

TESIS

**PENGARUH STERILISASI PADA TIKUS JANTAN DAN TIKUS BETINA
TERHADAP KADAR CALCIUM DARAH DAN SEL TULANG**

**THE EFFECT OF STERILIZATION IN MALE RATS AND FEMALE RATS
ON CALCIUM CONTENT AND BONE CELL**

DIAN FATMAWATI

P062191009



**SEKOLAH PASCA SARJANA
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK,
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2021

Pengaruh Sterilisasi Pada Tikus Jantan dan Tikus Betina Terhadap

Kadar Calcium Darah dan Sel Tulang

TESIS

SEBAGAI SALAH SATU SYARAT UNTUK MENCAPAI GELAR MAGISTER

PROGRAM STUDI

BIOMEDIK

DISUSUN DAN DIAJUKAN OLEH

DIAN FATMAWATI

KEPADA

SEKOLAH PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH STERILISASI PADA TIKUS JANTAN DAN BETINA
TERHADAP KADAR CALCIUM DAN SEL TULANG


DIAN FATMAWATI
P062191009


Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Fakultas
Pascasarjana Universitas Hasanuddin pada tanggal 16 Juli 2021 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama,


Pembimbing Pendamping,



Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
NIP. 19671103199802 1 001


Dr. drh. Dwi Kesuma Sari
NIP. 19730216199903 2 001

Ketua Program Studi,

Dekan Fakultas/Sekolah Pascasarjana,


Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc
NIP. 19770121200312 2 003


Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc
NIP. 19670308199003 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Dian Fatmawati

NIM : P062191009

Program Studi : Biomedik

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 16 Juli 2021



Dian Fatmawati

PRAKATA

Assalamu'laikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan hasil penelitian ini. Penulisan ini merupakan salah satu persyaratan dalam rangka penyelesaian Program Magister S2 pada Pascasarjana Ilmu Biomedik Konsentrasi Fisiologi Universitas Hasanuddin Makassar. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada berbagai pihak yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil langsung atau tidak langsung. Oleh karena itu dengan rasa hormat penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor dan Direktur Pascasarjana Universitas Hasanuddin atas kesediannya menerima penulis sebagai peserta pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
2. Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc selaku ketua program studi Ilmu Biomedik Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau kelancaran pendidikan penulis.
3. Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes selaku ketua Komisi Penasehat dan Dr. Drh. Dwi Kesuma Sari, APVET selaku Sekretaris Komisi Penasehat yang telah

meluangkan waktu untuk memberi bimbingan, arahan dan nasehat kepada penulis

4. Prof. Dr. dr. Andi Wardihan Sinrang, MS., dr. M. Aryadi Arsyad, M.Biomed., Ph.D., dan dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D., Sp.PA.,DFM sebagai penguji yang selalu meluangkan waktu dan pikiran beliau untuk membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan hasil penelitian ini.
5. Guru-guru kami selama membina ilmu di program studi Ilmu Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah berupaya memberikan bimbingan dan ilmu pengetahuan yang lebih terarah dan berkualitas mengenai ilmu biomedik khususnya bidang biokimia dan biologi molekuler.
6. Semua teman sejawat Magister S2 pada Pascasarjana Ilmu Biomedik Kosentrasi Fisiologi atas bantuan, kebersamaan, dan kerjasama yang baik selama penulis menjalani pendidikan.

Tak lupa ucapan terima kasih yang tulus juga penulis sampaikan kepada kedua orang tua Ayahanda Purn. Serma Andi Muslim dan Ibunda Sukaria, kedua mertua Ayahanda H. Bakri dan Ibunda Hj. Hasnah, Suami tercinta Heryanto Bakri, ST.MT, Anak tersayang Hana Askanah dan Hana Ayesha, serta saudari saya Sri Yanti yang senantiasa mendukung dalam doa, memberikan dorongan dan semangat yang sangat berarti bagi penulis selama mengikuti pendidikan. Serta semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu.

Dan akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Magister S2 pada Pascasarjana Ilmu Biomedik Kosentrasi Fisiologi di masa mendatang. Tak lupa penulis mohon maaf untuk hal-hal yang tidak berkenan dalam penulisan ini karena penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan ini masih jauh dari kesempurnaan.

Makassar, 16 Juli 2020

Dian Fatmawati

ABSTRAK

DIAN FATMAWATI. Pengaruh Sterilisasi pada Tikus Jantan dan Betina terhadap Kadar Calcium dan Sel Tulang (dibimbing oleh Irfan Idris dan Dwi Kesuma Sari).

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh tindakan sterilisasi terhadap kadar calcium darah dan jumlah sel tulang.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain posstest only kontrol design, dengan mengamati tikus yang diberi makan pakan standar hingga usia 16 minggu. Kemudian, diterminasi dan diukur variabel-variabel yang direncanakan. Sebanyak 24 ekor tikus berumur 10 minggu yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu: 6 ekor kelompok betina kontrol, 6 ekor kelompok betina ovariohysterectomy, 6 ekor kelompok jantan kontrol, dan 6 ekor kelompok jantan orchiectomy. Selama enam minggu pascasterilisasi, semua tikus dieuthanasia dan dilakukan pengukuran kadar calcium dan pengambilan tulang untuk pemeriksaan histologi sel tulang.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa berdasarkan hasil analisis menggunakan uji independent t test, hasil uji kadar calcium pada betina $p > 0,05$ dan jantan $p > 0,05$ yang menunjukkan secara statistik tidak berpengaruh signifikan. Hasil histologi sel tulang menunjukkan sel osteosit pada tikus betina $p < 0,05$ yang secara signifikan berpengaruh dan tikus jantan nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan secara statistik tidak berpengaruh. Sel osteoblast pada tikus jantan menunjukkan nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan secara statistik tidak berpengaruh. Adapun, sel osteoklast nilai $p < 0,05$ yang menunjukkan secara signifikan berpengaruh. Pada tikus betina sel osteoklast dan sel osteoblast menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang menunjukkan secara signifikan berpengaruh.

Kata kunci: ovariohisterectomy, orchiectomy, sterilisasi, calcium, sel tulang

ABSTRACT

DIAN FATMAWATI. The Effect of Sterilization in Male Rats and Female Rats on Calcium Content and Bone Cell (supervised by Irfan Idris and Dwi Kesuma Sari).

The research aims to investigate the effect of the sterilization on the blood calcium content and amount of bone cells.

This was an experimental research with the posttest only control design, by observing the rats which were fed with the standard feed until the age of 16 weeks. The planned variables were then terminated and measured. As many as 24 rats of the age of 10 weeks were divided into four groups namely: six female rats as the control group, six female rats as the ovariectomy group, six male rats as the control group, and six male rats as the orchidectomy group. Six weeks after the sterilization, all the rats were euthanized the calcium contents were measured, and the bone collection for the histological examination of the bone cells.

The analysis result using the independent t test, the calcium content test in the female rats is $p > 0.05$, and in the male rats is $p > 0.05$ which statistically indicate that there is no significant effect. The histological result of the bone cells indicates that the osteocyte cells in the female rats is $p < 0.05$ which statistically has no effect, and in the male rats is $p > 0.05$ which statistically has no effect. The osteoblast cell in the male rats is in the value of $p > 0.05$ which statistically indicates that there is no effect, while the value of the osteoclast cell is $p < 0.05$ which significantly indicates that there is the effect. In the female rats, the osteoclast cell and osteoblast cell are in the value of $p < 0.05$ which significantly indicates that there is the effect.

Key words: Ovariectomy, orchidectomy, sterilization, calcium, bone cell

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KEASLIAN SKRIPSI	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	7
D. Manfaat Penelitian	7
E. Ruang Lingkup Penelitian	8
F. Sistematika Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Umum Tentang Tulang	10
B. Tinjauan Umum Tentang Kalsium	24
C. Tinjauan Tentang Ovariohisterectomy dan Orchidectomy	31

D. Tinjauan Umum Hubungan Ovariohisterectomy dan Orchidectomy terhadap Sel tulang	34
E. Tinjauan Umum Hubungan Ovariohisterectomy dan Orchidectomy terhadap Kalsium	46
F. Kerangka Teori	51
G. Kerangka Konsep	52
H. Hipotesis	52

BAB III METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian	53
B. Waktu dan Tempat Penelitian	53
C. Populasi	53
D. Sampel dan Besaran Sampel	54
E. Izin Penelitian dan Kelaikan Etik	55
F. Prosedur Kerja	55
G. Alur Penelitian	62
H. Rencana Pengolahan dan Analisis Data	63

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian	64
1. Hasil Calcium Darah	66
2. Hasil Sel Osteosit	67
3. Hasil Sel Osteoblast dan Sel Osteoklast.....	70
B. Pembahasan	74

1. Kadar Calcium	75
2. Sel Tulang.....	79

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan	92
B. Saran	93

DAFTAR PUSTAKA.....	94
----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	111
----------------------	------------

DAFTAR TABEL

1. Tabel 4.1 Karakteristik Sampel	69
2. Tabel 4.2 Analisis Kadar Calcium Darah Betina	70
3. Tabel 4.3 Analisis Kadar Calcium Darah Jantan	70
4. Tabel 4.4 Analisis Data Sel Osteosit Betina	71
5. Tabel 4.5 Analisis Data Sel Osteosit Jantan	72
6. Tabel 4.6 Analisis Data Sel Osteoblast Betina	74
7. Tabel 4.7 Analisis Data Sel Osteoblast Jantan	75
8. Tabel 4.8 Analisis Data Sel Osteoklast Betina	77
9. Tabel 4.9 Analisis Data Sel Osteoklast Jantan	77

DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 2.1 Penampang Longitudinal Tulang	16
2. Gambar 2.2 Sel Osteoblast	17
3. Gambar 2.3 Sel Osteoklast	18
4. Gambar 2.4 Diferensiasi Osteoklast dan Osteoblast	19
5. Gambar 2.5 Skema Remodelling Tulang	21
6. Gambar 2.6 Distribusi Kalsium	30
7. Gambar 2.7 Hubungan Kalsium, Fosfat, PTH dan Vit D...	33
8. Gambar 2.8 Homeostasis Kalsium	35
9. Gambar 2.9 Kerangka Teori.....	55
10. Gambar 2.10 Kerangka Konsep.....	56
11. Gambar 3.1 Metode Orchiectomy	61
12. Gambar 3.2 Metode Ovariohisterectomy.....	62
13. Gambar 3.3 Alur Penelitian	66
14. Gambar 4.1 Histologi Sel Osteosit	73
15. Gambar 4.2 Histologi Sel Osteoblast dan Sel Osteoklast..	76

DAFTAR LAMPIRAN

1. Lampiran 1 Data Variabel Penelitian	111
2. Lampiran 2 Hasil Kadar Calcium Darah	112
3. Lampiran 3 Analisis Data Kadar Calcium Betina	113
4. Lampiran 4 Analisis Data Kadar Calcium Jantan	114
5. Lampiran 5 Hasil Pemeriksaan Jumlah Sel Osteosit	115
6. Lampiran 6 Analisis Data Sel Osteosit Betina	116
7. Lampiran 7 Analisis Data Sel Osteosit Jantan.....	117
8. Lampiran 8 Hasil Sel Osteoblast dan Sel Osteoklast	118
9. Lampiran 9 Analisis Data Sel Osteoklast Betina.....	119
10. Lampiran 10 Analisis Data Sel Osteoklast Jantan	120
11. Lampiran 11 Analisis Data Sel Osteoblast Betina	121
12. Lampiran 12 Analisis Data Sel Osteoblast Jantan.....	122
13. Lampiran 13 Persetujuan Etik	123
14. Lampiran 14 Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	124
15. Lampiran 15 Pemeriksaan Calcium Darah	125
16. Lampiran 16 Pembuatan Prepasat Histologi	126
17. Lampiran 17 Pakan Standar AD II.....	128

BAB I

Pendahuluan

A. Latar Belakang

Sterilisasi merupakan metode konsepsi yang disarankan dilakukan pada hewan. Terdapat beberapa metode sterilisasi yang dapat dilakukan antara lain melalui prosedur bedah dan secara hormonal, namun program pengontrolan populasi yang disarankan yaitu dengan melalui prosedur bedah (OIE, 2019). Sterilisasi dengan menghambat hormon hanya berlaku sementara dan tidak hanya berefek pada organ target melainkan dapat merusak organ lainnya juga (Basa dan Ibrahim, 2019). Penggunaan metode kontrasepsi hormonal dalam jangka panjang telah dikatakan dalam beberapa penelitian bahwa dapat menimbulkan efek samping yang parah seperti *endometriosis*, *pyometra*, *fibrinous-cystic hyperplasia*, tumor *mammary*, dan *ovarian cysts* (Vasetska dan Mass, 2017). Selain itu, berdasarkan penelitian terakhir, 60.6% responden berpendapat bahwa sterilisasi dengan prosedur bedah merupakan tindakan yang paling tepat dilakukan dalam pengendalian populasi (Hanif *et al.* 2017). Metode ini juga telah digunakan pada banyak negara untuk mengontrol populasi pada anjing dan kucing. Keuntungan lainnya yang dapat diperoleh melalui metode ini dibandingkan dengan kontrasepsi hormonal yaitu dapat mengurangi tingkat kejadian penyakit pada hewan seperti *metritis*, *mastitis*, distokia, prolapsus vagina, hingga hipertrofi *mammary* (Kustritz, 2012).

Namun, efek jangka panjang dari sterilisasi masih belum diketahui dengan jelas (White, 2020).

Saat ini minat masyarakat Indonesia untuk memelihara hewan kesayangan sudah sangat tinggi. Jenis kucing dan anjing yang paling banyak diminati oleh masyarakat Indonesia rata-rata berjenis lokal dan ras. Kucing dan anjing merupakan salah satu dari sekian banyak hewan kesayangan untuk pemenuhan kesenangan atau hobi (Noviana et al. 2009; Yusuf et al. 2018). Memiliki satu atau dua ekor anjing atau kucing tentu sangat menyenangkan, tapi yang terjadi apabila populasi mereka meningkat secara tidak terkontrol akibat perkawinan yang tidak diinginkan tentu akan sangat merepotkan (Hassan & Abebe 2017).

Selain itu peningkatan populasi hewan dalam jumlah besar menjadi masalah tersendiri bagi kesehatan manusia, terutama hewan kecil seperti anjing dan kucing karena hewan-hewan tersebut dapat menularkan dan membawa berbagai agen penyakit. Salah satu solusi untuk memecahkan permasalahan di atas adalah melakukan tindakan sterilisasi pada anjing maupun kucing baik pada jantan maupun betina. Peningkatan populasi juga menjadi salah satu alasan pemilik hewan kesayangan untuk mensterilkan hewannya. Sterilisasi pada hewan yang dilakukan saat ini dapat dibedakan secara medis, dengan tindakan operasi pengambilan organ reproduksi hewan

jantan (*orchietomy*) atau hewan betina (*ovariohisterektomi*) (Katherine & Linda, 2013; Yusuf et al. 2018).

Sterilisasi merupakan tindakan pembedahan untuk mengangkat atau menghilangkan testis (jantan) atau ovarium (betina). Pada hewan jantan dinamakan kastrasi/*orchietomy*, sedangkan pada hewan betina dinamakan *ovariohysterectomy* (OH). Sterilisasi pada hewan betina dapat dilakukan dengan hanya mengangkat ovariumnya saja (*ovariectomy*) atau mengangkat ovarium beserta dengan uterusnya (*ovariohysterectomy*) (Yuniarti, 2008).

Ovariohistertkomi adalah prosedur operasi yang digunakan secara luas oleh dokter hewan. Hal ini ditunjukkan pada kasus pyometra, tumor uterus, atau patalogi lainnya (Djemil et al. 2010; Yusuf et al. 2018). Tindakan bedah ini akan memberikan efek pada hewan seperti perubahan tingkah laku, tidak bunting dan tidak dapat menyusui. Untuk melakukan tindakan ovariohisterektomi dibutuhkan anastesi.

Sterilisasi pada hewan jantan atau biasa disebut dengan kastrasi (*Orchietomy/Orchidectomy*) adalah prosedur pembedahan untuk membuang testis dan *spermatic cord* (*cordaspermatica*). Tujuan dilakukan pembedahan ini diantaranya untuk sterilisasi seksual, adanya neoplasma, dan kerusakan akibat traumatic. Prosedur ini yang paling umum dilakukan di praktek kedokteran hewan Indonesia, dan dilakukan sebagai metode kontrasepsi untuk membantu masalah kelebihan populasi hewan peliharaan, serta untuk mencegah penyakit sistem reproduksi, seperti tumor dll dan untuk mengubah

perilaku yang tidak diinginkan, seperti spaying dan agresif. Meskipun demikian pengebirian hampir merupakan satu-satunya metode untuk kontrol overpopulasi hewan peliharaan secara global (Sardjana & Diah, 2011)

Saat ini kesadaran pemilik hewan kesayangan seputar pentingnya manfaat melakukan sterilisasi sudah sangat baik, sehingga sudah banyak pemilik yang melakukan sterilisasi pada hewan kesayangannya. Tapi perlu diperhatikan bahwa penelitian menyatakan tindakan ovariohisterektomi menyebabkan menurunnya produksi hormon estrogen. Estrogen berperan amat penting dalam proses homeostasis, yaitu sebagai menunjang sekresi kalsitonin, sebagai inhibitor resorpsi tulang, dan dapat meningkatkan kadar 1,25 dihidrosikolekalsiferol (1,25 DHCC) yang berfungsi untuk meningkatkan derajat absorpsi kalsium di usus, serta mempunyai pengaruh anabolik terhadap tulang. Pada tikus yang mengalami ovariohisterektomi dan memungkinkan hewan untuk menderita hipokalsemia karena fungsi estrogennya mulai menurun sehingga proses penyerapan kalsium di usus juga menurun (Yuniarti et al.2008). Akibatnya jika berlangsung secara terus menerus, kadar calcium dalam darah juga akan menurun. Sekitar 99% kalsium di dalam tubuh tersimpan di tulang, tulang berperan dalam menjaga homeostasis kalsium di dalam tubuh melalui dua proses, yaitu deposisi dan resorpsi tulang. Resorpsi tulang merupakan proses pelepasan kalsium serta komponen organik lain dari tulang ke sirkulasi yang melibatkan sel osteoklas,

proses tersebut dibutuhkan pada saat kadar kalsium dalam sirkulasi rendah (Tortora, 2009).

Selain itu, dampak akibat penurunan hormon estrogen berupa peningkatan resiko terjadinya kekeroposan tulang atau osteoporosis (Gumelar, 2011). Osteoporosis yakni pengeroposan tulang, yaitu tulang menjadi tipis, rapuh dan keropos, serta mudah patah. Kebanyakan kasus-kasus osteoporosis dapat dikategorikan sebagai tipe I dan tipe II. Osteoporosis tipe I disebabkan oleh menopause (osteoporosis pascamenopause) yaitu akibat dari proses resorpsi tulang yang dilakukan oleh sel osteoklas melebihi aktivitas dari sel osteoblas yang merupakan sel yang bertugas membangun kembali struktur tulang, hal ini disebabkan produksi estrogen menurun. Sebaliknya, osteoporosis tipe II berhubungan dengan umur dan disebabkan oleh kekurangan vitamin D dan absorpsi kalsium yang berlebihan di dalam tubuh (Amran, 2011).

Dalam kedokteran hewan khususnya di wilayah Indonesia, penelitian terkait efek ovariohysterectomy dan orchietomy pada hewan masih jarang dilakukan. Penelitian terkait dengan hubungan ovarietomy terhadap histologi tulang ekor sudah pernah dilakukan oleh Dahniar, 2009. Empat belas ekor tikus putih betina umur 7 minggu dibagi rata secara acak dalam 2 kelompok, masing-masing 7 ekor. Tikus non-ovarietomi (K1) dan ovarietomi (K2) diberi pakan standar. Setelah perlakuan berlangsung 12 minggu, dilakukan

pembedahan. Tulang ekor diambil dan dilakukan pemeriksaan mikroskopis. Hasil menunjukkan osteoporosis terjadi pada tulang ekor ovariektomi. Tapi perlu diketahui penelitian terkait pengaruh sterilisasi terhadap remodeling tulang dan kadar calcium darah belum pernah dilakukan. Hampir semua penelitian dilakukan hanya pada hewan betina dengan melakukan tindakan ovariectomy dan bukan tindakan ovariohysterectomy. Selain itu penelitian pada hewan jantan juga tidak pernah dilakukan. Atas dasar inilah dengan melihat urgensi dari dilakukannya penelitian ini, dengan melihat tingginya kesadaran pemilik hewan untuk melakukan sterilisasi pada jantan maupun betina maka peneliti bertujuan untuk melakukan penelitian terkait dengan “ pengaruh sterilisasi terhadap kadar calcium darah dan Sel Tulang “.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, diajukan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Masalah Utama

Apakah ada pengaruh sterilisasi terhadap kadar calcium darah dan sel tulang?

2. Sub Masalah Penelitian

- a. Apakah ada perbedaan kadar calcium dalam darah pada tikus yang telah disterilisasi dibandingkan tikus normal?

- b. Apakah ada perbedaan jumlah sel osteosit, sel osteoblast dan sel osteoklast pada tikus yang telah disterilisasi dibandingkan tikus normal?
- c. Apakah terdapat perbandingan dengan membandingkan kadar calcium dalam darah, jumlah sel osteosit, jumlah sel osteoblast dan jumlah sel osteoklast pada tikus yang telah disterilisasi dibandingkan tikus normal?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk melihat adanya perbedaan pada kadar calcium darah, jumlah sel osteosit, jumlah sel osteoblast dan jumlah sel osteoklast yang terjadi pada tikus yang telah disterilisasi dibandingkan dengan tikus normal.

2. Tujuan Khusus

- a. Menentukan kadar calcium darah pada tikus yang telah disterilisasi dan kadar calcium darah pada tikus normal.
- b. Melihat jumlah sel osteosit, sel osteoblast dan sel osteoklast pada tikus yang telah disterilisasi dan pada tikus normal.
- c. Membandingkan kadar calcium darah, jumlah sel osteosit, jumlah sel osteoblast dan jumlah sel osteoklast pada pada tikus yang telah disterilisasi dibandingkan dengan tikus normal.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Akademis

Jika pada penelitian ini terbukti bahwa tindakan sterilisasi berpengaruh terhadap sel tulang dan kadar calcium maka dapat memberikan kontribusi ilmiah berkaitan dengan sterilisasi sebagai pemicu gangguan remodelling tulang.

2. Manfaat praktis

Jika terbukti bahwa tindakan sterilisasi berpengaruh terhadap kadar calcium dan sel tulang, maka dapat dilakukan usaha-usaha untuk menekan gangguan remodelling tulang yang disebabkan oleh tindakan sterilisasi.

E. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental upaya untuk melihat adanya pengaruh sterilisasi terhadap kadar calcium dalam darah dan histopatologi sel tulang pada tikus jantan dan betina oleh karena hal tersebut perlu adanya batasan batasan penelitian sebagai berikut :

1. Dengan melakukan pemeriksaan histopatologi tulang pada pada tikus yang telah disterilisasi begitupun tikus jantan dan betina normal.
2. Dengan melakukan pengukuran kadar calcium darah pada tikus yang telah disterilisasi begitupun tikus jantan dan betina normal.

F. Organisasi / Sistematika Penelitian

Penelitian ini di susun berdasarkan Pedoman Penulisan Tesis dan Disertasi Edisi 5 Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin 2019. Dengan uraian sebagai berikut :

1. Diurutkan mulai Bab Pendahuluan, yang terdiri atas beberapa subbab yaitu Sub bab Latar Belakang Masalah, Sub bab Rumusan Masalah, Sub bab Tujuan Penelitian, Sub bab Manfaat Penelitian, Sub bab Ruang Lingkup Penelitian, dan Sub bab Organisasi / Sistematika Penelitian.
2. Dan selanjutnya Bab Tinjauan Pustaka yang mencakup uraian tentang Landasan Teori, Kerangka Pikir, serta penjelasan yang tentang penelitian penelitian terdahulu terkait dengan penelitian yang akan dilaksanakan ini. Kemudian akan di tuangkan dalam Sub bab Kerangka Teori, Sub bab Kerangka Konsep, serta Sub bab Hipotesis atau dugaan sementara.
3. Dibagian bab terakhir yakni Bab Metode Penelitian yang memuat tentang Sub bab Rancangan Penelitian, Sub bab Waktu dan Lokasi Penelitian, Sub bab Bahan dan Alat, Sub bab Populasi dan Sampel, Sub bab Teknik Pengumpulan data, Sub bab Definisi Operasional serta Sub bab Analisa data.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan umum tentang tulang

1. Definisi tulang

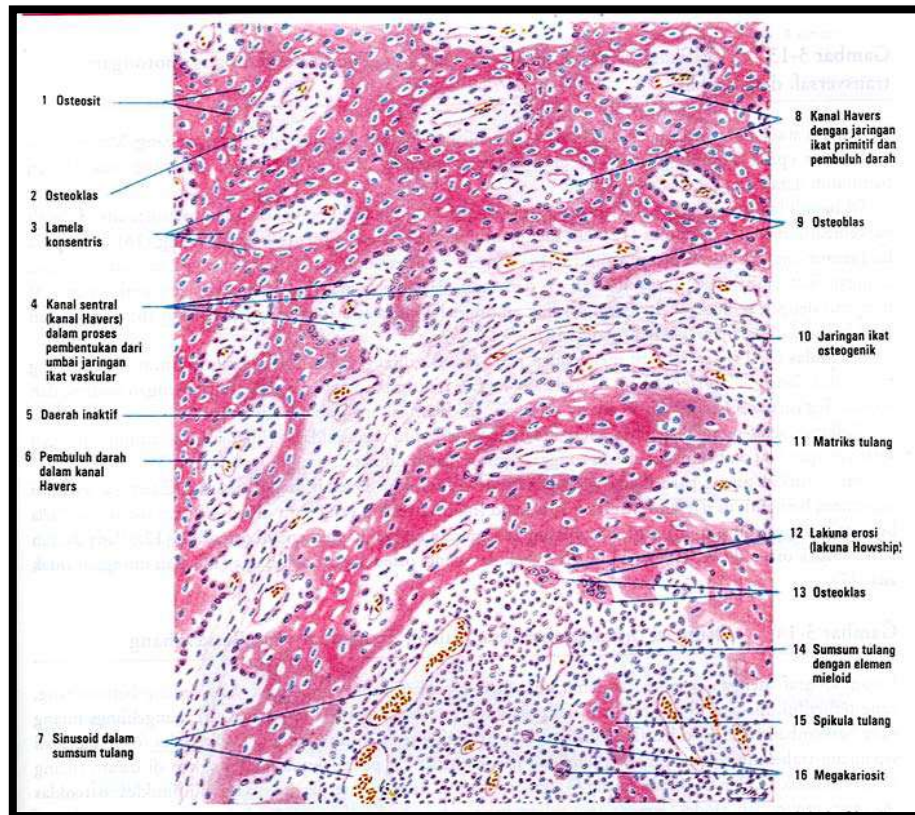
Tulang adalah jaringan ikat yang senantiasa mengalami proses pertumbuhan, regenerasi, serta perbaikan. Tulang tersusun oleh beberapa jaringan yang saling bekerja sama, di antaranya jaringan tulang keras, kartilago, jaringan ikat padat, sel epitel, pembuluh darah, pembuluh saraf, serta jaringan lemak (Tortora, 2009).

Tulang merupakan jaringan ikat khusus yang berfungsi menunjang struktur berdaging, melindungi organ-organ vital yang terdapat dalam cranium dan rongga dada, dan mengandung sumsum tulang, tempat sel-sel darah dibentuk (Yudaniayanti, 2005). Tulang juga berfungsi sebagai penopang tubuh, memberi bentuk tubuh, dan melindungi organ tubuh yang lunak dan mudah rusak, serta menjadi tempat terjadinya proses hemopoiesis darah (Favus, 1993; Leeson et al., 1996). Fungsi tulang juga sebagai cadangan kalsium, fosfat dan ion lain yang dapat dibebaskan atau di timbun secara terkendali untuk mempertahankan konsentrasi ion-ion tersebut tetap dalam cairan tubuh (Iman, 2015).

Dua pertiga dari jaringan tulang terdiri dari komponen anorganik (mineral) yang terutama terdiri dari kalsium, fosfat, dalam bentuk Kristal hidroksiapatit. Sepertiga sisanya terdiri dari komponen organik (matrik organik/osteoid), yang sebagian besar berupa kolagen tipe I (90% - 95%), sisanya merupakan protein non kolagen (proteoglikan, glikoprotein). Serat serat kolagen ini bergabung dengan hidroksiapatit dan bertanggungjawab untuk memudahkan perkapuran matriks tulang, yang membentuk kekerasan dan kekuatan yang khas tulang (Iman, 2015).

2. sel-sel tulang

Tulang dewasa dan yang sedang berkembang mengandung empat jenis sel berbeda: sel osteogenik (osteoprogenitor), osteoblas, osteosit, dan osteoklas.



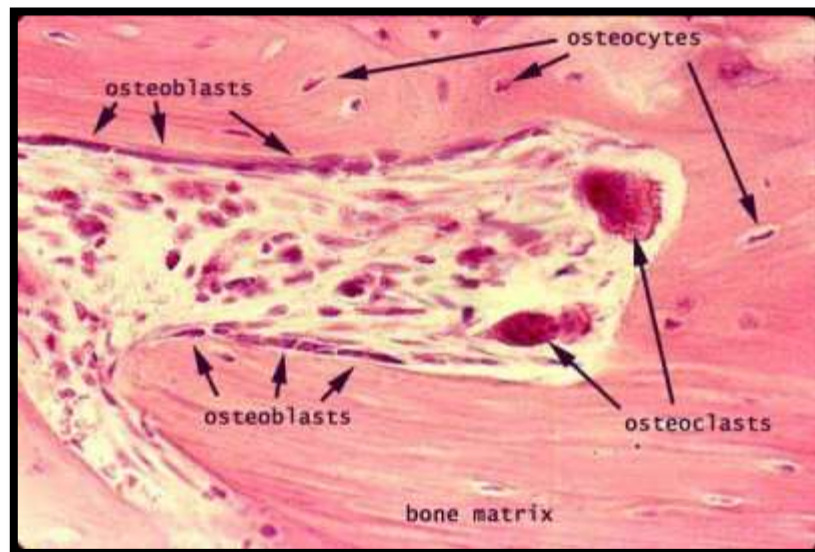
Gambar 2.1: Penampang longitudinal unit pertumbuhan tulang yang memperlihatkan distribusi osteosit, osteoblas, dan osteoklas. Sumber: Eroscenko, 2003.

a. Sel-sel osteogenik

Sel osteogenik merupakan sel punca (*stem cell*) yang berasal dari sel mesenkim. Sel ini mengalami pembelahan dan berkembang menjadi sel osteoblas. Sel tersebut dapat ditemukan di bagian dalam periosteum, endosteum, dan di bagian tulang yang mengandung pembuluh darah (Tortora, 2009).

b. Osteoblas

Sel osteoblas berfungsi untuk mensintesis dan mensekresikan serat kolagen dan komponen organik lainnya yang berfungsi untuk membentuk matriks ekstraseluler tulang. Pada proses *remodelling* tulang, osteoblas akan mengalami kalsifikasi (Sherwood, 2012).



Gambar 2.2 : Sel Osteoblast. Sumber: Eroscenko, 2003.

c. Osteosit

Osteosit merupakan sel utama pada tulang dewasa dan menempati lacuna yang berada diantara lamela-lamela, berfungsi untuk mengontrol mineralisasi local dan pertukaran mineral antara tulang dan plasma. Osteosit memiliki lisosoma untuk memproduksi

enzim lisosom. Enzim lisosom ini berperan penting membantu mempertahankan kandungan mineral dalam matrik (Junqueira, 1997).

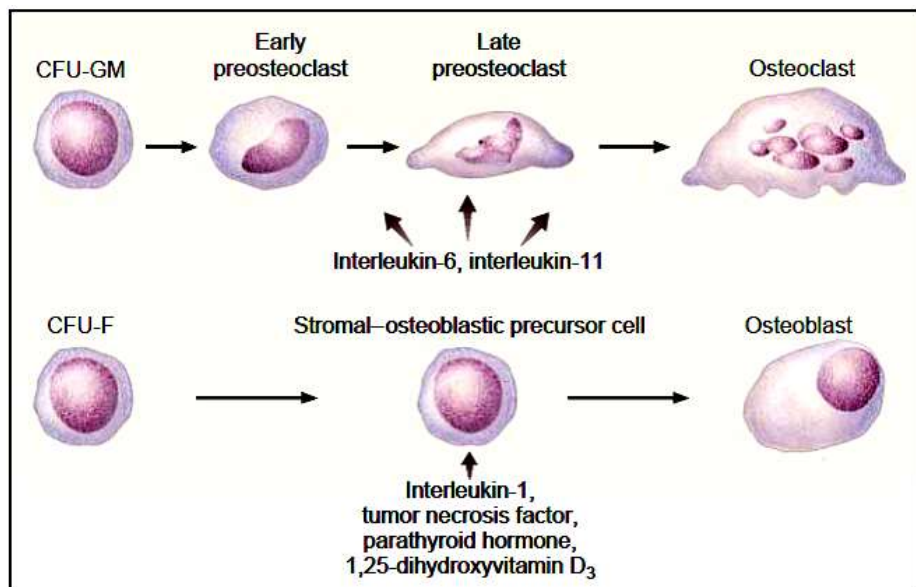
d. Osteoklas

Osteoklas adalah sel-sel besar berinti banyak yang memungkinkan mineral dan matriks tulang dapat diabsorpsi. Tidak seperti osteoblas dan osteosit, osteoklas mengikis tulang. Sel-sel ini menghasilkan enzim-enzim proteolitik yang memecahkan matriks dan beberapa asam yang melarutkan mineral tulang, sehingga kalsium dan fosfat terlepas dalam aliran darah (Lesson *et al.*, 1996). Sel osteoklas berfungsi untuk melepaskan enzim lisosomal dan asam yang digunakan untuk mencerna protein dan komponen organik lain dalam proses resorpsi tulang (Tortora, 2009).



Gambar 2.3 : Sel osteoklas. Sumber: Eroscenko, 2003.

Osteoblas dan osteoklas diproduksi pada sumsum tulang dan terbentuk melalui dua garis diferensiasi CFU (*colony formation unit*) yang berbeda. Pembentukan osteoklas dari CFU-GM (granulosit makrofag) mengikuti garis diferensiasi hematopoietik, sedangkan pembentukan osteoblas dari CFU-F (fibrosit) mengikuti garis diferensiasi mesensimal pada stroma sumsum tulang (Gambar 4).



Gambar 2.4: Perbedaan antara garis diferensiasi osteoklas dan osteoblas. Sumber: Epstein, 1995.

Pembentukan osteoblas dapat berlangsung secara independen tanpa memerlukan interaksi dengan progenitor osteoklas. Sebaliknya, pembentukan osteoklas membutuhkan interaksi yang kompleks dengan progenitor osteoblas, dimana diferensiasi CFU-GM menjadi osteoklas

tidak dapat berlangsung tanpa adanya interaksi seluler komponen sel-sel stroma yang memproduksi osteoblas (Gambar) (Teitelbaum et al, 2003).

e. Matriks tulang

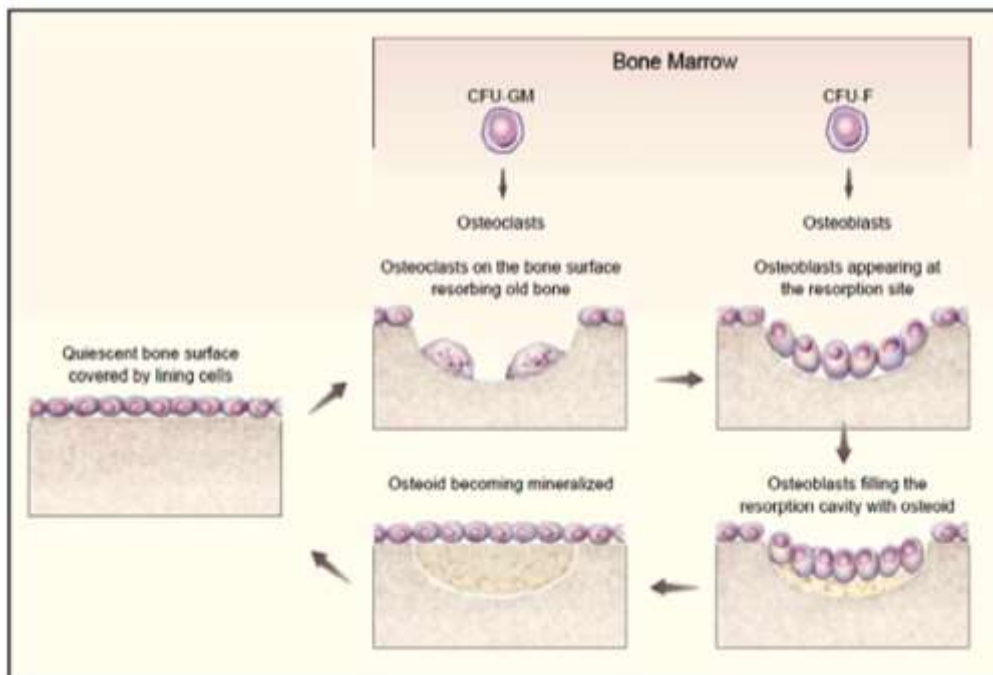
Matriks tulang secara khas tersusun dalam lapisan-lapisan atau lamel-lamel setebal 3-7 mm. Lamel-lamel itu merupakan hasil peletakan matriks yang terjadi secara ritmik. Serat dalam lamel teratur sejajar satu terhadap lainnya dalam bentuk pilinan atau heliks (Lesson, 1996).

Komponen utama matriks interseluler di jaringan tulang adalah serat kolagen tipe I yang bersifat kaku, materi organik lain, yaitu asam hialuronat yang merupakan proteoglikan. Komponen matriks interseluler lain di jaringan tulang, yaitu mineral. Mineral utama, yaitu kalsium dan fosfat yang membentuk garam hidroksiapatit yang tertimbun pada matriks kolagen dan proteoglikan (Price dan Lorraine, 2002). Mineral lain, yaitu Mg, Na, K. Matriks organik membentuk struktur yang kuat pada tulang, sedangkan komponen nonorganik (mineral) memadatkan tulang (Fitrasari, 2017).

3. Remodelling Tulang

Proses remodeling merupakan dua tahapan aktivitas seluler yang terjadi secara siklik, yakni resorpsi tulang lama oleh osteoklas dan

formasi tulang baru oleh osteo-blas. Pertama-tama, osteoklas akan meresorpsi melalui proses asidifikasi dan digesti proteolitik. Segera setelah osteoklas meninggalkan daerah resorpsi, osteoblas menginvasi area tersebut dan memulai proses formasi dengan cara menyekresi osteoid (matriks kolagen dan protein lain) yang kemudian mengalami mineralisasi (Gambar 2.5). Normalnya, kecepatan resorpsi dan formasi tulang berlangsung dalam kecepatan yang sama sehingga massa tulang tetap konstan (Epstein, 1995; Tolar et al, 2010; Teitelbaum, et al, 2003).



Gambar 2.5: Skema proses remodeling tulang. Dalam siklus ini, aktivitas yang konstan dalam diferensiasi osteoblas dan osteoklas dari sel-sel progenitornya merupakan tahap esensial dalam menjaga keseimbangan antara resorpsi tulang lama dan formasi tulang baru. Sumber: Epstein, 1995.

Proses remodeling tulang merupakan proses penggantian jaringan tulang lama dengan jaringan tulang yang baru, proses ini melibatkan dua aktivitas yang berlawanan, yaitu proses resorpsi tulang dan deposisi tulang. Resorpsi tulang merupakan proses pembersihan/penghilangan mineral dan serat kolagen dari tulang yang melibatkan sel osteoklas, proses ini menyebabkan kerusakan matriks ekstraseluler sedangkan deposisi tulang merupakan proses penambahan mineral dan serat kolagen yang melibatkan osteoblas dan menyebabkan pembentukan matriks ekstraseluler. Osteoklas menghasilkan enzim lisosomal dan asam yang dapat mencerna serat kolagen dan komponen organik lainnya sedangkan komponen mineral dilarutkan oleh asam, bahan-bahan tersebut masuk ke sel osteoklas melalui endositosis, selanjutnya bahan-bahan tersebut akan dilepaskan ke sirkulasi oleh osteoklas melalui proses eksositosis. Osteoblas adalah sel yang dapat menghasilkan matriks ekstraseluler dan menyebabkan deposisi mineral. Proses remodeling dipengaruhi beberapa faktor, di antaranya olahraga, asupan makanan, *sedentary lifestyle* (Tortora, 2009).

a. Faktor-faktor yang mempengaruhi remodeling tulang

Aktivitas resorpsi dan formasi tulang diregulasi oleh berbagai faktor sistemik yang kompleks. Keseimbangan antara

aktivitas osteoklastik dan osteoblastik dijaga oleh pasokan hormon steroid yang konstan pada sel-sel tulang. Gangguan dalam regulasi tersebut nampak jelas pada penuaan dan keadaan defisiensi hormon estrogen (Epstein, 1995 dan Monroe et al., 2003).

Selain itu usia dan keadaan menopause, faktor-faktor risiko yang juga dikenal mempengaruhi massa dan densitas tulang antara lain densitas tulang awal (yang dibawa ketika lahir) dan ketersediaan kalsium (Riggs, 2009)..

Faktor lain yang berperan dalam regulasi remodeling tulang ialah vitamin D, dimana suplementasi vitamin D terbukti dapat meningkatkan kepadatan tulang, bahkan pada wanita menopause sekalipun (Jackson et al., 2006). Hormon paratiroid dapat meningkatkan resorpsi tulang dengan cara melepaskan kalsium dari matriks tulang ke dalam sirkulasi darah untuk menjaga kadar kalsium darah agar tetap normal (Grey et al., 1999). Regulator lain ialah hormon paratiroid serta berbagai sitokin dan enzim yang berperan sebagai koregulator maupun koreseptor dalam diferensiasi maupun aktivitas sel-sel tulang (Monroe et al., 2003).

Massa tulang pada orang dewasa yang lebih tua setara dengan puncak massa tulang puncak yang dicapai pada usia 18-25 tahun dikurangi jumlah tulang yang hilang. Puncak massa tulang sebagian besar ditentukan oleh faktor genetik, dengan kontribusi dari gizi, status endokrin, aktivitas fisik dan kesehatan selama pertumbuhan (Ethel, 2008).

Proses remodeling tulang yang terjadi bertujuan untuk mempertahankan tulang yang sehat dapat dianggap sebagai program pemeliharaan, yaitu dengan menghilangkan tulang tua dan menggantikannya dengan tulang baru. Kehilangan tulang terjadi ketika keseimbangan ini berubah, sehingga pemindahan tulang berjumlah lebih besar daripada penggantian tulang. Ketidakseimbangan ini dapat terjadi karena adanya menopause dan bertambahnya usia (Ethel, 2008).

Pemahaman patogenesis osteoporosis primer sebagian besar masih deskriptif. Penurunan massa tulang dan kerapuhan meningkat dapat terjadi karena kegagalan untuk mencapai puncak massa tulang yang optimal, kehilangan tulang yang diakibatkan oleh resorpsi tulang meningkat, atau penggantian kehilangan tulang yang tidak adekuat sebagai akibat menurunnya pembentukan tulang. Selain itu, analisis

patogenesis osteoporosis harus mempertimbangkan heterogenitas ekspresi klinis (Larsen, et al., 2007).

Penyebab utama osteoporosis adalah gangguan dalam remodeling tulang sehingga mengakibatkan kerapuhan tulang. Terjadinya osteoporosis secara seluler disebabkan oleh karena jumlah dan aktivitas sel osteoklas melebihi dari jumlah dan aktivitas sel osteoblas (sel pembentukan tulang). Keadaan ini mengakibatkan penurunan massa tulang (Association, 2004 dan L, 2001).

Selama pertumbuhan, rangka tubuh meningkat dalam ukuran dengan pertumbuhan linier dan dengan aposisi dari jaringan tulang baru pada permukaan luar korteks (Association, 2004). Remodeling tulang mempunyai dua fungsi utama : (1) untuk memperbaiki kerusakan mikro di dalam tulang rangka untuk mempertahankan kekuatan tulang rangka, dan (2) untuk mensuplai kalsium dari tulang rangka untuk mempertahankan kalsium serum. Remodeling dapat diaktifkan oleh kerusakan mikro pada tulang sebagai hasil dari kelebihan atau akumulasi stress. Kebutuhan akut kalsium melibatkan resorpsi yang dimediasi osteoklas sebagaimana juga transpor kalsium oleh osteosit. Kebutuhan kronik kalsium menyebabkan

hiperparatiroidisme sekunder, peningkatan remodeling tulang, dan kehilangan jaringan tulang secara keseluruhan (Lindsay et al., 2008).

Remodeling tulang juga diatur oleh beberapa hormon yang bersirkulasi, termasuk estrogen, androgen, vitamin D, dan hormon paratiroid (PTH), demikian juga faktor pertumbuhan yang diproduksi lokal seperti IGF-I dan IGF-II, transforming growth factor (TGF), parathyroid hormone-related peptide (PTHrP), ILs, prostaglandin, dan anggota superfamili tumor necrosis factor (TNF). Faktor-faktor ini secara primer memodulasi kecepatan dimana tempat remodeling baru teraktivasi, suatu proses yang menghasilkan resorpsi tulang oleh osteoklas, diikuti oleh suatu periode perbaikan selama jaringan tulang baru disintesis oleh osteoblas. Sitokin bertanggung jawab untuk komunikasi di antara osteoblas, sel-sel sumsum tulang lain, dan osteoklas telah diidentifikasi sebagai RANK ligan (reseptor aktivator dari NF-kappa-B; RANKL). RANKL, anggota dari keluarga TNF, disekresikan oleh osteoblas dan sel-sel tertentu dari sistem imun. Reseptor osteoklas untuk protein ini disebut sebagai RANK. Aktivasi RANK oleh RANKL merupakan suatu jalur final umum dalam perkembangan dan aktivasi osteoklas. Umpan

humoral untuk RANKL, juga disekresikan oleh osteoblas, disebut sebagai osteoprotegerin. Modulasi perekrutan dan aktivitas osteoklas tampaknya berkaitan dengan interaksi antara tiga faktor ini. Pengaruh tambahan termasuk gizi (khususnya asupan kalsium) dan tingkat aktivitas fisik (Lindsay et al., 2008).

Ekspresi RANKL diinduksi di osteoblas, sel-T teraktivasi, fibroblas sinovial, dan sel-sel stroma sumsum tulang. Ia terikat ke reseptor ikatan-membran RANK untuk memicu diferensiasi, aktivasi, dan survival osteoklas. Sebaliknya ekspresi osteoprotegerin (OPG) diinduksi oleh faktor-faktor yang menghambat katabolisme tulang dan memicu efek anabolik. OPG mengikat dan menetralkan RANKL, memicu hambatan osteoklastogenesis dan menurunkan survival osteoklas yang sebelumnya sudah ada. RANKL, aktivator reseptor faktor inti NBF; PTH, hormon paratiroid; PGE₂, prostaglandin E₂; TNF, tumor necrosis factor; LIF, leukemia inhibitory factor; TP, thrombospondin; PDGF, platelet-derived growth factor; OPG-L, osteoprotegerin-ligand; IL, interleukin; TGF- β , transforming growth factor (Lindsay et al., 2008).

Pada dewasa muda tulang yang diresorpsi digantikan oleh jumlah yang seimbang jaringan tulang baru. Massa tulang

rangka tetap konstan setelah massa puncak tulang sudah tercapai pada masa dewasa. Setelah usia 30 - 45 tahun, proses resorpsi dan formasi menjadi tidak seimbang, dan resorpsi melebihi formasi. Ketidakseimbangan ini dapat dimulai pada usia yang berbeda dan bervariasi pada lokasi tulang rangka yang berbeda; ketidakseimbangan ini terlebih-lebih pada wanita setelah menopause. Kehilangan massa tulang yang berlebih dapat disebabkan peningkatan aktivitas osteoklas dan atau suatu penurunan aktivitas osteoblas. Peningkatan rekrutmen lokasi remodeling tulang membuat pengurangan reversibel pada jaringan tulang tetapi dapat juga menghasilkan kehilangan jaringan tulang dan kekuatan biomekanik tulang panjang (Lindsay et al., 2008).

B. Tinjauan umum tentang kalsium

1. Definisi kalsium

Kalsium merupakan mineral yang penting untuk manusia, 99 persen kalsium di dalam tubuh manusia terdapat di tulang. Dan sebanyak 1 persen kalsium terdapat di dalam cairan tubuh seperti serum darah, di sel-sel tubuh, dalam cairan ekstraseluler dan intra seluler (guyton and hall, 2011).

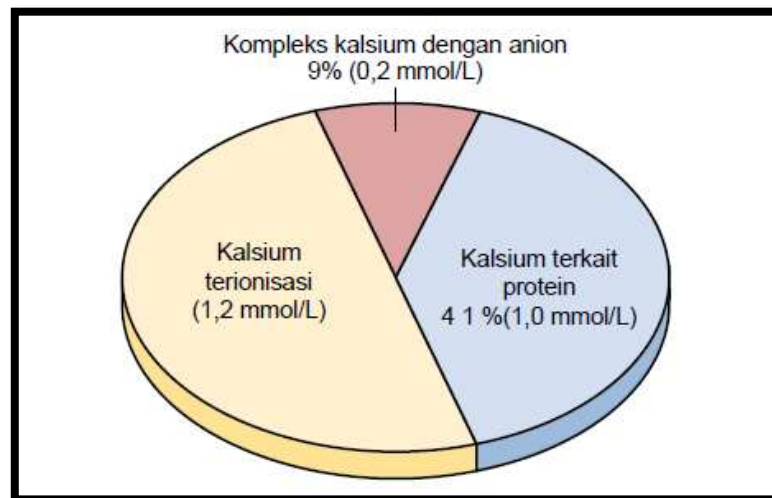
Konsentrasi ion kalsium normalnya diatur dengan sangat tepat. Sehingga jarang menurun atau meningkat terlampau jauh melebihi beberapa

persen dari nilai normalnya sebesar kira-kira 9,4 mg/dl, yang setara dengan 2,4 mmol kalsium/L. Pengaturan yang tepat tersebut sangat penting, karena kalsium berperan utama dalam banyak proses fisiologis, yang meliputi kontraksi otot rangka, jantung dan otot polos; pembekuan darah; dan transmisi impuls saraf yang hanya beberapa dari sejumlah proses fisiologis. Sel yang dapat tereksitasi, seperti neuron, sangat sensitif terhadap perubahan konsentrasi ion kalsium, dan peningkatan konsentrasi kalsium melebihi normal (*hiperkalsemia*) menyebabkan depresi progresif pada sistem saraf pusat: sebaliknya, penurunan konsentrasi kalsium (*hipokalsemia*) menyebabkan sistem saraf menjadi lebih mudah untuk dirangsang. Suatu ciri khas penting dalam pengaturan kalsium ekstrasel adalah hanya sekitar 0,1 persen kalsium yang berada di cairan ekstraselular, sekitar 1 persen berada di sel dan organel-organelnya, dan sisanya disimpan di tulang. Oleh karena itu, tulang dapat berperan sebagai reservoir besar, yang melepas kalsium bila konsentrasi kalsium ekstrasel berkurang, dan menyimpan kelebihan kalsium (Guyton and hall, 2011).

2. Kalsium dalam Plasma dan Cairan Interstisial

Kalsium dalam plasma terdapat dalam tiga bentuk, seperti yang tampak pada Gambar 79-1: (1) Sekitar 41 persen (1 mmol/L) kalsium bergabung dengan protein plasma dan bentuk ini tidak dapat berdifusi melalui membran kapiler. (2) sekitar 9 persen kalsium (0,2 mmol/L) dapat berdifusi melalui

membrane kapiler, namun bergabung dengan zat anionik plasma dan cairan interstisial (contohnya, sitrat dan fosfat) sedemikian rupa sehingga tidak terionisasi; dan (3) sisa 50 persen kalsium dalam plasma dapat berdifusi melalui membran kapiler dan terionisasi. Dengan demikian, plasma dari cairan interstisial memiliki konsentrasi ion kalsium yang normal sekitar 1,2 mmol/L (atau 2,4 mEq/L, karena ion kalsium merupakan ion divalen), yaitu suatu kadar yang besarnya hanya separuh dari konsentrasi kalsium plasma total. Kalsium dalam bentuk ion ini adalah bentuk yang sangat penting untuk sebagian besar fungsi kalsium dalam tubuh, yang meliputi efek kalsium pada jantung, sistem saraf dan pembentukan tulang (Guyton and hall, 2011).



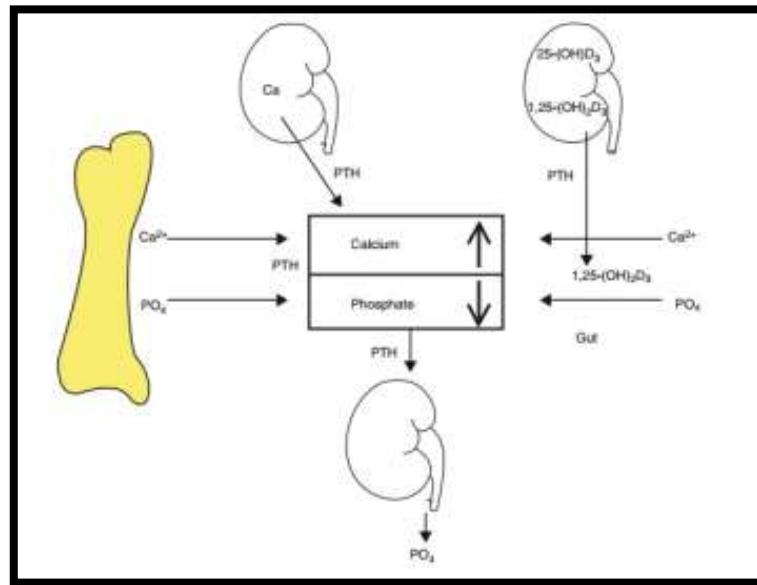
Gambar 2.6 : Distribusi kalsium terionisasi (Ca²⁺), kompleks kalsium dengan anion yang tidak terionisasi namun dapat berdifusi, dan kalsium yang terikat protein, yang tidak dapat berdifusi dalam plasma darah (Guyton and hall, 2011).

3. Metabolisme kalsium di tulang

Sekitar 99% kalsium di dalam tubuh tersimpan di tulang, tulang berperan dalam menjaga homeostasis kalsium di dalam tubuh melalui dua proses, yaitu deposisi dan resorpsi tulang. Resorpsi tulang merupakan proses pelepasan kalsium serta komponen organik lain dari tulang ke sirkulasi yang melibatkan sel osteoklas, proses tersebut dibutuhkan pada saat kadar kalsium dalam sirkulasi rendah. Sedangkan deposisi tulang merupakan proses pengendapan kalsium serta komponen organik dan nonorganik lain dari sirkulasi ke tulang yang melibatkan sel osteoblas, proses ini terjadi saat kadar kalsium dalam sirkulasi melebihi nilai normal (Tortora, 2009).

Regulasi kalsium tersebut melibatkan dua hormon penting, yaitu hormon paratiroid dan hormon kalsitonin. Hormon paratiroid disekresikan oleh kelenjar paratiroid yang distimulasi oleh penurunan kadar kalsium di sirkulasi, hormon tersebut akan meningkatkan jumlah dan aktivitas sel osteoklas yang berperan pada proses resorpsi tulang. Selain itu, hormon paratiroid juga bekerja di ginjal dengan cara meningkatkan reabsorpsi kalsium di tubulus distal. Hormon paratiroid juga menstimulasi pembentukan kalsitriol (1,25-dihidroksikalsiferol) yang dapat meningkatkan absorpsi kalsium di usus. Semua aktivitas yang diperantarai hormon paratiroid berfungsi untuk meningkatkan kalsium di sirkulasi sehingga kadarnya dapat kembali ke kisaran normal. Hormon lain yang berperan dalam metabolisme kalsium adalah hormon kalsitonin.

Hormon tersebut memiliki efek kerja yang berlawanan dengan efek yang ditimbulkan oleh hormon paratiroid, yaitu deposisi kalsium ke tulang. Hormon kalsitonin disekresikan oleh kelenjar tiroid dan distimulasi oleh kadar kalsium plasma yang meningkat. Hormon ini bekerja dengan menghambat aktivitas osteoklas, meningkatkan deposisi serta ambilan kalsium dari sirkulasi ke tulang dan menurunkan reabsorpsi kalsium di ginjal (Tortora, 2009). Selain kalsium, tulang juga berperan dalam meregulasi homeostasis fosfat. Sekitar 85-90% fosfat dalam tubuh disimpan di tulang. Konsentrasi normal fosfat, yaitu 2,5-4,5 mg/dL.²² Ketika kadar fosfat plasma menurun akan terjadi peningkatan resorpsi tulang yang menyebabkan peningkatan pelepasan fosfat ke sirkulasi, proses resorpsi tersebut melibatkan hormon paratiroid dan senyawa 1,25-dihidroksikalsiferol. Pada keadaan yang sebaliknya, ketika fosfat plasma meningkat melebihi kisaran nilai normal maka hormon kalsitonin akan menurunkan reabsorpsi fosfat di ginjal dan di usus serta menghambat proses resorpsi tulang sehingga kadar fosfat di plasma akan menurun (Fitrasari, 2017).



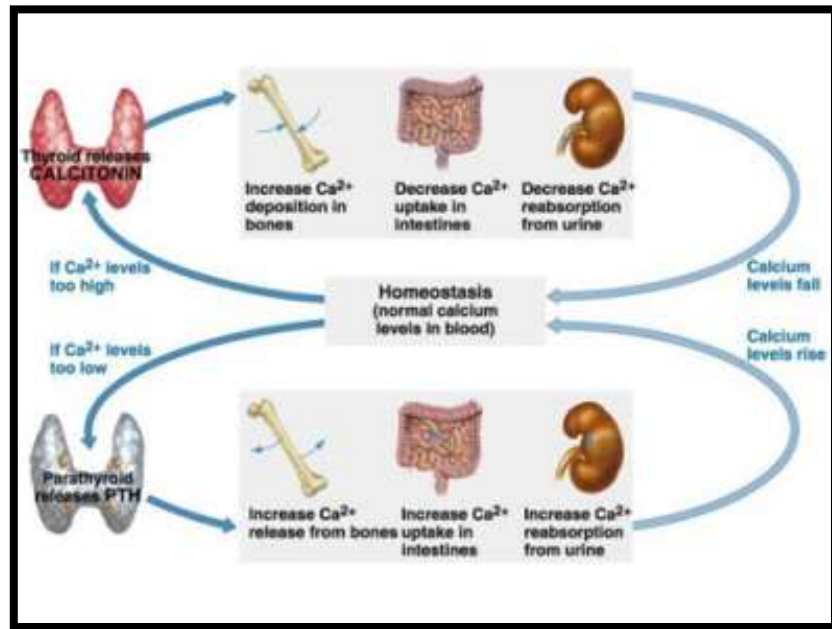
Gambar 2.7 : Hubungan kalsium, fosfat, hormon paratiroid, dan vitaminD dalam metabolisme tulang (Kini et al., 2012)

4. Peranan Kalsium pada Tulang

Sekitar 99% kalsium tubuh berada di tulang serta gigi dan sekitar 0,1% berada dalam plasma darah dan 0,9% berada di dalam sel. Kalsium yang terdapat dalam plasma darah, 39% di antaranya bersifat diffusible dan 41% yang lain merupakan bentuk yang non-diffusible dimana 0,92 mmol/L berikatan dengan protein albumin dan 0,24% berikatan dengan protein globulin (Ganong, 2010).

Kalsium penting untuk pertumbuhan tulang karena berperan dalam proses mineralisasi. Rata-rata tulang dewasa mengandung 1200 gr kalsium dalam bentuk garam hidroksiapatit $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ (Theobald, 2006).

Adanya garam hidroksiapatit tersebut membuat tulang memiliki struktur yang keras dan kaku. Tulang yang terkalsifikasi mengandung 25% matriks organik, 5 % air, dan 70% matriks inorganic (Kini dan Nandeesh, 2017). Berdasarkan AKG bagi orang Indonesia yang diterbitkan oleh Departemen Kesehatan RI, anjuran konsumsi kalsium bagi pria dan wanita usia 10-18 tahun adalah 1200 mg/hari, usia 19-29 tahun 1100 mg/hari, dan usia 45 hingga >80 tahun, yaitu 1000 mg/hari (Eroschenko dan Victor, 2008). Asupan kalsium yang tidak cukup dapat menyebabkan rendahnya densitas massa tulang yang dapat meningkatkan risiko osteoporosis di kemudian hari (Theobald, 2006). Ketika asupan kalsium rendah (<80% AKG) maka konsentrasi ion dalam plasma tidak dapat dipertahankan, supaya tubuh tetap dalam kondisi homeostatis maka simpanan kalsium di tulang akan dilepaskan ke sirkulasi melalui proses resorpsi tulang. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Arofani Hermastuti tahun 2012 yang menyebutkan bahwa terdapat hubungan positif yang bermakna antara asupan kalsium dengan kepadatan tulang pada wanita dewasa muda dimana 50% subjek dengan asupan kalsium <80% AKG mengalami osteopenia sedangkan subjek dengan asupan kalsium lebih dari AKG memiliki kepadatan tulang yang normal.^{24,26} Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Margo Utomo dkk disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna dengan nilai P 0,45 antara kebiasaan mengonsumsi makanan berkalsium tinggi dengan kepadatan tulang (Utomo et al., 2010).



Gambar 2.8 : Homeostasis Kalsium dalam Tubuh (Allin dan Jane, 2012)

D. Tinjauan umum tentang ovariectomy dan orchidectomy

1. Ovariectomy

Ovariectomy merupakan istilah kedokteran yang terdiri dari *ovariectomy* dan *histerectomy*. *Ovariectomy* adalah tindakan mengamputasi, mengeluarkan dan menghilangkan ovarium dari rongga abdomen. Sedangkan *histerectomy* adalah tindakan mengamputasi, mengeluarkan dan menghilangkan uterus dari rongga abdomen. Pengertian *ovariectomy* merupakan gabungan dari pengertian diatas yaitu tindakan pengambilan ovarium, corpus uteri dan cornua uteri. *Ovariectomy* dilakukan pada kasus-kasus pyometra, metritis, dan salpingitis ataupun keduanya (Meyer K.,

1959). Tindakan pengambilan ovarium, corpus uteri dan cornua uteri merupakan pengertian dari ovariohisterektomi. Tindakan bedah ini akan memberikan efek pada hewan seperti perubahan tingkah laku, hewan tidak berahi, tidak bisa bunting, dan tidak dapat menyusui (Sikumbang, et.al., 2018).

Ovariohysterectomy juga merupakan salah satu prosedur bedah yang paling umum dilakukan pada hewan kecil. Prosedur ini biasa dilakukan untuk menekan kejadian overpopulasi hewan ataupun untuk mengurangi persentase terjadinya tumor *mammary*. Seperti pada anjing dan kucing, *ovariohysterectomy* pada tikus dapat dilakukan melalui ventral *midline* dan *flank* (White, 2020).

Ovariohisterektomi pada tikus adalah model aplikasi pembelajaran yang memusatkan pada pengeroposan tulang yang disebabkan karena menopause. Penurunan estrogen akibat ovariohisterektomi menyebabkan peningkatan resorpsi pada jaringan tulang. Resorpsi lebih cepat daripada pembentukan tulang sehingga menyebabkan pengeroposan tulang, yang menyebabkan hilangnya kekuatan tulang. Karakteristik dari model ini telah banyak dijelaskan, dan model ini sering dijadikan sebagai model untuk osteoporosis. (Rigali, 2009). Ovariohisterektomi adalah analogi untuk mengetahui efisiensi dan keamanan dari sebuah agen untuk terapi osteoporosis. Peraturan FDA dan WHO merekomendasikan bahwa agen harus diujikan terlebih dahulu,

paling tidak pada dua spesies binatang, termasuk Ovariohisterektomi pada tikus dan model selain rodentia

2. Orchidectomy

Pengebirian atau orkidektomi adalah operasi pengangkatan testis kucing jantan untuk pengendalian populasi kucing, manfaat kesehatan medis, pengendalian penyakit genetik dan modifikasi perilaku (Mohan-Gibbons dan Zawistowski, 2015).

Sterilisasi pada jantan juga disebut dengan kastrasi, yang merupakan salah satu prosedur bedah yang paling umum dilakukan pada hewan kecil. Kastrasi dapat dilakukan melalui dua teknik yaitu terbuka dan tertutup. Kastrasi terbuka memiliki keuntungan dimana proses pengeluaran testis lebih mudah jika dibandingkan dengan kastrasi tertutup. Kastrasi dapat dilakukan tepat pada *scrotum* yang disebut dengan *scrotalis* atau di atas *scrotum* yaitu *prescrotal*. Kastrasi telah biasa dilakukan pada hewan laboratorium. Seperti pada anjing dan kucing, kastrasi pada tikus dapat dilakukan dengan dua teknik, serta dapat dilakukan dengan metode *scrotalis* jika testisnya telah berkembang (White, 2020).

Selama prosedur, kedua testis diangkat dengan memotong secara hati-hati melalui kulit tepat di depan skrotum, dan melalui berbagai lapisan yang menutupi testis. Pembuluh darah yang sangat besar dan korda spermatika

harus diikat dengan hati-hati sebelum dipotong, sehingga testis dapat diangkat. Lapisan tersebut kemudian ditutup dengan jahitan, yang mungkin terlihat di permukaan atau mungkin terkubur. Obat lebih lanjut dapat diberikan sesuai kebutuhan. Operasi ini membutuhkan anestesi umum (Little, 2015).

Keuntungan utama mengebiri kucing jantan adalah pencegahan pembiakan, pencegahan kanker testis, pengurangan risiko masalah prostat (termasuk kanker prostat) dan modifikasi perilaku tertentu. Testosteron sangat mempengaruhi agresi pada kucing. Salah satu keuntungan perilaku kebiri yang paling penting adalah bahwa saat dewasa, kucing yang dikebiri ini akan cenderung kurang agresif terhadap kucing lain (Little, 2015).

E. Tinjauan umum tentang hubungan antara orchidectomy dan ovariohysterectomy terhadap sel tulang

Orchidectomy dan ovariohysterectomy adalah tindakan pengangkatan alat utama pada organ reproduksi. Dimana pada betina disebut ovariohysterectomy yaitu pengangkatan ovarium beserta uterus, sedangkan orchidectomy pada jantan yaitu pengangkatan testis. Seperti yang diketahui kedua organ utama reproduksi tersebut adalah penghasil hormone reproduksi utama dalam tubuh. Organ yang menghasilkan hormon estrogen antara lain adalah ovarium, korteks adrenal, dan pada sel-sel adiposit yang mana pada organ tersebut akan menghasilkan estrogen pada saat ovarium tidak memproduksi estrogen (Nelson, 2001). Sedangkan testis adalah penghasil

hormone testoteran yang merupakan androgen yg disintesis 95% di testis dan sisanya di adrenal (Laswati, 2016). Dengan mengetahui bahwa ovarium dan testis adalah penghasil hormone estrogen dan androgen utama dalam tubuh, maka ketika dilakukan oavriohistectomy dan orchidectomy maka kadar kedua hormone tersebut didalam tubuh akan berkurang. Disamping hormone estrogen dan androgen berfungsi dalam pembentukan organ seks primer, kedua hormone ini juga sangat penting dalam menjaga homeostasis tulang (Laswati, 2016). Berikut akan dibahas masing-masing peran hormone estrogen dan androgen dalam sel tulang.

1. Peran Estrogen Dalam Tulang

a. Hormon estrogen dan reseptornya

Estrogen yang banyak ditemukan dalam tubuh manusia adalah estradiol-17 β (E2), estron (E1) dan estriol (E3). Ketiganya merupakan steroid dengan 18 atom karbon yang terbentuk dari kolesterol (Gruber et al., 2002).

Sumber primer estradiol ialah kelenjar gonad (sel teka dan sel granulosa ovarium pada perempuan dan sel Leydig pada laki-laki), sedangkan estron dan estriol disintesis di hepar dari estradiol. Selain itu, pembentukan senyawa estrogen dapat pula berlangsung di otot, jaringan lemak, jaringan saraf dan trofoblas (Gruber et al., 2002).

Efek estrogen hanya terlihat pada sel-sel dan jaringan yang memiliki reseptor estrogen. Fungsi estrogen dalam tubuh manusia ditentukan oleh jenis reseptor estrogen, lokasi reseptor dan interaksinya antara estrogen, reseptornya dan struktur lain di dalam sel target. Sejauh ini dikenal dua jenis reseptor estrogen: reseptor alfa ($ER\alpha$) dan reseptor beta ($ER\beta$). Meskipun $ER\alpha$ dan $ER\beta$ berinteraksi dengan ligan estrogen yang sama, yakni estradiol- 17β , keduanya memiliki perilaku yang berbeda, bahkan bertentangan. Sebagai contoh, $ER\alpha$ yang terikat dengan ligan dapat mengaktifasi transkripsi gen, sedangkan $ER\beta$ justru menghambat transkripsi (Mcdowall, 2003).

b. Efek estrogen pada sel-sel tulang

Reseptor estrogen dapat ditemukan pada sel osteoklas maupun osteoblas. Estrogen telah lama dikenal sebagai agen antiresorptif yang bekerja terutama dengan menekan aktivitas osteoklastik. Namun studi-studi terakhir membuktikan bahwa efek antiresorptif tersebut dapat pula dihilangkan melalui kerjanya pada osteoblas yang secara tidak langsung mempengaruhi aktivitas osteoklastik (Gruber et al., 2002).

c. Efek estrogen pada aktivitas osteoklas

Shevde et al membuktikan bahwa estrogen bekerja dengan menekan diferensiasi osteoklas. Pembentukan osteoklas memerlukan

interaksi antara RANK (receptor activator nuclear factor kappa B, NF- κ B) dan ligannya, RANKL. Interaksi antara RANK dan RANKL ini diregulasi oleh produksi osteoprotegerin (OPG). Estrogen mengendalikan diferensiasi osteo-klas dengan cara menghambat interaksi an-tara RANK dan RANKL. Estrogen pun dapat menghambat produksi IL-6, IL-1 dan atau TNF- α , IL-11, IL-7 dan TGF- β yang juga penting dalam diferensiasi osteo-klas (Bell, 2003., Bezzera et.al., 2005., dan Oursler, 2003).

Lama hidup osteoklas juga menentukan jumlah sel osteoklas pada permukaan resorpsi tulang. Hughes et al. membuktikan bahwa estrogen dapat menginduksi apoptosis dan kematian osteoklas sehingga dapat secara langsung menurunkan aktivitas resorpsi (Oursler, 2003).

d. Efek estrogen pada aktivitas osteoblas

Efek estrogen dalam menekan aktivitas osteoklastik dapat terjadi secara tidak langsung melalui aksinya pada reseptor osteoblastik. Salah satu sitokin yang diproduksi oleh osteoblas, TGF- β , ditekan produksinya oleh estrogen. TGF- β berperan dalam diferensiasi osteoklas serta kelangsungan hidupnya (Oursler, 2003). Estrogen pun menstimulasi produksi OPG (osteoprotegerin) oleh osteoblas. OPG merupakan reseptor TNF yang penting dalam menghambat diferensiasi dan

aktivitas osteoklas. Estrogen juga mengendalikan aktivitas osteoklastik dengan menekan produksi interleukin-6 (IL-6) yang diproduksi osteoblast (Rivas, et al., 1995).

2. Peran androgen dalam tulang

a. Hormon androgen dan reseptor Androgen

Androgen adalah istilah umum yang dipakai untuk testosteron dan prekursornya yaitu C19 yang merupakan metabolit kolesterol. Androgen yang utama pada laki-laki adalah testosteron yang 95% diproduksi di testes sedangkan 5% nya diproduksi oleh kelenjar adrenal melalui konversi dihydroepiandrosteron (DHEA), testosteron dalam darah berikatan kuat dengan Sex-Hormone-Binding Globulin (SHBG) dan berikatan lemah dengan albumin. Efek testosteron pada tubuh di mediasi oleh koversi lokalnya menjadi 5α -dihidrotestosteron oleh jaringan perifer, yang memiliki afinitas yang tinggi terhadap reseptor androgen (Vanderschueren et al., 2014).

Sintesis androgen dikontrol oleh Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH). Di hipofisis, GnRH merangsang pelepasan Luteinizing Hormone (LH) dan Follicle Stimulating Hormone (FSH) ke dalam sirkulasi umum. FSH dan LH disekresi oleh hipofisis anterior. FSH akan merangsang sel Sertoli untuk proses spermatogenesis dan mensekresi inhibin B yang memberikan efek negative terhadap sekresi FSH. Sementara itu LH

diperlukan oleh sel Leydig di testes untuk produksi testosteron. Testosteron merangsang produksi sperma dan virilisasi, selain itu juga memberikan umpan balik negatif ke hipotalamus dan hipofisis untuk meregulasi sekresi GnRH (Kaufman & Vermeulen, 2005).

Testosteron memiliki efek androgenik dan anabolik yang sangat kuat pada laki-laki dan wanita, meskipun laki-laki memproduksi testosteron lebih banyak dibandingkan wanita. Pertumbuhan dan pemeliharaan tulang secara signifikan dipengaruhi oleh testosteron. Penelitian yang dilakukan Phillip et al., 2001 pada tikus kastrasi yang disuntikan testosteron mendapatkan hasil semakin lebarnya lempeng pertumbuhan epifisis tulang tibia. Androgen berperan dalam membangun dan membentuk tulang rangka laki-laki muda dan mencegah keroposnya tulang pada penuaan. Testosteron dimetabolisme oleh enzim sitokrom P450 aromatase menjadi 17β -estradiol. Proses aromatisasi ini penting untuk tulang. Beberapa laporan kasus mengindikasikan laki-laki dengan mutasi pada reseptor estrogen atau gen aromatase menderita osteoporosis yang berat (Mohamad et al., 2016).

Hormon seks steroid bekerja pada sel target dengan cara berikatan dengan reseptor. Androgen akan berikatan dengan reseptor androgen, sedangkan estrogen berikatan dengan reseptor estrogen α dan β . Reseptor androgen terekspresi pada sel sumsum tulang dan lempeng epifisis

(Vanderschueren et al., 2014). Van der Eerden et al., 2002 menemukan adanya mRNA dan protein reseptor androgen di lempeng pertumbuhan tulang tibia tikus dan tulang metafisis utama selama perkembangan tikus. Pada tikus jantan, ditemukan adanya intensitas staining mRNA dan protein yang tinggi, begitu juga preferential nuclear staining selama pematangan seksual. Kesimpulan penelitian ini adalah pengaruh langsung androgen terhadap perbedaan perkembangan rangka tubuh sesuai dengan gender, tetapi tidak ditemukan perbedaan ekspresi reseptor lempeng pertumbuhan kondrosit pada laki dan wanita.

b. Efek Androgen Terhadap Sel Tulang

Integritas dari sistem skeletal dalam tubuh kita dijaga oleh proses yang kompleks dan rumit yang dikenal dengan istilah *remodelling* yang ditentukan oleh tiga tipe sel tulang: osteoblas, osteoklas, dan osteosit. Sel-sel ini sangat sensitif terhadap sinyal yang dikirim oleh hormon, sitokin, mineral, dan komponen-komponen yang terdapat dengan makanan. Beberapa dari sel ini mengekspresikan reseptor estrogen dan reseptor androgen, dan responsif terhadap dua hormon ini. Disfungsi pada sel-sel ini akan menyebabkan terjadinya disregulasi pada proses *remodelling*. Osteoporosis terjadi karena rasio resorpsi lebih besar daripada pembentukan tulang yang mengarah pada osteoporosis (Feng & McDonald, 2011).

c. Osteoblas

Osteoblas adalah sel spesial pembentuk tulang yang berperan penting dalam proses *remodelling* tulang, seperti produksi protein matriks tulang maupun mineralisasi tulang. Osteoblas berasal dari sel mesenkim pluripoten dibawah regulasi faktor transkripsi seperti osteriks. Istilah osteoblas sebenarnya mengacu pada populasi seluler yang berbeda meliputi osteoblas yang immatur dan matur. Osteoblas matur bertanggung jawab terhadap mineralisasi matriks tulang sedangkan yang immatur berperan dalam hal meregulasi pembentukan osteoklas (Gori *et al.*, 2000).

Sel mesenkimal pluripoten ini juga berdiferensiasi menjadi sel adiposa, miosit, dan kondrosit dibawah regulasi faktor-faktor transkripsi. Diferensiasi dari osteoblas dikontrol oleh faktor transkripsi utama yaitu RUNX2 (Runt-Related Transcription Factor 2), yang juga dikenal sebagai faktor CBFA1 (Core-Binding Factor A1). Tikus yang tidak memiliki RUNX2 menunjukkan tulangnya adalah tulang rawan dan jaringannya tidak mengalami dimineralisasi akibat berhentinya maturasi osteoblas (Raggatt & Partridge, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Colvard *et al.*, 1989 dengan melakukan kultur pada sel osteoblas manusia menggunakan “nucelar-binding assay” menemukan adanya reseptor androgen dan estrogen pada

sel tulang, dan juga diidentifikasi adanya mRNA dan protein dari reseptor androgen di sel osteoblas.

Kasperk *et al.*, 2014 menemukan tingkat ekspresi mRNA reseptor androgen pada laki-laki dan wanita adalah sama begitu juga dengan lokasi *binding* nya. Penelitiannya menggunakan populasi sel osteoblastik yang diisolasi pada biopsi tulang dari lokasi yang berbeda-beda pada laki-laki dan wanita dewasa. Penelitian ini menyimpulkan androgen berperan dalam mengatur ekspresi reseptor androgen di osteoblas.

Sel-sel stromal (prekursor osteoblas), megakariosit, dan sel-sel endotelial pada sumsum tulang mengekspresi reseptor androgen (Gruber *et al.* 1999). Peran androgen terhadap osteoblas ditunjukkan oleh penelitian yang dilakukan oleh Damien *et al.* 2000, dimana baik testosteron maupun 5α -dihidrotestosteron merangsang proliferasi prekursor sel osteoblas pada beberapa spesies. Androgen juga menekan apoptosis yang terjadi pada sel osteoblas (Clarke & Khosla. 2009). Kasperk *et al.*, 1990 mendapatkan bahwa pemberian DHT (Dihydrotestosterone) pada kultur sel calvaria tikus meningkatkan efek PGF (Fibroblast Growth Factor) dan IGF-I (Insuline Like Growth Factor-I) sehingga proliferasi dan differensiasi osteoblas meningkat.

Chin & Soelaiman, 2015 melakukan percobaan pada 3 kelompok tikus berumur 3 bulan. Ada kelompok kontrol, kelompok yang dikastrasi tanpa diberikan injeksi testosteron, dan satu kelompok dikastrasi diberikan injeksi testosteron melalui intramuskular selama 8 minggu. Pada kelompok yang dikastrasi ditemukan terjadi penurunan yang signifikan pada volume tulang trabekular dan juga ekspresi gen osteogonik dibandingkan kelompok kontrol. Pemberian testosteron mampu mencegah hal ini terjadi, dan terjadi penurunan ekspresi gen RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand) dan OPG (Osteoprotegerin) secara signifikan. Gen RANKL berperan dalam mengatur regenerasi dan *remodelling* tulang sedangkan gen OPG berperan menghambat diferensiasi prekursor osteoklas menjadi osteoklas yang matur.

C. Osteoklas

Osteoklas berasal dari sel hematopoietik makrofag di sumsum tulang. Diferensiasi osteoklas memerlukan kontak dengan sel stromal dari sel lineage osteoblas juga rangangan dari RANKL yang dilepaskan oleh osteoblas immatur yang berikatan dengan RANK dari osteoklas. RANKL yang merupakan bagian dari Tumor Necrosis Factor (TNF) mempunyai efek merangsang diferensiasi, aktivasi, dan viabilitas dari osteoklas. RANKL diproduksi oleh sel *lineage* dari osteoblas dan limfosit T yang teraktivasi menstimulasi reseptor RANK yang terletak pada permukaan sel

osteoblasts. Efek dari RANKL di blok oleh reseptor antagonis osteoprotegerin (OPG), yang mensekresi berbagai macam tipe sel yang salah satunya adalah sel *lineage* osteoblasts. Produksi OPG dirangsang oleh 17β estradiol dan juga androgen (Hofbauer *et al.*, 2002).

Defisiensi androgen yang terjadi setelah dilakukan kastrasi menyebabkan proliferasi osteoklas. Androgen menggunakan mekanisme defensifnya untuk tulang melalui sel osteoblastik. Kastrasi akan menyebabkan proliferasi prekursor osteoblast yang mana akan mensekresi RANKL untuk memacu proliferasi dan aktivasi osteoklas dan akhirnya menyebabkan osteoporosis (Chin & Soelaiman, 2015).

Penelitian secara *in vitro* menunjukkan DHT berinteraksi dengan reseptor androgen pada osteoklas dan menghambat resorpsi tulang pada osteoklas manusia, tikus, dan unggas. Pada kultur sel, androgen meregulasi pembentukan osteoklas dan viabilitasnya melalui jalur RANKL, dan juga menghambat sekresi kadar mRNA dan protein PGA oleh sel osteoblastik (Huber *et al.*, 2001).

e. Osteosit

Selama pembentukan tulang, sejumlah populasi sel osteoblast mengalami differensiasi akhir dan akan dibungkus oleh osteoid yang tidak termineralisasi disini mereka diistilahkan osteoid-osteosit. Saat

mineralisasi matriks tulang, sel sel yang terbungkus ini disebut osteosit dan membentuk jejala yang meluas sepanjang tulang-tulang yang termineralisasi. Osteosit dibungkus dalam lakuna dalam tulang termineralisasi tersebut dan terdapat dalam jumlah yang sangat melimpah berkisar 90-95% dari sel tulang (Raggatt & Partridge, 2010).

Osteosit memiliki prosesus yang menyerupai dendrit terbentang luas sepanjang kanalikuli dalam matriks tulang. Prosesus ini berinteraksi dengan osteosit lain dan osteoblas pada permukaan tulang. Osteosit merespon beban mekanis yang mengenai tulang, dan dengan adanya jejala tersebut osteosit mendeteksi adanya keregangan mekanis berkaitan dengan terjadinya kerusakan tulang secara mikro (keretakan dan fraktur pada tulang yang termineralisasi). Osteosit mengatur *remodelling* tulang yang diakibatkan adanya rangsangan mekanis untuk mencegah akumulasi kerusakan tulang secara mikro (Raggatt & Partridge, 2010).

Penelitian secara *in vitro* mendapatkan reseptor estrogen α dan β menterjemahkan kekuatan mekanik menjadi sinyal *pro survival* pada osteosit dan osteoblas. Estradiol mencegah terjadinya apoptosis pada osteosit dan meningkatkan produksi TGF α yang akan menghambat resorpsi tulang oleh osteoklas. Maka dari itu estrogen yang dikonversi dari testosteron pada laki-laki memberikan efek anabolik terhadap osteosit (Aguirre *et al.*, 2007).

3. Penurunan estrogen diikuti penurunan serapan kalsium oleh tubuh

Hormon estrogen memiliki efek tidak langsung pada tubuh yaitu berperan dalam pengaturan keseimbangan kalsium dalam tubuh. Estrogen akan meningkatkan penyerapan kalsium di usus dan menurunkan pengeluaran kalsium dari ginjal sehingga kalsium di dalam darah dapat dipertahankan kadarnya (Purnamasari, 2011).

Menurut Hutton , menurunnya kadar estrogen akan diikuti dengan penurunan penyerapan kalsium yang terdapat dalam makanan sehingga wanita yang mencapai masa menopause cenderung mengalami pengurangan penyerapan kalsium sebanyak 20-25%. Penyerapan kalsium dari saluran pencernaan yang berkurang mengakibatkan kalsium tulang akan diambil atau diserap untuk memenuhi kadar kalsium darah sehingga terjadilah pengeroposan tulang (osteoporosis) (Waluyo, 2010).

Kalsium darah adalah kalsium yang berada dalam darah dan jaringan lunak. Kadar kalsium darah harus dikontrol dalam batas kadar yang sempit untuk mendapatkan fungsi fisiologinya yang normal⁶. Kalsium dalam darah atau cairan ekstraseluler (CES) berperan penting dalam proses fisiologis, yang meliputi kontraksi otot rangka, jantung dan otot polos, pembekuan darah, transmisi impuls saraf dan pembentukan tulang. Orang dewasa normal memiliki rentang konsentrasi kalsium plasma (darah) 2,2-2,6 mmol/L atau 8,8-10,4 mg/dL⁷. Pemeriksaan kadar kalsium darah

pada wanita menopause (dengan umur \geq 50 tahun) merupakan pemeriksaan yang hasilnya dapat digunakan dalam menentukan risiko teradinya osteoporosis (Aruan dan Apryana, 2011). Sekitar 99% kalsium di dalam tubuh tersimpan di tulang, tulang berperan dalam menjaga homeostasis kalsium di dalam tubuh melalui dua proses, yaitu deposisi dan resorpsi tulang. Resorpsi tulang merupakan proses pelepasan kalsium serta komponen organik lain dari tulang ke sirkulasi yang melibatkan sel osteoklas, proses tersebut dibutuhkan pada saat kadar kalsium dalam sirkulasi rendah. Sedangkan deposisi tulang merupakan proses pengendapan kalsium serta komponen organik dan nonorganik lain dari sirkulasi ke tulang yang melibatkan sel osteoblas, proses ini terjadi saat kadar kalsium dalam sirkulasi melebihi nilai normal (Tortora, 2009).

Regulasi kalsium melibatkan dua hormon penting, yaitu hormon paratiroid dan hormon kalsitonin. Hormon paratiroid disekresikan oleh kelenjar paratiroid yang distimulasi oleh penurunan kadar kalsium di sirkulasi, hormon tersebut akan meningkatkan jumlah dan aktivitas sel osteoklas yang berperan pada proses resorpsi tulang. Selain itu, hormon paratiroid juga bekerja di ginjal dengan cara meningkatkan reabsorpsi kalsium di tubulus distal. Hormon paratiroid juga menstimulasi pembentukan kalsitriol (1,25-dihidroksikalsiferol) yang dapat meningkatkan absorpsi kalsium di usus. Semua aktivitas yang

diperantarai hormon paratiroid berfungsi untuk meningkatkan kalsium di sirkulasi sehingga kadarnya dapat kembali ke kisaran normal. Bila terjadi kekurangan kalsium dalam darah salah satunya memicu pengeluaran hormon paratiroid yang menyebabkan terjadinya penyerapan tulang untuk meningkatkan kadar kalsium darah. Kondisi yang menyebabkan penurunan kalsium dalam darah adalah kurangnya kalsium dalam diet, penurunan atau terganggunya penyerapan kalsium di usus (pada orang tua) dan menurunnya reabsorpsi kalsium (pada kelainan ginjal. Hormon lain yang berperan yaitu hormone kalsitonin. Hormon kalsitonin disekresikan oleh kelenjar tiroid dan di stimulasi oleh kadar kalsium yang meningkat. Hormon ini bekerja menghambat aktivitas sel osteoklas dan meningkatkan deposisi kalsium dari sirkulasi ke tulang serta menurunkan reabsorpsi kalsium di ginjal (Permana, H. 2012).

Tulang sebagai tempat penyimpanan mayoritas kalsium (Ca) dan fosfor (P) tubuh, bersama-sama dengan ginjal dan usus beraksi mengatur balance Ca dan P tubuh. Balance Ca dan P sangat penting untuk mempertahankan massa tulang dan mencegah hilangnya massa tulang. Balance Ca dan P menjadi negatif atau positif tergantung pada banyak atau sedikitnya jumlah Ca dan P yang diabsorpsi melalui usus atau yang diekskresikan dalam feses dan yang diekskresikan oleh ginjal dalam urin. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Toromanoff dkk. (1997) bahwa

balance mineral adalah selisih dari jumlah mineral yang dikonsumsi dengan jumlah mineral yang diekskresikan dalam feses dan urin, semen tara menurut Scholz-Ahrens dkk (2007) selisih dari jumlah mineral (Ca dan P) yang dikonsumsi dengan jumlah mineral (Ca dan P) yang diekskresikan dalam feses dan urin diartikan sebagai retensi Ca.

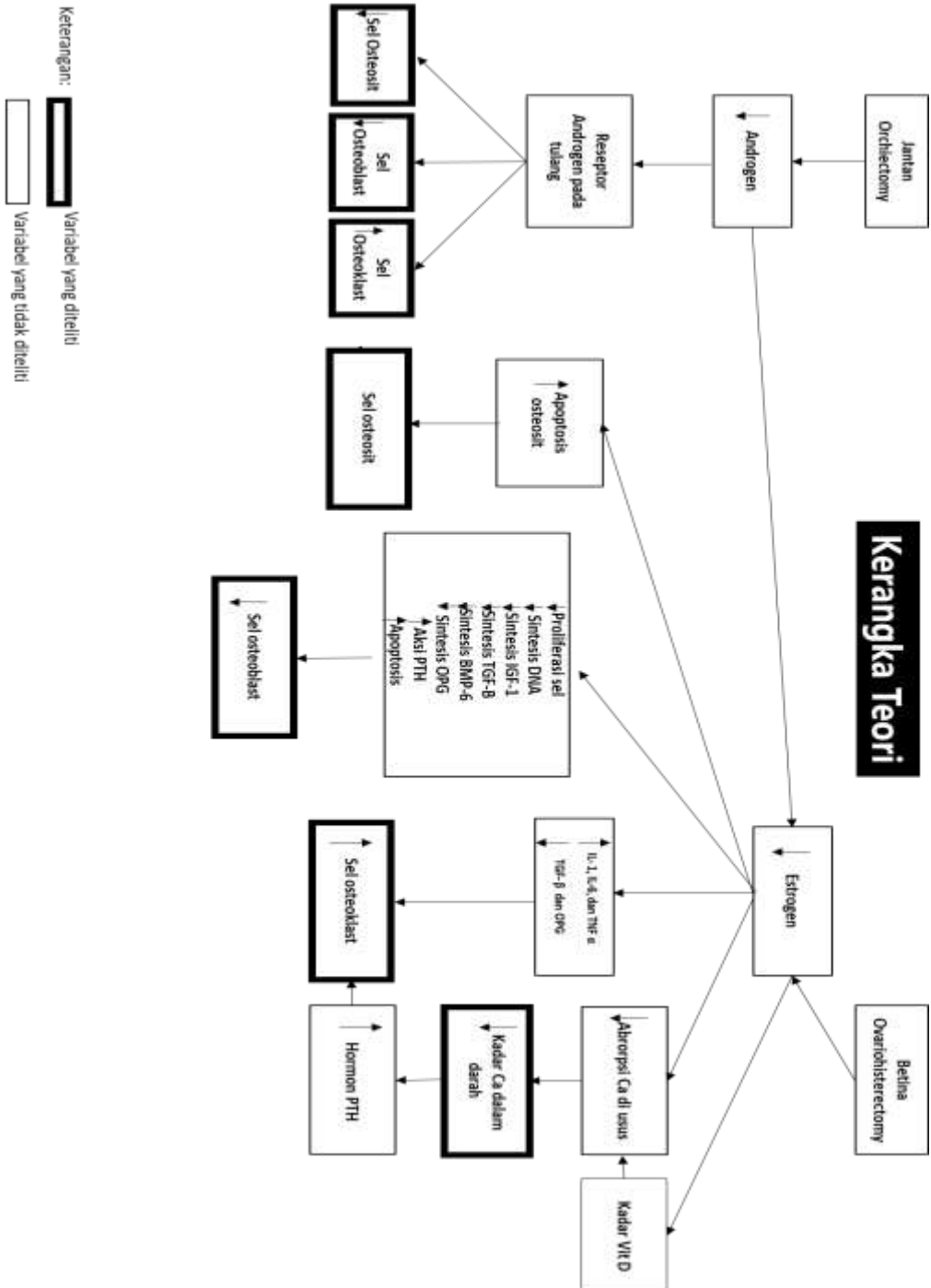
Turunnya estrogen terutama pada individu pasca menopause dapat menjadi penyebab balance Ca dan P negatif, serta hilangnya massa tulang (Nordin dkk.,1979; Young dkk., 1968; Young and Nordin, 1967). Hormon estrogen berperan dalam absorpsi Ca oleh usus hewan percobaan (Arjmandi dkk. 1993), dan manusia (Gennari dkk., 1990; Gallagher dkk., 1980) melalui reseptor estrogen yang terdapat dalam usus (Arjmandi dkk. 1993). Selain itu hormon estrogen juga berperan meningkatkan konservasi Ca dalam ginjal (Nordin dkk., 1992;McKane dkk., 1995) dengan meningkatkan reabsorpsi Ca melalui tubulus ginjal. Penelitian yang dilakukan secara in vivo menunjukkan bahwa defisiensi hormon estrogen meningkatkan pembuangan Ca melalui usus dan ginjal, memacu hiperparatiroid sekunder, dan menyebabkan hilangnya massa tulang yang dapat dikoreksi dengan terapi pengganti estrogen (Nordin dkk., 1997; Prince dkk., 1991).

Dalam penelitian lain juga dijelaskan bahwa Penurunan kadar hormone estrogen pada tikus pascaovariectomi dapat menjadi penyebab

turunnya absorpsi kalsium di usus sehingga mengakibatkan hipereksresi kalsium melalui ginjal dan massa tulang semakin mudah hilang (Van et al., 2002 dan Hartingsih et al., 2012).

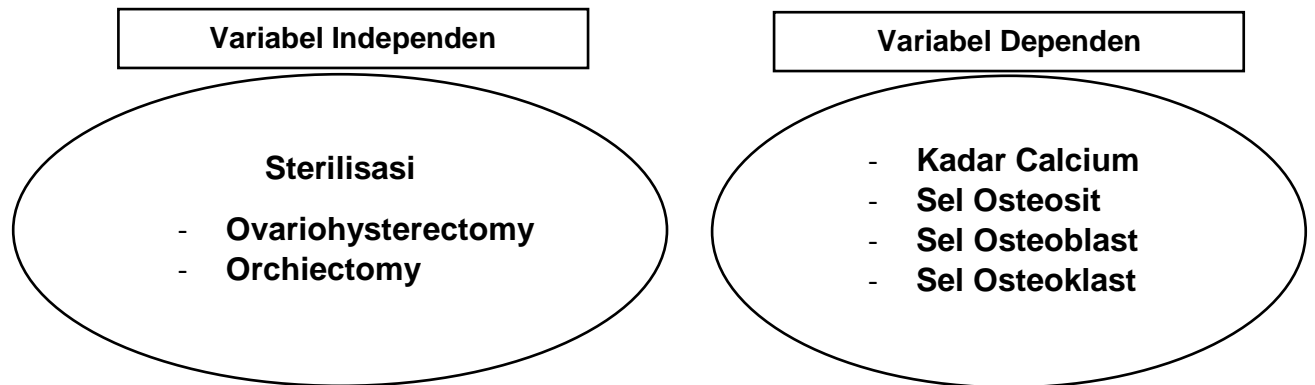
Dengan mengetahui bahwa penurunan estrogen mempengaruhi absorpsi ca oleh usus, sehingga pada kondisi kadar hormone estrogen yang menurun dapat diikuti kadar ca dalam darah yang juga menurun.

F. Kerangka Teori



Gambar 2.9: Kerangka Teori

G. Kerangka Konsep



Gambar 2.10: Kerangka Konsep

H. Hipotesis

Beberapa hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat penurunan kadar calcium darah pada tikus wistar betina ovariohisterectomy dan tikus jantan orchiectomy dibandingkan kadar calcium darah pada tikus betina non ovariohisterectomi dan tikus jantan orchiectomy.
2. Terdapat perubahan sel tulang dengan jumlah sel osteosit dan sel osteoblast lebih sedikit pada tikus wistar betina ovariohisterectomy dan tikus jantan orchiectomy dibandingkan tikus kontrol sedangkan sel osteoklast meningkat pada tikus wistar betina ovariohisterectomy dan tikus jantan orchiectomy dibandingkan pada tikus betina non ovariohisterectomi dan tikus jantan orchiectomy.