

# **ANALISIS PERBANDINGAN EFEKTIVITAS PROLOTERAPI DAN STEROID TERHADAP KEPADATAN FIBROBLAST PADA TERAPI RUPTUR PARSIAL TENDON ACHILLES TIKUS (*RATTUS NORVEGICUS*): STUDI HISTOPATOLOGI**

Yose Waluyo

Departemen Kedokteran Fisik dan Rehabilitasi Medik, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

## **Abstrak**

**Latar Belakang:** Peningkatan prevalensi ruptur tendon achilles terjadi tiap tahunnya. Hingga saat ini belum adanya metode penanganan yang diunggulkan dalam menangani ruptur tendon achilles, sehingga pengembangan terapi alternatif banyak dikembangkan, salah satunya adalah proloterapi.

**Tujuan:** Mengetahui adanya perbedaan efektivitas proloterapi dan steroid terhadap kepadatan fibroblast pada ruptur parsial tendon achilles tikus.

**Metodologi:** Penelitian ini menggunakan desain *randomized post test only control group design*, terdapat 20 tikus yang dilakukan tenotomi parsial kemudian dibagi menjadi 4 kelompok sesuai perlakuan yaitu kelompok kontrol: tidak diberikan intervensi, kelompok saline: diberi injeksi normal saline, kelompok steroid: diberi injeksi steroid, kelompok proloterapi: diberi injeksi dextrose. Intervensi ini dilakukan pada tikus dengan memberikan injeksi sebanyak lima kali dengan interval pemberian tiap lima hari. Pemeriksaan histopatologi dilakukan setelah intervensi selesai.

**Hasil penelitian:** Nilai rerata kepadatan fibroblast paling rendah didapatkan pada kelompok steroid dengan nilai 1.00, sedangkan nilai rerata paling tinggi didapatkan pada kelompok dextrose dengan nilai 2.00. Didapatkan adanya perbedaan yang bermakna antara injeksi proloterapi dibandingkan dengan steroid ( $p = 0.003$ ), namun tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok proloterapi dengan kontrol dan normal saline.

**Kesimpulan:** Injeksi dextrose intra-tendinous lebih efektif dalam meningkatkan kepadatan fibroblast dibandingkan dengan injeksi steroid pada model ruptur tendon Achilles. Meskipun belum dapat dibuktikan bahwa proloterapi lebih unggul dibandingkan kelompok kontrol dan injeksi normal saline.

*Kata kunci: proloterapi, ruptur tendon, dextrose, kortikosteroid, kepadatan fibroblast*

## **Pendahuluan**

Kerusakan tendon adalah kelainan muskuloskeletal yang sering terjadi dan menjadi salah satu penyebab kecacatan, nyeri, menghabiskan biaya yang banyak, serta menurunkan produktivitas secara signifikan. Salah satu kerusakan tendon yang sering terjadi, khususnya akibat olahraga, adalah ruptur tendon achilles [1]. Kejadian ruptur tendon achilles di Amerika Serikat dikabarkan meningkat tiap tahunnya. Tercatat dari 2012-2016, terjadi

peningkatan signifikan dari 1.8 per 100.000 orang menjadi 2.5 per 100.000 orang. Ruptur tendon achilles paling banyak terjadi pada laki-laki dengan rentang usia 20-39 tahun [2].

Berdasarkan suatu rangkuman panduan praktis klinis, belum ada penanganan utama dan yang direkomendasikan untuk terapi ruptur tendon achilles, baik non operatif maupun operatif [3]. Bahkan beberapa penelitian mengemukakan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara

penanganan operatif dan non operatif [4–6]. Oleh karena belum adanya metode penanganan yang diunggulkan dalam menangani ruptur tendon achilles, sehingga pengembangan terapi alternatif banyak dikembangkan, salah satunya adalah proloterapi.

Proloterapi merupakan suatu modalitas injeksi yang menggunakan substansi tertentu seperti dextrose, *phenol-glycerine-glucose* (P2G), atau *sodium morhhuate* pada struktur yang mengalami lesi atau inflamasi [7]. Modalitas ini diduga dapat menstimulasi penyembuhan dari kerusakan kronik pada ekstraartikular dan intraartikular. Proloterapi berpotensi untuk menstimulasi pengeluaran *growth factor* yang dapat membantu penyembuhan jaringan lunak [8]. Beberapa penelitian membuktikan bahwa proloterapi dinilai efektif dalam menangani kasus kerusakan tendon achilles untuk outcome fungsional dan pemeriksaan ultrasound [9–11].

Proloterapi telah terbukti memiliki efek yang baik terhadap rasa nyeri dan fungsional outcome pasien, namun studi mengenai efek proloterapi sebagai terapi regeneratif yang dinilai berdasarkan histopatologi dan morfologi sel masih jarang dilakukan. Oleh karena itu, peneliti tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui efek proloterapi terhadap regenerasi sel yang dievaluasi berdasarkan

studi histopatologis, sehingga perbaikan pada tingkat anatomi dan fungsional dapat dibuktikan.

## **Bahan dan Metode**

Penelitian ini merupakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) menggunakan rancangan *randomized post-test only controlled group design* dengan hewan coba sebagai subjek penelitian. Penelitian ini telah mendapatkan perizinan dan persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dengan nomor protokol UH18110927. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Klinik Hewan selama 1 bulan. Jumlah sampel pada penelitian ini sebanyak 20 sampel. Terdapat 4 kelompok yang terdiri dari 5 ekor tikus. Sebelum diberi perlakuan, dilakukan adaptasi selama 7 hari kemudian dilakukan tenotomi parsial. Tikus dibius dengan pemberian ketamin (150mg/kgBB) secara intramuskular lalu dilakukan tenotomi parsial dengan memotong 1 mm di sepertiga tengah tendon dari medial ke lateral. Setelah dilakukan tenotomi, tikus dibagi menjadi 4 kelompok dan diberi perlakuan berbeda seperti sebagai berikut: kelompok kontrol: kelompok tanpa intervensi; kelompok saline: kelompok yang diberi injeksi normal

saline sebanyak 0.15 mL; kelompok steroid: kelompok yang diberi injeksi dexamethasone sebanyak 0.75 mg (0.15 mL); kelompok dextrose: kelompok yang diberi injeksi dextrose 10% sebanyak 0.15 ml. Masing-masing perlakuan diulangi sebanyak 5 kali dengan interval 5 hari. Setelah rangkaian intervensi selesai dilakukan, selanjutnya jaringan tendon dievaluasi dan dilakukan pengamatan histopatologi dengan memberikan skoring pada masing-masing sampel. Kepadatan fibroblast akan diklasifikasikan berdasarkan skor dengan penjelasan sebagai berikut: kepadatan fibroblast 0-10% mendapatkan skor 1, 10-40% mendapatkan skor 2, dan >40% mendapatkan skor 3. Selanjutnya, data hasil penelitian dilakukan analisis statistik menggunakan software SPSS 20.

### Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kepadatan fibroblast pada ruptur parsial tendon achilles tikus dengan sampel tikus berdasarkan perbedaan pemberian pengobatan injeksi. Setelah intervensi, dilakukan pemeriksaan histopatologi untuk menilai kepadatan fibroblast. Hasil pemeriksaan histopatologi dapat dilihat pada gambar berikut:

Dari hasil pengamatan histopatologi kemudian dilakukan pengamatan terhadap

kepadatan fibroblast yang tertera pada tabel 1. Kepadatan fibroblast pada luka insisi tikus pada kelompok kontrol menunjukkan variasi antara derajat kepadatan fibroblast 10-40% (skor=2) dan derajat kepadatan fibroblast 0-10% (skor=1), kelompok saline menunjukkan variasi antara derajat kepadatan fibroblast 10-40% (skor=2) dan derajat kepadatan fibroblast 0-10% (skor=1), sedangkan kelompok steroid menunjukkan derajat kepadatan fibroblast 0-10% (skor=1) dan kelompok dextrose menunjukkan derajat kepadatan fibroblast 10-40% (skor=2).

Tabel 2 menampilkan nilai rata-rata dari kelompok perlakuan. Nilai rerata kepadatan fibroblast paling rendah didapatkan pada kelompok steroid dengan nilai 1.00, sedangkan nilai rerata paling tinggi didapatkan pada kelompok dextrose dengan nilai 2.00, rerata kepadatan fibroblast kelompok saline adalah 1.60, sedangkan kelompok kontrol rerata kepadatan fibroblast adalah 1.80.

Selanjutnya diilustrasikan dalam grafik dot plot. Berdasarkan grafik terlihat bahwa rerata kepadatan fibroblast yang paling tinggi didapatkan pada kelompok dextrose, sedangkan rerata kepadatan fibroblast yang paling rendah didapatkan pada kelompok steroid. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 2.

Sebelum dilakukan analisis statistik dilakukan eksplorasi data terlebih dahulu, kemudian dilakukan tes nonparametrik dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dengan hasil  $p=0,011$ .

Perbedaan antar kelompok perlakuan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U*. Didapatkan adanya perbedaan yang bermakna antara injeksi steroid dibandingkan kontrol dan dextrose (nilai  $p$  masing-masing 0.014; 0.003). Selain itu, tidak ada perbedaan bermakna antara injeksi dextrose dibandingkan dengan kontrol dan saline (nilai  $p$  masing-masing 0.317;0.134).

### **Pembahasan**

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa kelompok injeksi steroid memiliki nilai rerata kepadatan fibroblast yang paling rendah dibandingkan dengan kontrol, saline, dan proloterapi. Serta bermakna secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol dan normal saline. Hal ini menunjukkan bahwa injeksi steroid intra-tendinous tidak memiliki efek yang lebih terhadap aspek kepadatan fibroblast dibandingkan kelompok lainnya. Hasil ini sama dengan hasil penelitian Kennedy dkk, Tatari dkk, dan Kapetanios yang juga menemukan tidak adanya efek signifikan injeksi steroid pada ruptur tendon achilles [12–14]. Kennedy dkk bahkan

mendapatkan tikus yang dilakukan injeksi steroid berulang dapat melemahkan tendon [12]. Hasil ini diduga terjadi akibat efek kortikosteroid yang dapat menurunkan produksi kolagen dan protein matriks ekstrasel dengan fibroblast dan meningkatkan resorpsi tulang [15]. Selain itu, steroid juga menekan produksi enzim degradasi matriks ekstrasel seperti MMP-3 (stromelysin-1), MMP-13 (collagenase-3) dan MMP-1 (collagenase-1) pada beberapa jaringan, seperti ligamen [16]. Namun, pada penelitian lain yang dilakukan oleh Arslan dkk didapatkan adanya perbaikan yang signifikan secara biomekanis dan histopatologis pada tikus yang dibuat ruptur tendon Achilles setelah injeksi kortikosteroid intra-tendon [17]. Oleh karena itu, Shrier dkk menyimpulkan bahwa data-data yang telah dipublikasikan belum cukup untuk menentukan resiko dan manfaat injeksi kortikosteroid pada tendon [18]. Wang dkk juga mengatakan bahwa efek kortikosteroid pada tendon masih belum jelas sampai saat ini [19].

Pada penelitian ini juga didapatkan bahwa kelompok injeksi dextrose memiliki nilai rerata kepadatan fibroblast paling tinggi dibandingkan dengan kontrol, saline, dan kortikosteroid serta didapatkan hasil perbedaan yang bermakna secara signifikan pada kelompok dextrose dibandingkan dengan steroid ( $p=0.003$ ). Hasil ini serupa

dengan penelitian yang dilakukan Ahn, dkk yang menunjukkan jumlah fibroblast lebih banyak pada kelompok proloterapi dibandingkan dengan kontrol [20]. Martins, dkk menyatakan hal yang berbeda, hasil penelitiannya menyatakan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok yang diberi proloterapi dengan kortikosteroid [21]. Walaupun secara histopatologis belum banyak bukti yang didapatkan, namun penelitian yang menilai efektivitas proloterapi terhadap ruptur tendon achilles ditinjau dari klinis telah banyak dilakukan [9,10,22]. Hingga saat ini, mekanisme kerja dari senyawa proloterapi masih belum dapat diterangkan secara jelas. Namun, secara umum hipotesis yang berkembang dan diduga kuat terkait mekanisme tersebut adalah munculnya respon inflamasi. Ketika senyawa proloterapi (dextrose, *P2G*, *morrhuate sodium*) diinjeksikan ke ruang artikular, tendon, atau ligamen maka senyawa tersebut akan berperan sebagai benda asing dalam tubuh. Pemberian senyawa dextrose dengan konsentrasi melebihi 10% akan menginduksi respon inflamasi jaringan seketika [23]. Hal ini disebabkan pemberian dextrose dengan konsentrasi lebih dari 10% akan memicu terciptanya gradien osmotik (pekat) di luar sel pada titik penyuntikan. Fenomena ini akan menginduksi perpindahan cairan intrasel yang akan

menyebabkan sel kekurangan air (dehidrasi) dan akhirnya melisis sel tersebut. Hasil dari proses lisis inilah yang merangsang respon inflamasi dan pembentukan faktor-faktor pertumbuhan [24]. Larutan dextrose hipertonis akan merangsang pembentukan *growth factor* salah satunya adalah *basic fibroblast growth factor* yang nantinya akan meningkatkan kepadatan fibroblast tendon [23].

Perbedaan mekanisme kerja inilah yang diduga menjadi penyebab adanya perbedaan nilai rerata kepadatan fibroblast yang signifikan antara kelompok dextrose dan steroid pada penelitian ini. Dimana mekanisme kerja dari proloterapi adalah menginduksi *low-grade inflammation* sehingga terbentuk *growth factor*, sedangkan steroid mencegah proses inflamasi dan menurunkan produksi protein matriks ekstrasel [15,23].

### **Kesimpulan dan Saran**

Injeksi dextrose intratendon lebih efektif dalam meningkatkan kepadatan fibroblast dibandingkan dengan injeksi steroid pada model ruptur tendon Achilles, meskipun belum dapat dibuktikan bahwa proloterapi lebih unggul dibandingkan kelompok kontrol dan injeksi normal saline. Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk menilai efek proloterapi dan steroid ditinjau dari

keseluruhan aspek histopatologis dengan jumlah sampel yang lebih besar, serta lama pemberian dan dosis yang tepat.

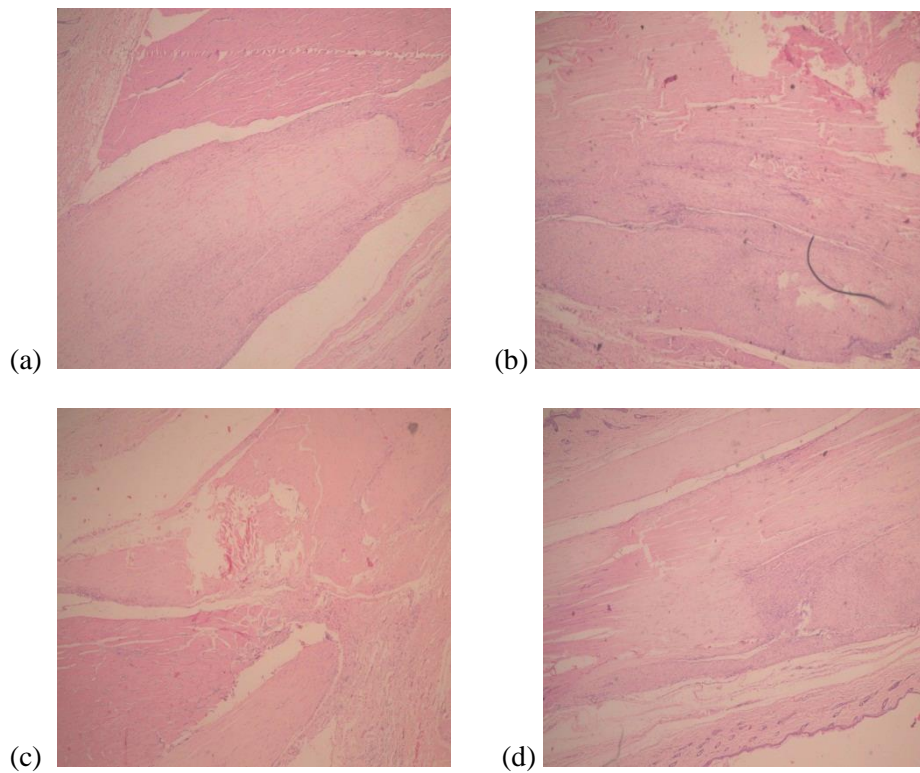
### Daftar Pustaka

1. Thomopoulos S, Parks WC, Rifkin DB, Derwin KA. Mechanisms of tendon injury and repair. *J Orthop Res.* Juni 2015;33(6):832–9.
2. Lemme NJ, Li NY, DeFroda SF, Kleiner J, Owens BD. Epidemiology of Achilles Tendon Ruptures in the United States: Athletic and Nonathletic Injuries From 2012 to 2016. *Orthop J Sport Med.* 26 November 2018;6(11):232596711880823.
3. Chiodo CP, Glazebrook M, Bluman EM, Cohen BE, Femino JE, Giza E, et al. Diagnosis and Treatment of Acute Achilles Tendon Rupture. *Am Acad Orthop Surg.* Agustus 2010;18(8):503–10.
4. Metz R, Verleisdonk E-JMM, van der Heijden GJ-M-G, Clevers G-J, Hammacher ER, Verhofstad MHJ, et al. Acute Achilles Tendon Rupture: Minimally Invasive Surgery versus Non-operative Treatment with Immediate Full Weightbearing-- A Randomized Controlled Trial. *Am J Sports Med.* September 2008;36(9):1688–94.
5. Möller M, Movin T, Granhed H, Lind K, Faxén E, Karlsson J. Acute Rupture of Tendon Achilles: A Prospective Randomised Study of Comparison Between Surgical and Non-Surgical Treatment. *J Bone Jt Surg.* Agustus 2001;83(6):843–8.
6. Cetti R, Christensen S-E, Ejsted R, Jensen NM, Jorgensen U. Operative versus nonoperative treatment of Achilles tendon rupture. A prospective randomized study and review of the literature. *Am J Sports Med.* 23 November 1993;21(6):791–9.
7. Rabago D, Slattengren A, Zgierska A. Prolotherapy in Primary Care Practice. *Prim Care - Clin Off Pract.* 2010;37(1):65–80.
8. Reeves KD, Sit RWS, Rabago DP. Dextrose Prolotherapy: A Narrative Review of Basic Science, Clinical Research, and Best Treatment Recommendations. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2016;27(4):783–823.
9. Lazzara MA. The Non-Surgical Repair of A Complete Achilles Tendon Rupture by Prolotherapy: Biological Reconstruction. A Case Report. *J Orthop Med.* 7 Januari 2005;27(3):128–32.
10. Chan O, Havard B, Morton S,

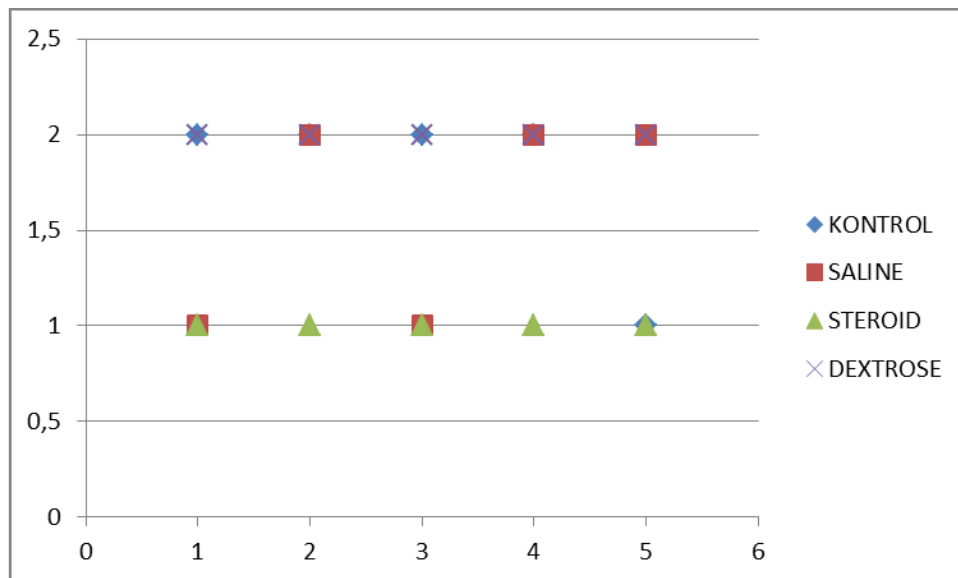
- Pritchard M, Maffulli N, Crisp T, et al. Outcomes of Prolotherapy for Intra-tendinous Achilles Tears: A Case Series. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2017;7(1):78–87.
11. Ryan M, Wong A, Taunton J. Favorable Outcomes After Sonographically Guided Intratendinous Injection of Hyperosmolar Dextrose for Chronic Insertional and Midportion Achilles Tendinosis. *Am J Roentgenol.* 2010;194(4):1047–53.
  12. Kennedy JC, Willis RB. The Effects of Local Steroid Injections on Tendons: A Biomechanical and Microscopic Correlative Study. *Am J Sports Med.* 1976;4(1):11–21.
  13. Tatari H, Koşay C, Baran O, Özcan O, Özer E. Deleterious Effects of Local Corticosteroid Injections on The Achilles Tendon of Rats. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2001;121(6):333–7.
  14. Kapetanos G. The Effect of The Local Corticosteroids on The Healing and Biomechanical Properties of The Partially Injured Tendon. *Clin Orthop Relat Res.* Maret 1982;(163):170–9.
  15. Karin M. New Twists in Gene Regulation by Glucocorticoid Receptor: Is DNA Binding Dispensable? *Cell.* Mei 1998;93(4):487–90.
  16. Kydd A, Hart D. Effect of Glucocorticoid Treatment on mRNA Levels in Normal Rabbit MCL, ACL, and Synovium. *Society.* 2001;31(3):6505–6505.
  17. Arslan İ, Yücel I, Öztürk TB, Karahan N, Orak MM, Midi A. The Effects of Corticosteroid Injection in The Healthy and Damaged Achilles Tendon Model: Histopathological and Biomechanical Experimental Study in Rats. *Turk Patoloji Derg.* 2020;36(1):39–47.
  18. Shrier I, Matheson GO, Kohl HWIII. Achilles Tendonitis: Are Corticosteroid Injections Useful or Harmful? *Clin J Sport Med.* 1996;6(4).
  19. Wang JH-C, Iosifidis MI, Fu FH. Biomechanical Basis for Tendinopathy. *Clin Orthop Relat Res.* Februari 2006;443(:):320–32.
  20. Ahn KH, Kim HS, Lee WK, Kim HW, Yun DH, Kim DH. The Effect of the Prolotherapy on the Injured Achilles Tendon in a Rat Model. 2002.
  21. Martins CAQ, Bertuzzi RT, Tisot RA, Michelin AF, do Prado JM, Stroher A, et al. Dextrose Prolotherapy and Corticosteroid

- Injection into Rat Achilles Tendon. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc.* 2012;20(10):1895–900.
22. Fullerton BD. High-Resolution Ultrasound and Magnetic Resonance Imaging to Document Tissue Repair After Prolotherapy: A Report of 3 Cases. *Arch Phys Med Rehabil.* 2008;89(2):377–85.
23. Yoshii Y, Zhao C, Schmelzer JD, Low PA, An K, Amadio PC. Effects of multiple injections of hypertonic dextrose in the rabbit carpal tunnel : a potential model of carpal tunnel syndrome development. 2014;52–7.
24. Jensen KT, Rabago DP, Best TM, Patterson JJ, Jr RV. Response of Knee Ligaments to Prolotherapy in a Rat Injury Model. :1347–57.





**Gambar 1.** Pengamatan histopatologi menggunakan perwarnaan hematoksilin dan eosin (HE) terhadap kepadatan fibroblast disekitar luka insisi tikus pada kelompok dextrose (a); kelompok steroid (b); kelompok kontrol (c); kelompok saline (d).



**Gambar 2.** Grafik Dot Plot kepadatan fibroblast

**Tabel 1. Hasil pemeriksaan histopatologi terhadap kepadatan fibroblast disekitar luka insisi pada tikus**

Kelompok	Kontrol	Saline	Steroid	Dextrose
Subyek				
N1	2	1	1	2
N2	2	2	1	2
N3	2	1	1	2
N4	2	2	1	2
N5	1	2	1	2

Keterangan: skor 1 = kepadatan fibroblast 0-10%; skor 2 = kepadatan fibroblast 10-40%.

**Tabel 2. Hasil analisis deskriptif**

Kelompok Perlakuan	N	Rerata	Median	Standar Deviasi	Standar Error	Interval Kepercayaan 95%	
						Batas Bawah	Batas Atas
Kontrol	5	1,80	2,00	0,447	0,200	1,24	2,36
Saline	5	1,60	2,00	0,548	0,245	0,92	2,28
Steroid	5	1,00	1,00	0,000	0,000	1,00	1,00
Dextrose	5	2,00	2,00	0,000	0,000	2,00	2,00

**Tabel 3. Hasil uji statistik *Mann Whitney-U* terhadap kepadatan fibroblast**

Kelompok	Kontrol	Saline	Steroid	Dextrose
Kontrol		0,513	0,014 *	0,317
Saline	0,513		0,050 *	0,134
Steroid	0,014 *	0,050		0,003 *
Dextrose	0,317	0,134	0,003 *	

\*: Beda signifikan