

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan untuk menilai pengaruh pemberian larutan nikotin terhadap kadar deoxypyridinoline (DPD) serum pada tikus model osteoporosis. Metode bilateral oovorektomi digunakan untuk memperoleh tikus model osteoporosis kemudian dilakukan pengukuran kadar DPD serum. Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok dan diberi perlakuan bilateral oovorektomi kecuali pada kelompok kontrol negatif yaitu kelompok yang tidak mendapatkan perlakuan bilateral oovorektomi, sedangkan kelompok kontrol positif adalah kelompok yang mendapatkan perlakuan bilateral oovorektomi dan diinkubasi selama 2 bulan serta diberi normal saline. Kelompok larutan nikotin dosis 1 (D1) adalah kelompok yang mendapat perlakuan bilateral oovorektomi, kemudian diikuti dengan pemberian larutan nikotin 0,25 mg/kgBB. Kelompok larutan nikotin dosis 2 (D2) adalah kelompok yang mendapat perlakuan bilateral oovorektomi, kemudian diikuti dengan pemberian larutan nikotin 0,5 mg/kgBB. Kelompok larutan nikotin dosis 3 adalah kelompok yang mendapat perlakuan bilateral oovorektomi, kemudian diikuti dengan pemberian larutan nikotin 0,75 mg/kgBB.

Dari hasil analisis data dengan menggunakan uji ANOVA menunjukkan bahwa pemberian larutan nikotin secara signifikan tidak berpengaruh ( $p=0,103$ ) terhadap kadar deoxypyridinoline serum pada semua kelompok perlakuan. Hal serupa juga terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh Norazlina dkk (2009) mengenai efek nikotin terhadap marker biokemikal tulang yang dilakukan selama 4 bulan. Hasilnya menunjukkan bahwa nikotin dapat meningkatkan marker resorpsi

tulang pyridinoline (PYD) sekaligus menurunkan marker formasi tulang setelah 2 bulan pengobatan dengan menggunakan nikotin. Parameter gagal membaik setelah nikotin berhenti selama 2 bulan berikutnya. Jadi dapat disimpulkan bahwa metabolisme tulang yang terganggu oleh nikotin tidak dapat membaik secara signifikan, sehingga harus dilakukan pemberian terapi lebih lama agar bisa melihat perubahan yang mungkin lebih signifikan pada marker biokemikal tulang.

Analisis data dilanjutkan dengan uji Post Hoc Tukey HSD dan diperoleh nilai signifikansi pengaruh larutan nikotin terhadap kadar DPD serum tiap kelompok sebagai berikut:

- Kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif (OVX) tidak memiliki pengaruh yang signifikan ( $p=0,570$ ).
- Kelompok kontrol negatif dengan kelompok larutan nikotin dosis 1 (D1) tidak memiliki pengaruh yang signifikan ( $p=0,719$ ).
- Kelompok kontrol negatif dengan kelompok larutan nikotin dosis 2 (D2) tidak memiliki pengaruh yang signifikan ( $0,426$ ).
- Kelompok kontrol negatif dengan kelompok larutan nikotin dosis 3 (D3) tidak memiliki pengaruh yang signifikan ( $0,958$ ).
- Kelompok kontrol positif (OVX) dengan kelompok larutan nikotin dosis 1 (D1) tidak memiliki perbedaan yang signifikan ( $0,999$ ).
- Kelompok kontrol positif (OVX) dengan kelompok larutan nikotin dosis 2 (D2) tidak memiliki perbedaan yang signifikan ( $0,999$ ).

- Kelompok kontrol positif (OVX) dengan kelompok larutan nikotin dosis 3 (D3) tidak memiliki perbedaan yang signifikan (0,225).

Dari uraian hasil uji Post Hoc Tukey HSD diatas dapat disimpulkan bahwa antar kelompok perlakuan tidak memiliki perbedaan yang bermakna karena nilai signifikansinya tidak memenuhi  $p < 0,05$ . Kemudian dari uji regresi linier diperoleh nilai R square sebesar 0,192 yang menunjukkan bahwa pemberian larutan nikotin tidak berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar DPD serum.

Hasil penelitian menunjukkan kadar deoxypyridinoline serum antara kelompok negatif yang tidak diberikan perlakuan bilateral oovorektomi dengan kelompok positif yang dilakukan bilateral oovorektomi terjadi penurunan kadar deoxypyridinoline serum. Bilateral oovorektomi yang dilakukan pada tikus akan menyebabkan kadar estrogen pada tikus menurun sehingga hal ini akan mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan aktivitas osteoblas (pembentuk tulang) osteoklas (peresorpsi tulang) dan kemudian akan menyebabkan osteoporosis. Peningkatan kadar deoxypyridinoline sebagai marker resorpsi tulang dapat diamati 30 hari setelah ovariektomi tikus (Ladizesky et al,2003). Pada penelitian ini terjadi hal sebaliknya, yaitu terjadi penurunan kadar DPD serum pada kelompok kontrol positif (OVX). Hal ini menunjukkan bahwa pada tikus yang sudah diovariektomi terjadi penurunan proses resorpsi tulang namun proses ini juga diikuti dengan aktivitas osteoblas yang meningkat.

Berdasarkan penelitian Blanque et al (1998) mengemukakan bahwa puncak kenaikan osteocalcin sebagai marker formasi tulang terjadi 14 hari setelah diovariektomi, menunjukkan bahwa efek estrogen kurang menginduksi perubahan

aktivitas osteoblas yang maksimal pada saat itu. Hal berbeda terjadi pada perubahan marker resorpsi tulang yang tidak menunjukkan puncak yang jelas pada hari ke 11,14,21 dan 28 pasca ovariektomi. Pada penelitian ini menunjukkan hal sebaliknya bahwa pada kelompok kontrol positif mengalami penurunan kadar DPD serum. Merujuk pada prosedur bilateral oovorektomi yang sudah dilakukan pada penelitian sebelumnya bahwa prosedur yang dilakukan pada penelitian ini sudah sesuai dengan prosedur yang baku. Namun mungkin ada beberapa faktor lain yang mungkin mempengaruhi hasil penelitian.

DPD tidak digunakan sebagai penunjang diagnosis osteoporosis, tetapi digunakan untuk memonitor status resorpsi tulang sehingga bisa digunakan sebagai pengukur keberhasilan terapi. Oleh karena itu kadar DPD serum pada kelompok kontrol positif ini tidak bisa digunakan sebagai penentu bahwa kelompok kontrol positif sudah mengalami osteoporosis, namun bisa dinilai status resorpsi pada kelompok kontrol positif mengalami penurunan. Namun bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, pada kelompok larutan dosis 1 (D1) dan kelompok larutan dosis 2 (D2) terjadi penurunan kadar DPD serum, yaitu masing-masing sebesar 22,5% dan 30%. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian nikotin pada kelompok D1 dan D2 memiliki pengaruh terhadap penurunan kadar deoxypyridinoline serum jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini juga bisa menjelaskan penurunan kadar DPD serum yang terjadi pada kelompok larutan nikotin dosis 2 (D2) dimana kadar DPD pada kelompok D2 lebih rendah daripada kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa pada pemberian

larutan nikotin dengan dosis 0,5 mg/kgBB terjadi penurunan kadar DPD serum tetapi belum dapat menurun secara signifikan.

Pada kelompok D3 terjadi peningkatan kadar deoxypyridinoline serum pada jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya termasuk kelompok kontrol negatif. Hal ini mungkin terjadi karena pada dosis 0,75 mg/kgBB merupakan dosis yang sangat tinggi dimana tidak didapatkan hasil terapi namun yang terjadi adalah efek yang sebaliknya. Dari penelitian sebelumnya disebutkan bahwa pengaruh nikotin pada tulang tergantung pada dosis yang diberikan. Pada dosis yang rendah dapat menimbulkan efek stimulator, sedangkan pada dosis yang tinggi dapat menimbulkan efek negatif terhadap stimulasi sel osteoprogenitor. Beberapa studi mengatakan bahwa nikotin dengan konsentrasi rendah dapat meningkatkan proliferasi sel dan pada konsentrasi yang tinggi nikotin dapat menghambat proliferasi sel (Rocha, 2011).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada pemberian larutan nikotin terhadap kadar DPD serum. Namun dari hasil analisis data tetap didapatkan penurunan kadar DPD serum sebesar 22,5% pada kelompok D1 dan 30% pada kelompok D2 yang diberikan larutan nikotin jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Penelitian ini masih harus dilakukan banyak perbaikan diantaranya evaluasi prosedur bilateral oovorektomi untuk mendapatkan tikus model osteoporosis, terutama waktu untuk memberikan perlakuan, karena kemungkinan kondisi model hewan osteoporosis belum tercapai, atau umur tikus yang belum sesuai dimana

kemungkinan tikus sedang berada di masa puncak tulang, sehingga mempengaruhi model tikus yang dilakukan bilateral oovorektomi maupun variabel yang dihitung. Kemudian belum bisa dipastikan dosis yang efektif untuk terapi osteoporosis dengan menggunakan larutan nikotin karena berdasarkan variabel yang diukur belum didapatkan hasil yang signifikan. Hal ini mungkin dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain waktu terapi yang kurang. Analisis Bone Mineral Density (BMD) dilakukan 16 minggu setelah dilakukan ovariectomi untuk menilai bone density dan komposisi didalam tubuh (Sun, et al., 2003). Marker resorpsi tulang akan menurun sebesar 40% dalam waktu 3 bulan setelah dimulai terapi dan akan diikuti dengan penurunan marker formasi tulang selama 6-12 bulan berikutnya. Selain itu, perubahan biomarker tulang pada terapi antiresorptif berhubungan dengan pengurangan resiko fraktur. Jika biomarker resorpsi tulang tidak turun selama terapi antiresorptif bisa terjadi karena ketidaksesuaian terapi, malabsorpsi, penyerapan yang buruk atau mungkin ada penyebab sekunder dari osteoporosis yang membutuhkan pencarian lainnya (Coates,2013). Selain itu sebelum memberi perlakuan perlu dilakukan pengukuran kadar deoxypyridinoline serum terlebih dahulu agar bisa membandingkan hasilnya dengan setelah diberi perlakuan.

Prosedur bilateral oovorektomi yang dilakukan sudah mengikuti prosedur yang baku, dimana sudah banyak dilakukan prosedur yang serupa pada penelitian-penelitian sebelumnya seperti pada penelitian Lasota dkk (2004), Khajuria dkk (2013), dan Raden (2011). Namun pada penelitian ini terdapat beberapa kekurangan pada prosedur bilateral oovorektomi, dimana prosedurnya dilakukan oleh orang yang kurang kompeten dalam hal pembedahan, sulitnya prosedur bilateral oovorektomi

jika dilakukan pada tikus karena ovarium yang akan dibedah sulit untuk dibedakan dengan organ reproduksi lainnya pada tikus. Kemudian saat perawatan pasca bilateral oovorektomi tikus mengalami infeksi dan mati, sehingga hal ini bisa berpengaruh ke tikus lainnya dan mempengaruhi variabel yang diukur.