memungkinkan untuk mencair. Tuangkan cairan yang dicairkan secara berkala untuk meminimalisir pemanasan. Hal ini juga penting untuk menghindari "hot spot" di dalam kolostrum beku.

##### Pembuatan Bahan Injeksi *Bovine colostrum*

Metode dialisis yaitu sampel pita protein dalam selofon yang sudah di jepit kedua sisinya di masukan dalam *beokor glass* yang telah terisi aquades steril atau *Phospat Buffered Saline* (PBS) steril dingin. Selanjutnya melakukan stirerr selama 24 jam. Setiap 8 jam ganti dengan PBS 1 liter dingin. Kemudian angkat selofon masukan supernatan ke dalam *ependorff* masing-masing di isi 500 mikrolit. Lakukan presipitasi protein. Dan selanjutnya, memakai metode mikrofiltrasi menggunakan syringe filter 0,22 dengan spesifikasi alat *polyethersulfone* (PES) filter membrane, ukuran 0,22  $\mu$ m, high flow rate. Prosedur pembuatannya adalah sebagai berikut: lakukan pengenceran *Bovine colostrum* bubuk dengan *aqua for injection* dengan perbandingan sesuai dosis. Hasil pengenceran dimasukkan ke dalam spuit lalu dilewatkan ke syringe filter. Proses ini di lakukan dalam *laminar air flow*. Hasil filtrasi

diambil dan dijadikan bahan injeksi. Diukur pula sifat fisik dan kimiawi seperti tingkat keasaman PH normal = 7,0.

#### Pemberian Terapi *Bovine colostrum*

Terapi diberikan secara injeksi intrartikular pada sendi lutut kanan tikus dengan dosis kelompok 1 sebanyak 100 $\mu$ l, kelompok 2 sebanyak 125 $\mu$ l, dan kelompok 3 sebanyak 150 $\mu$ l. Injeksi dilakukan sebanyak 4 kali.

#### Pengukuran Derajat Nyeri Viserosensorik dengan Metode *Hot water tail flick assay*

Melakukan pengukuran derajat nyeri tikus setiap minggu dengan menggunakan *hot water tail flick assay*. Pengukuran dengan menggunakan metode *double blind* dalam mengukur derajat nyeri tikus. Variabel dependen pada waktu yang dibutuhkan tikus untuk mengangkat ekornya dari air panas pada *water bath*. Suhu air dijaga tetap pada 50°C dengan dimonitor menggunakan termometer. Waktu yang dibutuhkan tikus untuk mengangkat ekornya karena stimulus panas diukur dengan menggunakan *stopwatch*. Waktu pengangkatan ekor diukur sebagai rata-rata dari 3 kali pengujian pada air panas dengan interval 30 detik.<sup>6</sup>

#### Pengukuran Histopatologi Sendi Lutut Tikus

Pembuatan slide HE dengan melakukan pembedahan organ. Organ dilunakkan dengan larutan dekalsifikasi dengan perbandingan 1: 20 rendam selama 24 jam kemudian di potong dengan pisau scalpel dengan ketebalan 0,3 -0,5 mm kemudian dilakukan proses dehidrasi. Setelah proses dehidrasi dilakukan, kemudian dilanjutkan dengan penghilangan udara. Kemudian di parafinisasi. Potongan blok parafin dibentuk

iris tipis yang rapi, kemudian diletakkan di atas kaca obyektif yang telah diolesi dengan minyak zaitun, yang berfungsi sebagai bahan perekat. Kaca obyektif dengan jaringan di atasnya disusun di dalam rak khusus dan dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 60°C sampai preparat siap untuk diwarnai.

#### Analisa Data

Analisis data dimulai dengan melakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Dilakukan uji *One-Way Anova* jika sebaran data normal dan uji nonparametrik (uji *Kruskal-Wallis*) jika sebaran data tidak normal. Teknik pengolahan dan analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS 18, dengan tingkat signifikansi atau nilai probabilitas 0,05 ( $p=0,05$ ) dan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ).

#### HASIL PENELITIAN

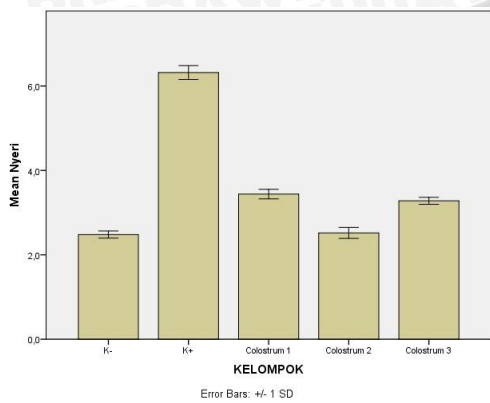
##### a. Hasil penelitian respon tikus terhadap nyeri viserosensorik dengan metode *Hot water tail flick assay*

| Kelompok               | Waktu Respon terhadap Nyeri Viserosensorik metode <i>hot water tail flick assay</i> mean $\pm$ SD (detik) |
|------------------------|---|
| K- (n = 5)             | 2,48 $\pm$ 0,08   |
| K+ (n = 5)             | 6,32 $\pm$ 0,16   |
| Kelompok 1 (K+ dan C1) | 3,44 $\pm$ 0,11   |
| Kelompok 2 (K+ dan C2) | 2,52 $\pm$ 0,13   |
| Kelompok 3 (K+ dan C3) | 3,28 $\pm$ 0,08   |

Tabel 5.1 Tabel respon tikus terhadap nyeri (dalam satuan detik)

Pada tabel 5.1 diketahui pengukuran respon nyeri viserosensorik tikus menggunakan metode *hot water tail flick assay* dengan mencelupkan ekor tikus ke dalam air hangat dengan suhu 55 °C yang dilakukan dalam satuan detik. Hal ini

menunjukkan bahwa terjadi perbedaan signifikan kelompok kontrol positif dengan kelompok terapi 1, 2, dan 3. Serta nilai respon nyeri viserosensorik kelompok terapi 3 yang mendekati nilai kelompok kontrol negatif hingga mendekati normal.

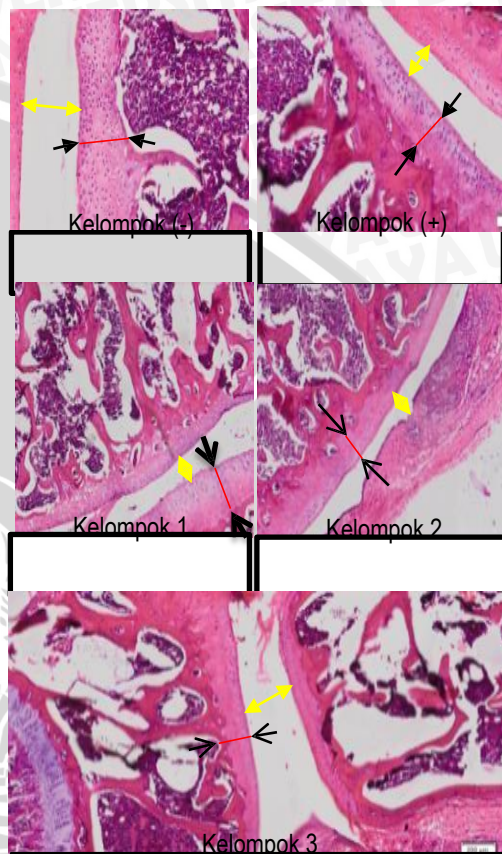


**Gambar 5.1 Grafik Rata-Rata Pengukuran Derajat Nyeri Viserosensorik selama penelitian**

Keterangan: K- = Kelompok Kontrol Negatif; K+ = Kelompok Kontrol Positif; Colostrum 1 = Kelompok Perlakuan *Bovine colostrum* 100  $\mu$ l; Colostrum 2 = Kelompok Perlakuan *Bovine colostrum* 125  $\mu$ l; Colostrum 3 = Kelompok Perlakuan *Bovine colostrum* 150  $\mu$ l

Pada gambar 5.1 dapat dilihat bahwa kelompok kontrol Negatif memiliki nilai rata-rata nyeri viserosensorik lebih rendah sebesar 2,48 detik, dibandingkan kelompok kontrol positif sebesar 6,32 detik yang nilai rata-rata nyeri viserosensorik lebih tinggi dari kontrol negatif. Pada kelompok perlakuan colostrum 2 nilai rata-rata nyeri viserosensorik sebesar 2,52 detik yang berarti mendekati nilai normal.

**b. Hasil penelitian histopatologi jaringan sendi lutuk tikus**



**Gambar 5.2 Histopatologi ketebalan jaringan kartilago dan celah sendi pada lutuk tikus tanpa perlakuan dan dengan perlakuan CFA maupun Terapi.**

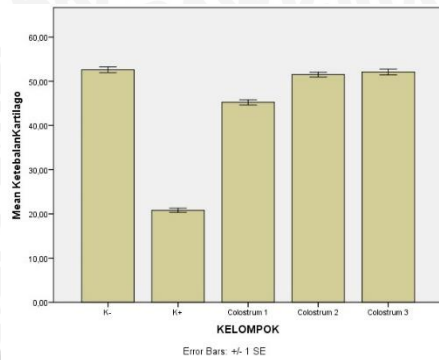
Keterangan:  
 Kelompok (-) : ketebalan kartilago normal sebesar 265.03  $\mu$ m (garis merah); celah sendi sebesar 359.45  $\mu$ m (garis kuning)  
 Kelompok (+) : Ketebalan kartilago sebesar 104,08  $\mu$ m (garis merah); celah sendi sebesar 168, 56  $\mu$ m (garis kuning)  
 Kelompok 1: Ketebalan kartilago sebesar 226.25  $\mu$ m (garis merah); celah sendi sebesar 174,14  $\mu$ m (garis kuning)  
 Kelompok 2: ketebalan kartilago sebesar 257.73  $\mu$ m (garis merah); celah sendi sebesar 267,639  $\mu$ m (garis kuning)  
 Kelompok 3: ketebalan kartilago sebesar 260.54  $\mu$ m (garis merah); celah sendi sebesar 356,85  $\mu$ m (garis kuning)  
 Pewarnaan HE, pembesaran 100x.

Pada gambar 5.2 menunjukkan bahwa *Bovine colostrum* dapat memperbaiki kerusakan jaringan kartilago. Terlihat pada kelompok terapi *Bovine colostrum* 3 ketebalan dan celah sendi yaitu : ketebalan kartilago sebesar 260.54  $\mu$ m (garis merah)



dan pelebaran celah sendi sebesar 356,85  $\mu\text{m}$  (garis kuning) hingga mendekati keadaan normal.

### Hasil Perhitungan Ketebalan Jaringan Kartilago Sendi Lutut Tikus



Gambar 5.1 Grafik Rata-rata Hasil Perhitungan Ketebalan Jaringan Kartilago Sendi Lutut Tikus Osteoarthritis

Keterangan:

K- = Kelompok Kontrol Negatif;

K+ = Kelompok Kontrol Positif;

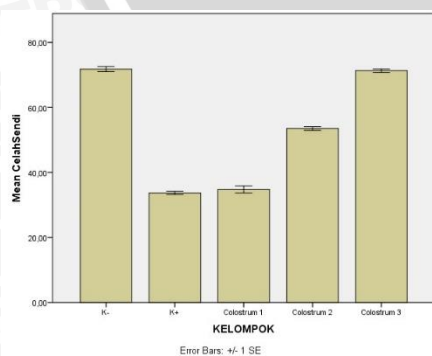
Colostrum 1 = Kelompok Perlakuan *Bovine colostrum* 100  $\mu\text{l}$ ;

Colostrum 2 = Kelompok Perlakuan *Bovine colostrum* 125  $\mu\text{l}$ ;

Colostrum 3 = Kelompok Perlakuan *Bovine colostrum* 150  $\mu\text{l}$

Pada gambar 5.1 menunjukkan bahwa kelompok terapi 3 sangat tinggi perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok terapi 1, 2, 3 tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif hingga ketebalan jaringan sendi mendekati keadaan normal.

### Hasil Perhitungan Celah Sendi Lutut Tikus Osteoarthritis Berdasarkan Grafik Statistik



Gambar 5.2 Grafik Rata-rata Hasil Perhitungan Celah Sendi Lutut Tikus Osteoarthritis

Keterangan:

K- = Kelompok Kontrol Negatif;

K+ = Kelompok Kontrol Positif;

Colostrum 1 = Kelompok Perlakuan *Bovine colostrum* 100  $\mu\text{l}$ ;

Colostrum 2 = Kelompok Perlakuan *Bovine colostrum* 125  $\mu\text{l}$ ;

Colostrum 3 = Kelompok Perlakuan *Bovine colostrum* 150  $\mu\text{l}$

Pada gambar 5.2 menunjukkan bahwa kelompok terapi 3 sangat tinggi perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok terapi 1, 2, 3 tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif hingga ketebalan jaringan sendi mendekati keadaan normal.

### ANALISIS DATA

#### Hasil Analisa Data Derajat Nyeri Viserosensorik

Hasil pengukuran tikus kelompok kontrol dan perlakuan di analisis dengan menggunakan program SPSS. Uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data normal dan homogen ( $p > 0,05$ ). Artinya tidak ada perbedaan yang terlalu menyimpang pada hasil data yang diperoleh, sehingga pengujian dapat dilanjutkan ke tahap selanjutnya.

Uji *One Way Anova* dari pengukuran derajat nyeri viserosensorik menunjukkan bahwa nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa terapi yang di berikan pada nyeri viserosensorik tikus memiliki signifikan yang sangat tinggi terhadap derajat nyeri viserosensorik yang terpengaruh oleh variabel bebas. Selanjutnya dilakukan uji *post hoc multiple comparison Tukey* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, hasil uji *post hoc* menunjukkan bahwa adanya perbedaan signifikan antara kontrol positif dan kontrol negatif ( $p = 0,000$ ,  $p < 0,05$ ) dan seluruh kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Selain itu tidak terdapat perbedaan signifikan antara kontrol negatif dengan perlakuan 2 (*Bovine colostrum* dosis 125  $\mu\text{l}$ ) ( $p = 0,983$ ). Hal ini

menunjukkan bahwa pemberian terapi *Bovine colostrum* mampu menurunkan derajat nyeri viserosensorik pada tikus model osteoarthritis hingga mendekati nilai normal. Penggunaan terapi dengan perlakuan 1 (*Bovine colostrum* dosis 100  $\mu$ l) dan 3 (*Bovine colostrum* dosis 150  $\mu$ l) juga mampu mengurangi nyeri viserosensorik, namun tidak sampai mendekati penurunan nyeri viserosensorik tikus yang normal ( $p = 0.000$ ).

### Hasil Analisa Ketebalan Kartilago dan Celah Sendi Tikus

Berdasarkan Hasil pemeriksaan histopatologis ketebalan jaringan kartilago dan celah sendi dengan pengecatan menggunakan hematoksilin eosin (HE) yang kemudian dilakukan dengan pengukuran menggunakan olynvia yang menunjukkan adanya perbaikan ketebalan jaringan kartilago sendi yang rusak dan terjadi pelebaran celah sendi pada tikus model osteoarthritis yang mendapatkan terapi *Bovine colostrum*. Pada kelompok kontrol negatif ketebalan kartilago yang normal yaitu 265.03  $\mu$ m dan lebarnya celah sendi sebesar 359.45  $\mu$ m dibandingkan kelompok kontrol positif terlihat terdapat penipisan tulang rawan (*cartilage*) yaitu 104,08  $\mu$ m dan penyempitan celah sendi sebesar 168, 56  $\mu$ m. Sementara, kelompok terapi 1 ketebalan kartilagonya sebesar 226.25  $\mu$ m dan lebarnya celah sendi sebesar 174,14  $\mu$ m, kelompok terapi 2 ketebalan kartilagonya sebesar 257.73  $\mu$ m dan lebarnya celah sendi sebesar 267,639  $\mu$ m, dan kelompok terapi 3 ketebalan kartilagonya sebesar 260.54  $\mu$ m dan lebarnya celah sendi sebesar 356,85  $\mu$ m.

Sedangkan berdasarkan Hasil pengukuran tikus kelompok kontrol dan perlakuan di analisis dengan menggunakan program SPSS. Uji normalitas dan

homogenitas menunjukkan bahwa data normal dan homogen ( $p > 0,05$ ). Artinya tidak ada perbedaan yang terlalu menyimpang pada hasil data yang diperoleh, sehingga pengujian dapat dilanjutkan ke tahap selanjutnya uji *One Way Anova* dari perhitungan ketebalan kartilago dan lebarnya celah sendi menunjukkan bahwa nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa terapi *Bovine colostrum* yang di berikan memiliki signifikan yang sangat tinggi terhadap ketebalan kartilago maupun lebarnya celah sendi yang terpengaruh oleh variabel bebas. Selanjutnya dilakukan uji *post hoc multiple comparison Tukey* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, hasil uji *post hoc* menunjukkan bahwa Hasil  $p < 0,05$  yaitu berbeda signifikan dimana kelompok negatif berbeda signifikan dengan kelompok positif ( $p = 0,00$ ). Sementara, kelompok *colostrum* 1, 2, 3 berbeda signifikan dengan kelompok positif ( $p = 0,00$ ), maka induksi osteoarthritis dikatakan berhasil.

Jadi berdasarkan gambar 5.2 histopatologi pemberian terapi dengan *Bovine colostrum* pada kelompok terapi 3 ketebalan kartilago sebesar 260.54  $\mu$ m dan lebarnya celah sendi sebesar 356,85  $\mu$ m terlihat adanya perbaikan pada ketebalan kartilago dan lebarnya celah sendi, serta berdasarkan hasil perhitungan statistik ketebalan kartilago maupun celah sendi tikus model osteoarthritis yang menunjukkan kelompok terapi 1,2,3 berbeda signifikan dengan kelompok positif ( $p = 0,00$ ) sehingga dapat dibuktikan *Bovine colostrum* mampu mengurangi peradangan hingga mendekati keadaan normal.

### PEMBAHASAN

Seperti yang telah di jelaskan dalam literatur penelitian ini, osteoarthritis adalah peradangan pada sendi yang mengalami



degeneratif yang penyebabnya dari proses mekanik, seperti trauma dan beban berat pada sendi, serta inflamasi yang berlebihan. Sehingga hasil akhirnya terjadi ketidakstabilan proses degradasi dan sintesis yang mengakibatkan degenerasi progresif dari sendi tersebut. Hal ini di tandai dengan terjadi peningkatan ekspresi osteoklas dan penurunan osteoblast pada tulang rawan sendi. Degradasi tersebut menyebabkan terjadinya rasa nyeri sendi dan gangguan pada fungsi sendi.<sup>8</sup>

Nyeri merupakan gejala yang berfungsi dalam melindungi tubuh, sebagai isyarat bahaya mengenai adanya gangguan di jaringan ( peradangan, infeksi, atau kejang otot ). Nyeri yang di sebabkan oleh rangsangan mekanis, kimiawi, atau fisik dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Rangsangan tersebut dapat memicu pelepasan mediator. Mediator nyeri yaitu dapat menyebabkan reaksi radang atau kejang-kejang yang mengaktifasi reseptor nyeri di ujung saraf bebas di kulit, mukosa, dan jaringan lain.<sup>8</sup> Nosiseptor ini terdapat di jaringan dan organ tubuh, kecuali sistem saraf pusat. Selanjutnya rangsangan di salurkan ke otak melalui sinaps di sum-sum tulang belakang, sum-sum lanjut, dan otak tengah. Dari talamus impuls kemudian di lanjutkan ke pusat nyeri yaitu otak besar, dimana impuls di persepsikan sebagai persepsi nyeri. Analgetik terbagi menjadi 2 kelompok besar : analgetik non-narkotika dan analgetik narkotika yang dapat mengurangi rasa nyeri hebat. Analgesik narkotika yaitu golongan opioid, golongan ini dapat memberikan pengaruh peningkatan efek terapi yang baik dalam menurunkan nyeri kronis yang di nilai dalam pengukuran *tail flick test*, akan tetapi memiliki golongan opioid sering memberikan efek ketergantungan.<sup>9</sup>

### **Bovine colostrum sebagai Fokus Penelitian**

*Bovine colostrum* selain memiliki efek dalam menurunkan derajat nyeri viserosensorik juga mampu memberikan efek perbaikan dengan regenerasi kartilago sendi yang mengalami penipisan dan pelebaran pada celah sendi. Kolostrum adalah cairan kompleks yang kaya nutrisi dikarakteristikan oleh tingginya komponen bioaktif, seperti *imunoglobulin* (Ig), terutama IgG1, faktor pertumbuhan, terutama *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), *transforming growth factor beta-2* (TGF- $\beta$ 2) dan *growth hormon* (GH) serta laktoferin, lisozim dan lakto peroksidase. Kandungan peptida yang terdapat pada *Bovine colostrum* dapat memberikan efek penurunan nyeri kronik hebat dengan menekan regangan serabut saraf periosteum, hipertensi intraosseus, regangan kapsul sendi, hipertensi intraartikular, regangan ligamen, dan mikrofraktur.<sup>2</sup>

Selama kondrogenesis TGF- $\beta$  menjadi inisiator utama dalam kondensasi kondrogenesis *mesenchymal stem cell* dengan cara menginisiasi ekspresi kartilago spesifik pada molekul *matrix ekstraseluler*, Col2 dan Agc1 pada pembentukan jaringan kartilago. TGF- $\beta$  menunjukkan efek anti-inflamasi yang kuat termasuk penghambatan neutrofil dan *down-regulasi* makrofag selain itu TGF- $\beta$  merupakan *immunoregulator sitokin*.<sup>10</sup>

### **Pengaruh pemberian Bovine colostrum terhadap Nyeri Viserosensorik dengan metode hot water tail flick assay**

Berdasarkan penelitian ini, pemberian *Bovine colostrum* dapat menurunkan derajat nyeri viserosensorik, mampu memperbaiki kerusakan jaringan kartilago, dan pelebaran

celah sendi pada osteoarthritis. Meskipun sebenarnya teknik pengukuran dengan menggunakan *hot water flick assay* ini digunakan pada uji pengobatan analgesik narkotika. *Bovine colostrum* ternyata juga mampu memberikan pengaruh penurunan nyeri viserosensorik. *Bovine colostrum* memiliki kandungan TGF- $\beta$  dan protein lainnya yang berfungsi sebagai efek menurunkan nyeri viserosensorik, meregenerasi kerusakan jaringan kartilago akibat inflamasi dan pelebaran celah sendi.

Penelitian ini dilakukan pengukuran derajat nyeri dengan menggunakan *hot water tail flick assay* yang menggunakan teknik *double blind* yang dikerjakan secara bergantian hingga diperoleh hasil penelitian yang objektif dan dilanjutkan dengan melakukan 3 kali pengukuran, ekor tikus dimasukkan pada suhu air yang dijaga tetap pada 55°C dengan dimonitor menggunakan termometer air raksa. Waktu yang dibutuhkan tikus untuk mengangkat ekornya ketika diberikan stimulus panas dan diukur dengan menggunakan *stopwatch*, kemudian dirata-ratakan hasil pengukuran nyeri viserosensorik.

Sehingga dapat dilanjutkan dengan uji statistik yakni, Uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data normal dan homogen ( $p > 0,05$ ). Uji *One Way ANOVA* dari derajat nyeri viserosensorik dengan pengukuran waktu respon tikus terhadap stimulus nyeri viserosensorik menunjukkan nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ). Selanjutnya dari uji *post hoc multiple comparison Tukey* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kontrol positif dan kontrol negatif ( $p = 0,000$ ,  $p < 0,05$ ) dan seluruh kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Selain itu tidak terdapat perbedaan signifikan antara kontrol negatif dengan perlakuan 2 (*Bovine colostrum* dosis

125  $\mu$ l) ( $p = 0,983$ ). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian terapi *Bovine colostrum* mampu menurunkan derajat nyeri viserosensorik pada tikus model osteoarthritis hingga mendekati nilai normal pada kelompok tersebut. Penggunaan terapi dengan perlakuan 1 (*Bovine colostrum* dosis 100  $\mu$ l) dan 3 (*Bovine colostrum* dosis 150  $\mu$ l) juga mampu mengurangi nyeri, namun tidak sampai mendekati tikus yang normal ( $p = 0,000$ ).

### **Pengaruh pemberian Bovine colostrum terhadap ketebalan dan celah sendi lutut tikus**

Pada pengukuran histopatologi dan perhitungan statistik ketebalan jaringan kartilago dan pelebaran celah sendi yang mengalami inflamasi diperoleh data hasil pengukuran dilihat dari histopatologi jaringan kartilago dan celah sendi pada kelompok kontrol negatif ketebalan kartilago yang normal yaitu 265.03  $\mu$ m dan lebarnya celah sendi sebesar 359.45  $\mu$ m dibandingkan kelompok kontrol positif terlihat terdapat penipisan tulang rawan (*cartilage*) yaitu 104,08  $\mu$ m dan penyempitan celah sendi sebesar 168,56  $\mu$ m. Sementara, kelompok terapi 1 ketebalan kartilagonya sebesar 226.25  $\mu$ m dan lebarnya celah sendi sebesar 174,14  $\mu$ m, kelompok terapi 2 ketebalan kartilagonya sebesar 257.73  $\mu$ m dan lebarnya celah sendi sebesar 267,639  $\mu$ m, dan kelompok terapi 3 ketebalan kartilagonya sebesar 260.54  $\mu$ m dan lebarnya celah sendi sebesar 356,85  $\mu$ m. Pada pengukuran histopatologi yang nilai ketebalan jaringan kartilago dan celah sendi tidak berbeda jauh dengan kelompok kontrol negatif yaitu kelompok terapi *Bovine colostrum* 3.

Kemudian dilanjutkan dengan uji statistik, diawali dengan Uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data

normal dan homogen ( $p > 0,05$ ). Artinya tidak ada perbedaan yang terlalu menyimpang pada hasil data yang diperoleh, sehingga pengujian dapat dilanjutkan ke tahap selanjutnya uji *One Way Anova* dari perhitungan ketebalan kartilago dan lebarnya celah sendi menunjukkan bahwa nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa terapi *Bovine colostrum* yang di berikan memiliki signifikan yang sangat tinggi terhadap ketebalan kartilago maupun lebarnya celah sendi yang terpengaruh oleh variabel bebas. Selanjutnya dilakukan uji *post hoc multiple comparison Tukey* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, hasil uji *post hoc* menunjukkan bahwa Hasil  $p < 0,05$  yaitu berbeda signifikan dimana kelompok negatif berbeda signifikan dengan kelompok positif ( $p = 0,00$ ). Sementara, kelompok colostrum 1, 2, 3 berbeda signifikan dengan kelompok positif ( $p = 0,00$ ), maka induksi osteoarthritis dikatakan berhasil.

Berdasarkan hasil di atas, pengukuran nyeri viserosensorik dengan metode hot water tail flick assay ini di peroleh data yang signifikan, pengukuran histopatologi kelompok terapi 1, 2, 3 nilai ketebalan jaringan kartilago dan celah sendi berbeda jauh dengan kelompok kontrol positif, hasil perhitungan statistik ketebalan jaringan kartilago dan pelebaran celah sendi menunjukkan bahwa kelompok terapi berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, dan berdasarkan penelitian Ika Dewi Soraya 2015, mengenai perhitungan sel makrofag pada jaringan sinovium diperoleh data bahwa pada kelompok kontrol positif terjadi peningkatan sel-sel makrofag pada jaringan sinovium dibandingkan pada kelompok terapi 1, 2, 3 ditemukan penurunan sel-sel makrofag pada jaringan sinovium yang berarti adanya penurunan dari sel-sel inflamasi pada sendi tikus kelompok terapi secara signifikan. Jadi dapat disimpulkan

*Bovine colostrum* terbukti mampu dijadikan sebagai efek yang dapat menurunkan derajat nyeri viserosensorik, mampu melakukan regenerasi pada tulang kartilago yang mengalami kerusakan akibat inflamasi, dan pelebaran sendi yang mendekati keadaan normal.

## KESIMPULAN

1. Pemberian terapi dengan injeksi *Bovine colostrum* secara intraartikuler terbukti mampu menurunkan derajat nyeri, memperbaiki kerusakan jaringan kartilago, dan pelebaran celah sendi pada sendi lutut tikus model osteoarthritis secara signifikan hingga mendekati keadaan normal, dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.
2. Dosis yang paling optimal dalam pemberian injeksi *Bovine colostrum* untuk pengobatan osteoarthritis dalam menurunkan derajat nyeri viserosensorik adalah dosis 2 (125  $\mu$ l).
3. Dosis yang paling optimal perbaikan dalam regenerasi kerusakan jaringan kartilago dan pelebaran celah sendi adalah dosis kelompok 3 (150  $\mu$ l).

## SARAN

1. Peneliti menyarankan untuk diadakannya penelitian lanjutan mengenai dosis injeksi *Bovine colostrum* yang dapat digunakan dengan aman dan efektif untuk dapat di gunakan pada manusia.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan menggunakan jenis pengukuran nyeri yang lain sehingga dapat di ketahui *Bovine colostrum* lebih efektif di berikan pada pengobatan terhadap inflamasi atau psikotropika.
3. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai efek samping yang mungkin

yang dapat terjadi karena injeksi *Bovine colostrum* tersebut.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Arroll B, Goodyear-Smith F: Corticosteroid injections for osteoarthritis of the knee: meta-analysis. *BMJ* 2004, 328:869
2. Arya RK, Jain V. 2013. Osteoarthritis of the knee joint: An overview, *Journal Indian Academy of Clinical Medicine* 14(2): 154-62
3. Bars D.L., Gozairu M. dan S.W. Cadden. 2001. Animal Models of Nociception. *Pharmacological Reviews*, Vol 53 no.4 : 597 – 652
4. Baeten D., P. Demetter., C.Cuvelier., F Van den Bosch, E.Kruihof., N Van Damme., G.Verbruggen., H. Mielants., E.M.Veys & F De Keyser. 2000. Comparative study of the synovial histology in rheumatoid arthritis, spondyloarthropathy, and osteoarthritis: influence of disease duration and activity. *J Ann Rheum Dis*(59) : 945–953.
5. Berenbaum, F. 2013. Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis). *Osteoarthritis and cartilage* 21 (1): 16-21
6. Bijlsma JW, Van Everdingen AA, Huisman M, De Nijs RN, Jacobs JW (2002). Glucocorticoids in rheumatoid arthritis: effects on erosions and bone. *Ann N Y Acad Sci* 966: 82–90.
7. Blaney Davidson, E.N., Vitters, E.L., van der Kraan, P.M., van den Berg, W.B., 2006. Expression Of Transforming Growth Factor-Beta (Tgfbeta) And The Tgfbeta Signalling Molecule SMAD-2P In Spontaneous Andinstability-Induced Osteoarthritis: Role In Cartilage Degradation, Chondrogenesis And Osteophyte Formation. *Annals Of The Rheumatic Diseases* 65, 1414–1421.
8. Brandano, P., S.P.G, Rassu dan A. Lanza. 2004. Feeding dairy lamb. Dalam : Pulina, G dan R. Bencini (Editor). *Dairy Sheep Nutrition*. CABI Publishing , Walingford.
9. Brenner, A. T., Wahba,K., Mohammed, A. S. A., Massoud, W. A. 2008. Association between Dialysis Dose Improvement and Nutritional Status among Hemodialysis Patients. *American Journal of Nephrology* Vol. 27. pp:113-119.
10. Brunner. (2001). Nyeri Pinggang Bawah (Low Back Pain). Diambil 22 Februari dari [www.artikel\\_nyeri.com](http://www.artikel_nyeri.com).