

Pengaruh Pemberian Asam Mefenamat Terhadap Pertumbuhan Memanjang Tulang Femur Tikus Jantan Muda

The Effect Of Mefenamic Acid On Longitudinal Development Of Growth Plate In Young Male White Rats

Muhamad Hasan

Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Jl. Kalimantan 37, Jember 68121, Indonesia, Telp./Fax. (+62331) 337877
e-mail korespondensi: hasanjember@yahoo.com

Abstrak

Studi epidemiologis terdahulu belum memiliki penjelasan yang jelas mengenai efek konsumsi asam mefenamat terhadap pertumbuhan tulang panjang. Studi ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh asam mefenamat terhadap pertumbuhan tulang panjang. Penelitian ini menggunakan rancangan *separate pretest posttest control group design* dengan menggunakan 40 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok, 1 kelompok pretest (K0), 1 kelompok kontrol (K1), dan 2 kelompok perlakuan (K3 dan K4). Kelompok perlakuan diberikan asam mefenamat oral 27 mg/200gBB/hari dan 54 mg/200gBB/hari yang dilarutkan ke dalam 2 ml air. Setelah 4 minggu diukur panjang femur, panjang lempeng pertumbuhan dan jumlah sel longitudinal di dalam lempeng pertumbuhan. Hasil data didapatkan terdapat perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Sedangkan antara kelompok K3 dan kelompok 4 tidak ada perbedaan signifikan. Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian asam mefenamat dapat menurunkan panjang femur, panjang lempeng pertumbuhan dan menurunkan jumlah sel pada lempeng pertumbuhan.

Kata kunci: asam mefenamat, kondrosit, lempeng pertumbuhan

Abstract

The past epidemiologic studies did not have definite explanation about the effect of consuming Mefenamic Acid on Longitudinal Bone Development. The aim of this study is to explain the effect of Mefenamic Acid on Longitudinal Bone Development. The design of this study was the Separate pretest, Posttest Only Control Group Design using 40 male wistar strain rats and divided into four groups. They consists of one pretest group, one control group and two treatment groups. The treatment groups were given mefenamic acid orally in the dose of 27 mg/200 g BW/day, and 54 mg/200 g BW/day which were dissolved in 2 ml of distilled water. After 4 weeks, the length of femur, length of growth plate and number of longitudinal cell of growth plate are noticed. The result was showed in all of experimental animals had a significant difference to control groups ($p < 0.05$). Pair wise comparisons showed that significant difference ($p < 0.05$) occurred in all of groups except between mefenamic acid 27 mg and mefenamic acid 54 mg that not significant difference. This study show that mefenamic acid treatment cause decrease of femur length, decrease of growth plate length and decrease number of growth plate cell.

Keywords: mefenamic acid, chondrocyte, growth plate

Pendahuluan

Obat golongan *non steroidal anti inflammatory drugs* (NSAIDs) merupakan obat yang sering digunakan dalam sediaan farmakologi. Tidak semua NSAID disetujui oleh badan pengawas obat-obatan untuk digunakan pada anak-anak, akan tetapi hampir semua jenis NSAID biasa digunakan pada anak-anak. Di Indonesia belum ada data yang tersedia, tetapi disinyalir penggunaan obat golongan NSAID untuk usia muda bahkan anak-anak dalam bentuk sirup banyak ditemukan (Hungin dan Kean, 2001; Milojevic dan Iloit, 2002; Wilmana, 2001).

Lempeng pertumbuhan (*growth plate*) menyebabkan pertumbuhan memanjang dari metafisis dan diafisis tulang panjang, melalui dua proses yang berbeda, yaitu; pertumbuhan intersisial dari tulang rawan lempeng pertumbuhan, yang menjadikannya lebih tebal dan karena itu epifisis bergerak seolah-olah menjauhi metafisis, selanjutnya adalah kalsifikasi, kematian sel dan penggantian tulang rawan oleh tulang melalui proses yang disebut ossifikasi sekunder (Elaine dan Marieb, 1999; Iannotti et al, 1994; Rockwood et al, 1996; Salter, 1999).

TGF (*transforming growth factors*) beta-1 merangsang produksi prostaglandin E2 (PGE2) di membran sel. PGE2 aktif menyebabkan aktivasi PKA (protein kinase A). Protein kinase A menghasilkan signal yang meningkatkan aktivitas PKC, selanjutnya PKC akan mengatur proliferasi, deferensiasi dan sintesa matrik dari lempeng pertumbuhan, melalui rangsangannya terhadap sintesa DNA pada sel-sel kondrosit yang ada pada lempeng pertumbuhan (Rosado, 2002; Sylvia, 2001).

Obat asam mefenamat, derivat meklofenamat, salah satu jenis NSAID menghambat pembentukan enzim siklooksigenase, enzim siklooksigenase ini merubah asam arakidonat menjadi prostaglandin, sehingga bila obat ini diberikan sebagai anti nyeri pada anak-anak atau remaja dalam masa pertumbuhan akan mengganggu proses pertumbuhan memanjang dari tulangnya. (Katzung, 2001)

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian asam mefenamat, dengan beberapa macam dosis, dalam beberapa minggu kemudian diukur efeknya terhadap panjang tulang femur, panjang *growth plate* dan jumlah sel pada *growth plate* yang tersusun memanjang dari tulang femur tikus putih muda.

Metode Penelitian

Subyek penelitian adalah tikus wistar usia 4-6 minggu. Besar sampel yang digunakan adalah 40 ekor. Penelitian ini adalah jenis penelitian ekperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan *the separate pretest, post-test only control group design*. 40 ekor tikus yang memenuhi syarat dibagi secara acak menjadi 4 kelompok, masing-masing terdiri dari 10 ekor. Kelompok I sebagai kelompok *pretest*, kelompok ke II sebagai kelompok kontrol *posttest*, kelompok III diberikan perlakuan dengan pemberian asam mefenamat dosis 27 mg/200mgBB/hari selama 4 minggu, kelompok IV diberikan perlakuan dengan pemberian asam mefenamat dosis 54 mg/200mgBB/hari selama 4 minggu. Setelah itu diamati panjang dan jumlah sel dengan susunan memanjang dari lempeng pertumbuhan (*growth plate*) berdasarkan pemeriksaan dibawah mikroskop cahaya dan pengukuran panjang tulang femur.

Analisa Data

Data yang dicatat dikelompokkan, dianalisis, selanjutnya dilakukan uji deskriptif, uji normalitas distribusi, analisis varian, serta analisis regresi yang diolah dengan program SPSS 10.01 *for windows*.

Hasil

Hasil penelitian ekperimental tentang pengaruh asam mefenamat sebagai variabel bebas terhadap pemendekan dari lempeng pertumbuhan merupakan data yang berskala rasio yang didapatkan dari pengukuran panjang femur, panjang lempeng pertumbuhan dan jumlah sel pada susunan memanjang dari lempeng pertumbuhan (table 1, 2, 3).

Tabel 1 Data hasil pengukuran panjang femur dan berat badan dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

| NO | Pretest (K0) | | Kontrol posttest (K1) | | Mefenamat 27mg (K2) | | Mefenamat 54mg (K3) | |
|----|---------------|------------|-----------------------|------------|---------------------|------------|---------------------|------------|
| | BB (gram) | femur (mm) | BB (gram) | femur (mm) | BB (gram) | femur (mm) | BB (gram) | femur (mm) |
| 1 | 78 | 23,6 | 101 | 30,0 | 80 | 28,6 | 106 | 30,1 |
| 2 | 90 | 24,0 | 103 | 30,4 | 90 | 29,3 | 102 | 29,8 |
| 3 | 78 | 23,0 | 94 | 30,2 | 86 | 29,8 | 112 | 30,1 |
| 4 | 98 | 24,5 | 98 | 30,3 | 76 | 28,8 | 110 | 29,6 |
| 5 | 97 | 25,2 | 80 | 30,3 | 85 | 29,8 | 96 | 30,5 |
| 6 | 76 | 23,6 | 104 | 32,4 | 94 | 28,8 | 91 | 27,0 |
| 7 | 98 | 24,2 | 90 | 30,2 | 105 | 29,4 | 90 | 28,4 |
| 8 | 103 | 25,0 | 95 | 30,2 | 96 | 28,0 | 98 | 29,6 |
| 9 | 102 | 25,0 | 96 | 30,1 | 88 | 28,8 | 105 | |
| 10 | 68 | 22,0 | 90 | 30,0 | 103 | 31,0 | 72 | |

Tabel 2 Data hasil pengukuran panjang lempeng pertumbuhan (μ) dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

| No | Pretest (K0) | Kontrol posttest (K1) | Mefenamat 27mg (K2) | Mefenamat 54mg (K3) |
|----|---------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| 1 | 105.56 | 120.36 | 64.81 | 44.44 |
| 2 | 162.97 | 74.08 | 61.11 | 47.22 |
| 3 | 129.64 | 74.08 | 63.89 | 42.58 |
| 4 | 160.20 | 59.25 | 75.92 | 46.31 |
| 5 | 312.97 | 83.33 | 72.22 | 41.67 |
| 6 | 118.53 | 90.75 | 62.03 | 36.11 |
| 7 | 76.86 | 65.75 | 43.53 | 26.86 |
| 8 | 65.75 | 126.86 | 83.33 | 44.44 |
| 9 | 178.70 | 115.75 | 46.31 | |
| 10 | 131.47 | 88.89 | 52.78 | |

Data hasil penelitian selanjutnya dianalisa secara statistik deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran yang lebih jelas mengenai distribusi data maupun simpangan baku dari data. Hasil statistik diskriptif terhadap panjang femur, panjang lempeng pertumbuhan dan jumlah sel yang tersusun memanjang dari lempeng pertumbuhan tampak pada tabel 4.

Uji normalitas terhadap data panjang femur, Tabel 3 Data hasil pengukuran jumlah sel yang tersusun memanjang dari lempeng pertumbuhan dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

| No | Pretest (K0) | Kontrol posttest (K1) | Mefenamat 27mg (K2) | Mefenamat 54mg (K3) |
|----|---------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| 1 | 13.00 | 16.00 | 8.33 | 5.00 |
| 2 | 18.00 | 9.67 | 6.67 | 5.33 |
| 3 | 15.33 | 9.67 | 7.67 | 5.00 |
| 4 | 15.33 | 7.33 | 7.67 | 5.00 |
| 5 | 34.00 | 9.33 | 9.00 | 5.33 |
| 6 | 13.67 | 11.00 | 7.67 | 4.67 |
| 7 | 11.00 | 10.00 | 6.00 | 4.00 |
| 8 | 9.67 | 13.33 | 11.00 | 5.67 |
| 9 | 22.67 | 15.00 | 6.33 | |
| 10 | 21.00 | 11.00 | 7.00 | |

data panjang lempeng pertumbuhan serta data jumlah sel pada susunan memanjang dari lempeng pertumbuhan yang berskala data rasio, dilakukan dengan menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov*.

Hasil uji ini menunjukkan semua kelompok data berat badan, panjang femur, panjang lempeng pertumbuhan serta jumlah sel pada susunan

memanjang dari lempeng pertumbuhan dari berbagai dosis yang diuji berdistribusi normal. Hal ini terlihat dari besarnya $p > 0,05$.

Tabel 4 Rerata dan simpangan baku berat badan (mg), panjang femur (mm), panjang lempeng pertumbuhan (micron) dan jumlah sel yang tersusun memanjang dari lempeng pertumbuhan dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

| Kelompok | Variabel | Rerata | Simpangan Baku |
|-------------------------------|---------------|----------|----------------|
| Pretest (K0) | Berat awal | | |
| | Berat akhir | 79.8000 | 26.2000 |
| | Panjang femur | - | - |
| | Panjang GP | 144.2650 | 69.5197 |
| | Jumlah sel GP | 17.3670 | 7.1430 |
| | Berat awal | | |
| Kontrol posttest (K1) | Berat akhir | 95.1000 | 7.2000 |
| | Panjang femur | 158.4000 | 13.7100 |
| | Panjang GP | 30.4100 | 0.7110 |
| | Jumlah sel GP | 89.9120 | 23.6441 |
| | Jumlah sel | 11.2230 | 2.7285 |
| | Berat awal | | |
| Mefenamat 27 (K2) | Berat akhir | 90.3000 | 9.3500 |
| | Panjang femur | 137.3000 | 16.6000 |
| | Panjang GP | 29.2300 | 0.8350 |
| | Jumlah sel GP | 64.5930 | 13.8842 |
| | Jumlah sel | 7.9340 | 1.3312 |
| | Berat awal | | |
| Mefenamat 54 (K3) | Berat akhir | 100.6300 | 8.3000 |
| | Panjang femur | 135.1300 | 21.2600 |
| | Panjang GP | 29.3880 | 1.1460 |
| | Jumlah sel GP | 41.2012 | 6.7291 |
| | Jumlah sel | 5.0000 | 0.5036 |
| | Berat awal | | |

Hasil data kemudian dilakukan analisis multi varians. Analisis multi varians ini ditujukan untuk mengetahui ada atau tidak perbedaan pengaruh perlakuan antar kelompok terhadap variabel tergantung. Hal ini dilakukan dengan menguji variabel tergantung yaitu berat badan, data

panjang femur, data panjang lempeng pertumbuhan serta data jumlah sel pada susunan memanjang dari lempeng pertumbuhan dengan menggunakan *multivariate tests*.

Dari uji beda pengaruh secara individu melalui *Pairwise comparisons* (tabel 5) ternyata terdapat perbedaan yang bermakna dari masing-masing kelompok, kecuali pada perlakuan mefenamat 27 dan mefenamat 54, dimana pada variabel panjang femur nilai signifikannya 0,722, variabel panjang lempeng pertumbuhan / GP nilainya 0,210 dan jumlah sel GP nilainya 0,131 ($>0,05$). Dari analisis regresi tersebut didapatkan p untuk semua variabel diatas $< 0,05$. hal ini berarti semakin tinggi dosis asam mefenamat yang digunakan akan semakin besar pengaruh penurunan panjang femur, panjang lempeng pertumbuhan dan jumlah sel lempeng pertumbuhannya.

Pembahasan

Pertumbuhan dari lempeng pertumbuhan (*growth plate*), yaitu diferensiasi, proliferasi, hipertropi kondrosit dan sintesa matrik dipengaruhi oleh prostaglandin. Pengaruh prostaglandin terhadap pertumbuhan melalui rangsangan protein Kinase C (PKC) dan rangsangan terhadap TGF beta. Pada masa pertumbuhan, lempeng pertumbuhan (*growth plate*) tumbuh seimbang dengan terjadinya kalsifikasi zona hipertropi pada daerah dekat diafisis, hal ini menyebabkan seolah-olah *growth plate* menjauh dari diafisis, yang pada akhirnya menyebabkan tulang tumbuh semakin panjang.

Pemberian obat anti nyeri golongan NSAID pada anak usia pertumbuhan akan menyebabkan hambatan pembentukan prostaglandin di daerah lempeng pertumbuhan (*growth plate*), diferensiasi, hipertropi kondrosit dan sintesa matrik di daerah lempeng pertumbuhan (*growth plate*) akan terhambat. Hal ini menyebabkan gangguan pertumbuhan dari lempeng pertumbuhan (*growth plate*) yang berarti juga menghambat gangguan terhadap pertumbuhan tulang panjang.

Dari hasil pada penelitian ini, uji normalitas melalui *Kolmogorov-Smirnov Tests* terhadap berat badan dan terhadap ketiga variabel

Tabel 5 Hasil perhitungan uji beda untuk variabel panjang femur (mm), panjang lempeng pertumbuhan (μ) serta jumlah sel pada susunan memanjang dari lempeng pertumbuhan

| Dependent Variable | (I) KELOMPOK | (J) KELOMPOK | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. ^a |
|--------------------|--------------|--------------|-----------------------|------------|-------------------|
| PANJANG FEMUR (mm) | PRETES | KONTROL POS | -6.400 | .414 | .000 |
| | | MEFENAMAT 27 | -5.220 | .414 | .000 |
| | | MEFENAMAT 54 | -5.377 | .439 | .000 |
| | KONTROL POS | MEFENAMAT 27 | 1.180 | .414 | .007 |
| | | MEFENAMAT 54 | 1.023 | .439 | .026 |
| | | MEFENAMAT 27 | MEFENAMAT 54 | -.157 | .439 |
| PANJANG GP (mik) | PRETES | KONTROL POS | 54.353 | 17.249 | .003 |
| | | MEFENAMAT 27 | 79.672 | 17.249 | .000 |
| | | MEFENAMAT 54 | 103.064 | 18.295 | .000 |
| | KONTROL POS | MEFENAMAT 27 | 25.319 | 17.249 | .151 |
| | | MEFENAMAT 54 | 48.711 | 18.295 | .012 |
| | | MEFENAMAT 27 | MEFENAMAT 54 | 23.392 | 18.295 |
| JUMLAH SEL GP | PRETES | KONTROL POS | 6.144 | 1.789 | .002 |
| | | MEFENAMAT 27 | 9.433 | 1.789 | .000 |
| | | MEFENAMAT 54 | 12.367 | 1.897 | .000 |
| | KONTROL POS | MEFENAMAT 27 | 3.289 | 1.789 | .075 |
| | | MEFENAMAT 54 | 6.223 | 1.897 | .002 |
| | | MEFENAMAT 27 | MEFENAMAT 54 | 2.934 | 1.897 |

Tabel 6 Hasil analisis regresi linier terhadap penurunan panjang femur, penurunan panjang lempeng pertumbuhan serta penurunan jumlah sel pada susunan memanjang dari lempeng pertumbuhan dengan besarnya dosis asam mefenamat (mg)

| Variabel | Konstanta regresi | Koefisien regresi | p |
|---|-------------------|-------------------|--------|
| Penurunan panjang femur | 0.2140 | 0.0199 | 0.0118 |
| Penurunan panjang lempeng pertumbuhan | 0.3083 | 0.9034 | 0.0000 |
| Penurunan jumlah sel dalam lemp pertumb | 0.0568 | 0.1155 | 0.0000 |

diperoleh bahwa distribusi data ketiga variabel adalah berdistribusi normal ($p > 0,05$).

Hasil perhitungan uji beda untuk variabel panjang femur (mm), panjang lempeng pertumbuhan (μ) serta jumlah sel pada susunan memanjang dari lempeng pertumbuhan terhadap masing-masing kelompok didapatkan signifikansi dengan nilai hampir semua $< 0,05$ kecuali pada uji beda antara kelompok 3 dan kelompok 4 pada semua variabel didapatkan signifikansi yang $> 0,05$. Hal ini menggambarkan bahwa dari ketiga variabel tergantung tersebut ada perbedaan yang bermakna dari masing-

masing kelompok, kecuali antara kelompok kelompok 3 dan kelompok 4.

Hasil perhitungan dengan menggunakan uji multi varians menunjukkan bahwa secara bersama-sama terdapat perbedaan penurunan rerata hasil pengukuran baik panjang lempeng pertumbuhan serta jumlah sel pada susunan memanjang dari lempeng pertumbuhan pada kelompok pre, kontrol post dan perlakuan dengan $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Sedang pada penurunan panjang femur dari masing-masing kelompok perbedaan penurunannya tidak signifikan.

Dari analisis regresi (tabel 6) didapatkan p untuk semua variabel panjang femur, panjang lempeng pertumbuhan serta jumlah sel yang tersusun memanjang dari lempeng pertumbuhan $< 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian asam mefenamat berpengaruh secara bermakna terhadap penurunan panjang femur, penurunan panjang lempeng pertumbuhan serta penurunan jumlah sel pada susunan memanjang dari lempeng pertumbuhan. Dari analisis ini juga diketahui bahwa penurunan panjang femur tidak sekuat penurunan dari variabel lainnya.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian asam mefenamat menyebabkan panjang femur dan panjang lempeng pertumbuhan menjadi lebih pendek, pemberian asam mefenamat juga dapat menyebabkan jumlah sel yang tersusun memanjang dari lempeng pertumbuhan menjadi lebih sedikit. Semakin tinggi dosis asam mefenamat akan semakin besar pengaruh penurunan panjang femur, penurunan panjang lempeng pertumbuhan dan penurunan jumlah sel pada lempeng pertumbuhan (*growth plate*).

Daftar Pustaka

- Elaine N dan Marieb RN. 1999. *Bone and Skeletal Tissues*. Human Anatomy and Physiology. Fifth Edition. Ed by Benjamin Cummings. Toronto, p173-93.
- Hungin APS dan Kean WF. 2001. Non Steroid Anti Inflammatory Drugs: Overuse or Underuse in Osteoarthritis. *American Journal of Medicine*. Volume 110: 1A, January 8.
- Iannotti JP, Goldstein S, Kuhn JL, Lipiello L, dan Kaplan FS. 1994. *Growth Plate and Bone Development*. Orthopaedic Basic Science, editor by Sheldon R. Simon, MD. American Academy of Orthopaedic Surgeons. P.185-218.
- Katzung BG. 2001. *The Eicosanoid: Prostaglandins, Tromboxanes, Leukotriens and Related Compounds; NSAIDs*. Basic & Clinical Pharmacology. Eighth Edition. McGraw-Hill Comp. New York.
- Milojevic DS dan Ilowit NT. 2002. Treatment of Rheumatic diseases in Children: Special

consideration. *Rheumatic Diseases Clinical of North America*. Volume 28: 3. WB Souder Company, New York

- Rockwood Jr C A, Wilkin KE, dan Beaty JH. 1996. *Bone Development. Fractures in Children* Volume 31 *Fourth Edition*. Lippincott-Raven. Philadelphia, p.30-49.
- Rosado E. 2002. Transforming Growth Factor – beta 1 Regulation of Growth Zone Chondrocytes is Mediated by Multiple Interacting Pathway. *Biochimica et Biophysica acta*. San Antonio; Volume 1590 (1-3): 1-15
- Salter, R. B. 1999. *Disorders of Epiphyses and Epiphyseal Growth*. Textbook of Disorders and Injuries of the Muskuloskeletal System. Third Edition. Lippincott Williams and Wilkins. p. 339-77. Philadelphia.
- Sylvia VL. 2001. Characterization of PGE(2) Receptors (EP) and Their Role as Mediators of 1 α ,25-(OH)(2)D(3) Effects on Growth Zone Chondrocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol*. Volume 78(3): 261-74.
- Wilmana PF. 2001. *Analgesik-antipiretik, Analgesik Anti-Inflamasi Non Steroid dan Obat Pirai*. Farmakologi dan Terapi, Bag. Farmakologi Universitas Indonesia ed Sulistia G. Ganiswara, edisi 4. Gaya Baru. Jakarta. p.207-22, 2001.