

DISERTASI

Patomekanisme Penurunan Densitas Mineral Tulang

Suatu kajian terhadap Peran *Low Density Lipoprotein* (LDL), *Oxidized Low Density Lipoprotein* (oxLDL) dan *Receptor For Activation of Nuclear Factor Kappa β Ligand* (RANKL)

Pathomechanism of Bone Mineral Density Decrease

A study of Role of *Low Density Lipoprotein* (LDL), *Oxidized Low Density Lipoprotein* (oxLDL) and *Receptor For Activation of Nuclear Factor Kappa β Ligand* (RANKL)

SITTI RAFIAH

P0200308013



PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2013

Patomekanisme Penurunan Densitas Mineral Tulang
Suatu Kajian Terhadap Peran *Low Density Lipoprotein (LDL)*, *Oxidized Low Density Lipoprotein (oxLDL)* dan *Receptor For Activation of Nuclear Factor Kappa B Ligand (RANKL)*

Diajukan oleh:

SITTI RAFIAH
Nomor Pokok: P0200308013

Disetujui pada tanggal 12 November 2013

Menyetujui
Tim Promotor

Prof.DR.dr.Edu S. Tehupeiry, SpPD-KR
Promotor
Tanggal:

Dr. Uleng Bahrin, Ph.D, SpPK
Ko-Promotor
Tanggal:

Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran

Prof. Dr. dr. Suryani as'ad M.Sc

DAFTAR TIM PENGUJI

PROMOTOR : Prof.Dr.dr. Edu S. Tehupeiory, SpPD-KR
Ko PROMOTOR : dr. Ulang Bahrun, Ph.D, SpPK
PENGUJI : dr. Ahmad Auliah Yusuf, AHK, Ph.D
Prof.Dr.dr. Suryani As'ad, MSc, Sp.GK
Dr.dr.A. Mardiah Tahir, SpOG
Dr.dr. Burhanuddin Bahar, MS
Dr.dr. Irfan Idris, M.Kes

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Sitti Rafiah
Nomor Pokok : P0200308013
Progran Studi : Ilmu Kedokteran

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

Makassar, Oktober 2013
Yang menyatakan,

Sitti Rafiah

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim.

Assalamu a'laikum Warahmatullahi.Wabarakatuh.

Bismillahi walhamdu lillah washshalatu wassalamu 'ala Rasulillah shallallahu 'alaihi wasallam. Segala puji bagi Allah, penguasa semesta alam. Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Shalawat dan taslim atas junjungan kita Nabi Besar Muhammad SAW dan keluarga, sahabat-sahabat serta para pengikutnya.

Penulis menyadari bahwa keberhasilan penyusunan disertasi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, nasehat dan dorongan dari berbagai pihak. Untuk itu perkenankan penulis menyampaikan ungkapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat: **Prof. Dr. dr. Edu S. Tehupeiory, SpPD-KR** selaku promotor dengan dedikasi yang sangat tinggi dalam membimbing, atas segala pemikiran kritis, masukan ide-ide dan senantiasa memberikan arahan serta meluangkan waktu membimbing ditengah-tengah kesibukannya yang padat untuk kesempurnaan dan penyelesaian disertasi ini, **dr. Uleng Bahrin, Ph.D, SpPK** selaku ko.promotor yang dalam kesibukan tugasnya yang sangat padat senantiasa memberikan bantuan serta bimbingan, nasehat dan arahan mulai dari pengembangan minat terhadap permasalahan penelitian, pelaksanaan penelitian sampai dengan penyempurnaan dalam penyelesaian penulisan disertasi ini.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. **Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, MSc, Sp.GK, Dr. dr. A. Mardiah Tahir, SpOG**, selaku penguji Internal yang telah memberikan saran dan arahan dalam penyempurnaan disertasi ini, **Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MSc** dan **Dr.dr. Irfan Idris, M.Kes** selaku penguji serta pembimbing statistik yang telah memberikan arahan dan membantu dalam analisis data serta memberi bimbingan dalam penyempurnaan penulisan disertasi ini. **dr. Ahmad Auliah Yusuf, AHK, Ph.D** selaku

penguji eksternal yang telah memberikan arahan dan koreksi yang sangat bermanfaat demi kesempurnaan disertasi ini.

2. Rektor, Wakil Rektor Bidang Akademik Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti program pendidikan S3 di program Pascasarjana UNHAS.
3. Direktur, Wakil Direktur dan Staf Program Pascasarjana UNHAS yang telah memberikan fasilitas dalam mengikuti program pendidikan S3.
4. Dekan Fakultas Kedokteran, **Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D**, Ketua Program S3 Ilmu Kedokteran, **Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, MSc**, yang telah memberikan fasilitas dan senantiasa membantu dalam penyelesaian studi di program pendidikan S3.
5. Kepala bagian dan seluruh staf bagian Anatomi FKUH atas dukungan dan kerjasamanya selama penulis menempuh program pendidikan S3 sehingga bisa sampai pada tahap ini. **Prof. dr. A. Razak Datu, PhD (alm) dan dr. Theopilus Buranda, M.Kes (alm)** yang semasa hidupnya senantiasa memberikan dukungan dalam penyelesaian studi.
6. **dr. Yuradiansyah, DR. dr. Hasmawati Basir SPS**, yang turut mendukung dan membantu dalam melakukan pengumpulan dan pemeriksaan sampel penelitian.
7. Teman-teman seperjuangan, **DR. dr. Saidah Syamsuddin, SpKJ, dr. Aidah Juliaty A. Baso, SpA, Dr. drg. Irene R, DR. A. Emelsa, SSi, Apt.** dan teman-teman program studi S3 Ilmu kedokteran angkatan 2008 atas bantuan, motivasi dan kebersamaannya.

Ucapan terimakasih yang setulus-tulusnya dan tak terhingga kepada kedua orang tua tersayang ibu **Hj. St. Zainab** dan bapak **H.M. Husain A.R.** atas doa, kasih sayang, dukungan, semangat serta nasehat yang berharga sehingga bisa seperti sekarang ini. Kepada seluruh saudara penulis **M. Rofiq, SE, Rabiatul Adawiyah, SE, Yusuf Adi A, SE**, yang senantiasa membantu dan mendukung dalam segala hal serta tiada henti berdoa demi kebaikan penulis.

Kepada suami tercinta **Kamal Arfah, SE** sebagai pendamping dalam suka dan duka yang penuh pengertian, sabar dan senantiasa mendoakan, memberikan bantuan dan dukungan moril kepada penulis serta tak henti-hentinya memberi semangat untuk melanjutkan pendidikan hingga pendidikan tertinggi ini. Untuk buah hati kami **Filza** dan **Muhammad Fikri** atas pengertian dan kesabarannya selama ini. Semoga perjuangan kami dapat menjadi sumber motivasi kalian dalam menuntut ilmu dan Allah SWT senantiasa menjadikan kalian anak yang shaleh dan shaleha. Kalian merupakan limpahan karunia yang Allah SWT berikan kepada penulis.

Akhirnya ucapan terima kasih juga disampaikan kepada semua pihak yang namanya tidak mungkin dapat penulis sebutkan satu demi satu tetapi telah banyak membantu dalam penyelesaian disertasi ini

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan karunia-Nya dan limpahan rahmat-Nya serta semoga disertasi ini dapat memberikan manfaat, Aamiin, YRA.

Wassalaamu a'laikum Warahmatullahi.Wabarakatuh.

Makassar, 12 November 2013

Sitti Rafiah

ABSTRAK

SITTI RAFIAH. *Patomekanisme Penurunan Densitas Mineral Tulang Suatu Kajian Terhadap Peran Low Density Lipoprotein (LDL), Oxidized Low Density Lipoprotein (oxLDL) and Receptor For Activation of Nuclear Factor Kappa β Ligand (RANKL)*

Penelitian ini bertujuan mengetahui peran LDL, oxLDL dan RANKL terhadap penurunan densitas mineral tulang. Penelitian dilakukan secara *cross sectional study* terhadap 78 wanita 30-60 tahun yang memiliki kadar Gula Darah Puasa, SGOT/ SGPT, ureum Kreatinin normal. Metode yang digunakan untuk menilai penurunan densitas mineral tulang adalah dengan menggunakan *Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA)* sedang pengukuran LDL dengan metode fotometri menggunakan alat Pentra 400 dan pengukuran oxLDL dan RANKL dengan metode ELISA. Data yang terkumpul diolah dengan uji *Mann-Whitney U* dan *Uji chi-square* untuk melihat perbedaan pada kelompok densitas mineral tulang normal, osteopeni dan osteoporosis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar LDL tidak berbeda pada ketiga kelompok ($p > 0,05$), sedangkan kadar oxLDL tidak berbeda antara kelompok normal dan osteopeni ($p > 0,05$), tetapi berbeda antara kelompok normal dan osteoporosis ($p < 0,05$) serta antara kelompok osteopeni dan osteoporosis ($p < 0,05$). Demikian juga kadar RANKL berbeda antara kelompok ($p < 0,05$) kecuali antara osteopeni dan osteoporosis ($p > 0,05$), serta didapatkan kadar kalsium serum yang tinggi terhadap kelompok osteoporosis ($p = 0,00$). Penelitian ini menyimpulkan oxLDL bersama RANKL berperan terhadap terjadinya penurunan densitas mineral tulang, tetapi sebaliknya kolesterol LDL berperan tidak bermakna terhadap terjadinya penurunan densitas mineral tulang.

Kata Kunci : LDL, oxLDL, RANKL, densitas mineral tulang

ABSTRACT

SITTI RAFIAH. *Pathomechanism of Bone Mineral Density Decrease: A study of Role of Low Density Lipoprotein (LDL), Oxidized Low Density Lipoprotein (oxLDL) and Receptor For Activation of Nuclear Factor Kappa β Ligand (RANKL)*

The research aimed to investigate the role of LDL, oxLDL and RANKL on the *Bone Mineral Density Decrease*. The research use the cross sectional study was conducted in Makassar population against 78 women of 30-60 years old who had the fasting blood glucose content, SGOT/SGPT, kreatinine ureum normal. Method used to assess the bone mineral density decrease was by using Dual Energy X-ray absorptiometry (DXA) which was measured on the lumbar spine and proximal femur, whereas the measurement of LDL content by the photometry method using Petra 400 equipment, the measurement of oxLDL content and RANKL content using ELISA method. The data collected were processed by Mann-Whitney U test and chi-square test to perceive the difference on the normal bone mineral density group, osteopeni and osteoporosis. The research results indicated that the LDL content is not different on the three groups of bone mineral density ($p > 0.05$), whereas the oxLDL content is not different between the normal group and osteopeni group ($p > 0.05$), however, it is different between the normal group and osteoporosis group ($p < 0,05$) and between osteopeni group and osteoporosis group ($p < 0,05$). So is RANKL content is different between the groups ($p < 0.05$) except between the osteopeni and osteoporosis ($p > 0,05$), and the high levels serum calcium content is obtained on the osteoporosis group ($p = 0.00$). The data suggests a role of oxLDL and RANKL on decrease of bone mineral density. We concluded that oxLDL and RANKL contributes to decrease of bone mineral density, but otherwise LDL cholesterol to contribute does not significantly to decreased in bone mineral density.

Key-words: LDL, oxLDL, RANKL, bone mineral density.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR TIM PENGUJI	iii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Tujuan Penelitian	7
D. Manfaat Penelitian	8
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Karakteristik Tulang	9
1. Morfologi tulang	9
2. Komposisi tulang	9
3. Modeling tulang	11

4. Remodeling tulang	11
5. Interaksi osteoblas dan osteoklas	12
6. Puncak massa tulang	14
B. Densitas Mineral Tulang	15
1. Pengertian	15
2. Faktor resiko	16
3. Patogenesis	20
4. Pengukuran densitas mineral tulang	21
5. Respon imun densitas mineral tulang	25
C. LDL, oxLDL, RANKL dan DMT	27
D. RANKL/ RANK/ OPG system	29
E. Kerangka teori	32
F. Kerangka konsep	33
G. Variabel penelitian	34
H. Hipotesis	34
I. Definisi Operasional Variabel / kriteria Obyektif	34
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Rancangan Penelitian	36
B. Lokasi Penelitian	36
C. Waktu Penelitian	36
D. Subyek Penelitian	36
E. Besar Sampel	37
F. Kriteria Subyek	37
G. Tata Laksana Penelitian	38

H. Metode Pemeriksaan	38
I. Analisa Data	41
J. Aspek Etik Penelitian	41
K. Alur Penelitian	42
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	43
1. Gambaran Umum	43
2. Distribusi kadar LDL, oxLDL RANKL, Kalsium serum dengan DMT	45
3. Korelasi kadar LDL, oxLDL, RANKL, Kalsium serum dengan DMT	46
4. Distribusi kadar LDL, oxLDL dengan RANKL	48
5. Distribusi kadar Kalsium serum dengan DMT	51
B. Pembahasan	53
1. Karakteristik sampel	53
2. Distribusi sampel terhadap kelompok umur & DMT	53
3. Distribusi kadar LDL, oxLDL, dengan DMT	56
4. Distribusi kadar oxLDL dan RANKL terhadap DMT	57
5. Korelasi antara kadar oxLDL, RANKL dan Kalsium serum terhadap DMT	60
BAB V. PENUTUP	
A. Simpulan	65
B. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66

DAFTAR GAMBAR

nomor	halaman
1. Diferensiasi sel-sel embriogenik dan generasi sel-sel jaringan	10
2. Resorpsi dan Formasi tulang	13
3. Perubahan Densitas Mineral Tulang	14
4. Peran sitokin inflamasi pada resorpsi tulang	25
5. Oksidasi LDL pada dinding arteri	27
6. Sel preosteoblas/ sel stroma meregulasi osteoklastogenesis	30
7. Jalur pensinyalan osteoklastogenesis	31
8. Median kadar LDL, oxLDL diantara kelompok DMT	47
9. Median kadar oxLDL, RANKL dan kalsium serum diantara kelompok DMT	48
10. Perbedaan kadar kalsium serum diantara kelompok DMT	51

DAFTAR TABEL

nomor	halaman
1. Karakteristik Subjek Penelitian	44
2. Distribusi Kelompok Umur Densitas Mineral Tulang	44
3. Distribusi Kadar LDL, oxLDL, RANKL, kalsium serum terhadap Densitas Mineral Tulang	45
4. Korelasi antara Kadar LDL, oxLDL, RANKL, kalsium serum terhadap Densitas Mineral Tulang	47
5. Distribusi Kadar oxLDL dengan RANKL	48
6. Distribusi Kadar oxLDL, dengan Densitas Mineral Tulang	49
7. Distribusi Kadar RANKL dengan Densitas Mineral Tulang	50
8. Distribusi Kadar oxLDL, RANKL dan Densitas Mineral Tulang	50

DAFTAR LAMPIRAN

nomor	halaman
1. Rekomendasi Persetujuan Etik	74
2. Naskah Penjelasan Untuk Responden (Subyek)	74
3. Formulir Persetujuan Mengikuti Penelitian Setelah Mendapatkan Penjelasan	76
4. Formulir Kuesioner	78
5. Rekapitulasi Data Penelitian	79

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan keterangan
AP1	: Activator Protein 1
APC	: Antigen Presenting Cells
BMP	: bone morphogenetic protein
CREB	: cAMP Respons Element Binding Protein
CSFs	: Colony stimulating factor
DXA	: Dual-Energy X-ray Absorptiometry
ERK	: Extracellular Signal-Regulated Kinase
FGFs	: Fibroblast Growth Factors
IL	: Interleukin
IGF	: Insulin-like Growth factor
IMT	: Index Massa Tubuh
JNK	: <i>c-Jun N-terminal</i> Kinase
Lansia	: Lanjut usia
LDL	: Low Density Lipoprotein
MGP	: Matrix Gla protein
M-CSF	: Macrophage colony stimulating factor
NFAT	: Nuclear Factor of Activated T cell
NF- κ B	: Nuclear Factor kappa β
NFATc1	: Nuclear Factor of Activated Tcell, Cytoplasmic, calcineurin-dependent 1
ODF	: Osteoclast differentiation factor
oxLDL	: Oxidized Low Density Lipoprotein
OPG	: osteoprotegerin
OPGL	: osteoprotegerin Ligand
OPN	: Osteopontin
PMB	: Peak Bone Mass
PTH	: Parathyroid Hormone
PTHrP	: PTH-related peptide

RANKL	: Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B Ligand
RANK	: Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B
ROS	: Reactive oxygen species
SD	: Standar deviasi
TGF	: Tumor Growth Factor
TRAF-6	: TNF Receptor Associated Factor
TRANCE	: TNF-related activation-induced cytokine
TRANS	: TNF-related activation-induced cytokine
TGF	: transforming growth factor
TNF- α	: Tumour necrosis factor α
TNF-SF11	: tumor necrosis factor ligand superfamily 11
WHO	: World Health Organization

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Seiring dengan meningkatnya kualitas pelayanan kesehatan di negara maju dan berkembang maka usia harapan hidup penduduk negara tersebut akan bertambah, hal ini berarti akan bertambah pula populasi penduduk lanjut usia (lansia). Penyakit-penyakit yang ditemukan pada lansia umumnya adalah penyakit metabolik dan degeneratif kronik. Osteoporosis menjadi salah satu kelainan pada lanjut usia yang dapat menurunkan kualitas hidupnya. (Colon E.C., 2007)

Osteoporosis merupakan penyakit yang ditandai dengan pengurangan massa tulang disertai kemunduran mikroarsitektur tulang sehingga terjadi penurunan kualitas jaringan tulang. (WHO, 2003) Keadaan ini dianggap sebagai faktor berisiko tinggi karena tulang akan menjadi rapuh dan mudah retak bahkan patah. (Cooper C., 2002; Johnell O., et.al., 2004) Fraktur akibat osteoporosis selama beberapa dekade terakhir telah dilaporkan meningkat, sehingga mengakibatkan seseorang kehilangan kemandirian dan mobilitas serta dibutuhkan biaya yang cukup besar untuk perawatannya. (Chavassieux P., 2007; Ahlborg H.A., 2010)

Insiden osteoporosis meningkat sejalan dengan meningkatnya populasi lansia. Pada tahun 2005 terdapat 18 juta lansia di Indonesia, jumlah ini akan bertambah hingga 33 juta pada tahun 2020 dengan usia harapan hidup mencapai 70 tahun. (Depkes, 2008) Di Indonesia, 19,7% dari jumlah lansia atau sekitar 3,6 juta orang diantaranya menderita

osteoporosis. (Depkes, 2008) Berdasarkan hasil penelitian Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi dan Makanan Departemen Kesehatan (2005) ditemukan bahwa prevalensi osteopenia di Indonesia mencapai 41,8% dan 10,3% osteoporosis, sekitar 40% dari sampel berusia kurang dari 45 tahun. Angka kejadian fraktur akibat osteoporosis di seluruh dunia mencapai 1,7 juta orang dan diperkirakan angka ini akan terus meningkat hingga mencapai 6,3 juta orang pada tahun 2050 dan 71% kejadian ini akan terdapat di negara-negara berkembang. (WHO, 2003)

Osteoporosis lebih banyak terjadi pada wanita daripada pria. Hal ini disebabkan pengaruh hormon estrogen yang diperkirakan mulai menurun kadarnya dalam tubuh sejak usia 35 tahun sedangkan pada pria hormon testoteron turun pada usia 65 tahun. (WHO, 2003; Alhorg H.G., 2010)

Densitas mineral tulang (DMT) adalah jumlah kandungan mineral tulang dalam setiap unit volume tulang (gr/cm^2). Densitas mineral tulang merupakan kepadatan mineral tulang yang menggambarkan gabungan kumulatif dari kehidupan tulang dahulu dan saat pemeriksaan. Penurunan densitas mineral tulang dapat diakibatkan oleh kegagalan mencapai puncak massa tulang secara optimal selama masa pertumbuhan tulang, aktivitas resorpsi tulang berlebihan yang menyebabkan berkurangnya densitas tulang dan kerusakan mikroarsitektur sistem skeletal serta berkurangnya aktivitas osteoblas dalam merespon peningkatan resorpsi selama remodeling tulang. (Raisz, 2005)

Pengukuran densitas mineral tulang menjadi sangat penting artinya karena diagnosis berat ringan osteoporosis didasarkan pada hasil

pengukuran tersebut, dari hasil densitas mineral tulang ini dapat memperkirakan kekuatan tulang. (WHO (2003) *Dual-Energy X-ray Absorptiometry (DXA)* merupakan baku emas untuk menentukan diagnosis penurunan densitas mineral tulang. (Cooper C., 2002) Penurunan densitas mineral tulang (osteoporosis) baru terdiagnosis ketika fraktur telah terjadi, oleh karena itu perlu adanya suatu penanda yang dapat dijadikan patokan dalam memprediksi kecenderungan seseorang mengalami osteoporosis.

Penurunan DMT akibat gangguan remodelling tulang dapat melalui beberapa jalur, yaitu melalui peningkatan kadar RANKL, peningkatan *Macrophage Colony-Stimulating Factor (M-CSF)*, penurunan kadar *Osteoprotegerin (OPG)*, genetik, penurunan kadar hormon estrogen, penggunaan obat-obatan, asupan nutrisi kurang, gangguan metabolisme di saluran cerna dan ginjal, aktifitas fisik rendah, IMT rendah, paritas/ lama menyusui. Berdasarkan pengalaman empiris didapatkan pasien osteoporosis yang memiliki kadar kolesterol tinggi dan penggunaan obat penurun kolesterol dapat mengurangi resiko patah tulang, (Graham L.S., 2009; Savić T., et al., 2010) serta beberapa penelitian imunologi pada hewan coba (mencit) telah dilaporkan bahwa ada hubungan antara peningkatan kolesterol dengan kejadian penurunan DMT melalui peningkatan respon imun dengan meningkatkan ekspresi RANKL. (Walsh M., 2006) Peningkatan aktivitas dan diferensiasi osteoklas dapat dipicu oleh adanya lipid teroksidasi, yang merupakan suatu proses inflamasi dengan meningkatkan aktifitas RANKL/ RANK penyebab terjadinya

penurunan densitas mineral tulang. Itulah sebabnya RANKL merupakan jalur remodelling tulang penyebab peningkatan osteoklastogenesis yang terpilih pada penelitian ini.

Saat ini penurunan densitas mineral tulang dipandang sebagai suatu keadaan heterogen yang dapat terjadi pada semua usia yang disebabkan faktor genetik, endokrin metabolik dan berbagai stres mekanik. (Yun A.J., Lee P.Y., 2004; Raisz L.G., 2005) Bukti klinis dan molekuler menunjukkan bahwa faktor inflamasi juga memiliki pengaruh terhadap remodeling tulang. Sejumlah sitokin proinflamasi seperti *Tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *Interleukin-1* (IL-1), *Interleukin-6* (IL-6), *transforming growth factor β* (TGF- β), *Insulin-like Growth factor* (IGF-1) telah terlibat dalam regulasi osteoblast dan osteoklas. (Ginaldi L., et al., 2005)

Beberapa pemahaman yang berkembang dari proses remodeling tulang menunjukkan bahwa faktor-faktor yang terlibat dalam proses inflamasi dikaitkan dengan fungsi remodeling tulang, hal ini mendukung teori bahwa inflamasi memberikan kontribusi signifikan pada etiopatogenesis osteoporosis, serta ditemukannya sejumlah sitokin proinflamasi yang terlibat dalam regulasi osteoblast dan osteoklas. (Lorenzo J., 2000; Ginaldi L., et al., 2005)

Low Density Lipoprotein (LDL) merupakan lipoprotein yang mengangkut kolesterol dalam darah dari hepar ke sel-sel tubuh. *Low Density Lipoprotein* sangat mudah mengendap dan teroksidasi dengan senyawa radikal bebas pada subendotel dinding arteri yang kemudian

berinteraksi dengan sel monosit lokal menyebabkan peradangan dan pelepasan sitokin *Macrophage Colony Stimulating Factor* (M-CSF) serta perkembangan sel-sel busa yang merupakan lesi aterogenik. LDL yang menempel pada dinding arteri karena mengalami oksidasi akan masuk ke tunika intima arteri membentuk *oxidized* LDL (oxLDL). (Liu Ming-Lin, 2002)

Telah dilaporkan bahwa aterosklerosis sering disertai dengan gangguan pada remodelling tulang namun hubungan kedua hal ini belum banyak dipahami. (Meziere C., 2009) Penelitian pada hewan coba menunjukkan, bahwa peningkatan oxLDL akan menghambat fosforilasi ERK JNK kinase serta meningkatkan *Reactive oxygen species* (ROS) untuk mengaktifkan RANKL dalam mengaktifkan prekursor osteoklas untuk terjadinya osteoklastogenesis. Peningkatan aktivitas dan differensiasi osteoklas akan menyebabkan terjadinya penurunan densitas mineral tulang. Hasil ini menunjukkan bahwa oxLDL, mempengaruhi differensiasi dan aktivasi osteoklas melalui perangsangan jalur sinyal RANKL, keadaan ini mungkin berkaitan dengan fakta bahwa aterosklerosis disertai dengan gangguan pada remodelling tulang dan vaskular yang menyebabkan osteoporosis dan kalsifikasi vaskuler. (Meziere C., 2009)

Receptor Activator of Nuclear Factor kappa β Ligan (RANKL) merupakan molekul family TNF yang diekspresikan pada progenitor osteoblas. RANKL akan berikatan dengan reseptor RANK yang berada pada permukaan sel prekursor osteoklas, ikatan RANKL/RANK berperan dalam mengatur osteoklastogenesis yang terlibat dalam remodelling

tulang (Blair J.M., et al., 2006). RANKL adalah regulator penting dari suatu proses osteoklastogenesis dalam menentukan DMT. Selain RANKL proses osteoklastogenesis juga diatur oleh M-CSF dan OPG (Khosia S. 2001).

Keterkaitan antara profil lipid, respon imun tubuh dan molekul RANKL dengan densitas mineral tulang sepanjang penelusuran peneliti di Indonesia belum pernah dilaporkan. Penelitian ini mencoba untuk melihat apakah LDL, oxLDL, RANKL yang berpartisipasi dalam sistem imun tubuh memberi kontribusi terhadap densitas mineral tulang yang berkaitan dengan kejadian penurunan DMT. Untuk tujuan ini peneliti melakukan suatu studi pada populasi di Makassar.

B. Rumusan Masalah

1. Adakah korelasi antara LDL dengan densitas mineral tulang?
2. Bagaimanakah korelasi oxLDL dengan densitas mineral tulang?
3. Bagaimanakah korelasi RANKL dengan densitas mineral tulang?
4. Adakah korelasi antara oxLDL dan RANKL dengan densitas mineral tulang?
5. Bagaimanakah korelasi kalsium serum dengan DMT?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui peranan LDL, oxLDL, RANKL dan kalsium serum terhadap patomekanisme penurunan densitas mineral tulang.

2. Tujuan Khusus:

1. Untuk mengetahui korelasi kadar LDL dengan berbagai kondisi densitas mineral tulang.
2. Menganalisa korelasi antara kadar oxLDL dengan berbagai kondisi densitas mineral tulang.
3. Menganalisa korelasi antara kadar RANKL dengan berbagai kondisi densitas mineral tulang.
4. Menganalisa korelasi antara kadar oxLDL dan RANKL terhadap berbagai kondisi densitas mineral tulang.

5. Untuk mengetahui korelasi kadar kalsium serum dengan berbagai kondisi densitas mineral tulang.

D. Manfaat Penelitian

1. Aspek Pengembangan Ilmu

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memperluas pemahaman tentang patomekanisme penurunan densitas mineral tulang terutama aspek imunologi dan biologi tulang.

2. Aspek Aplikasi

Diketahuinya korelasi oxLDL dan RANKL terhadap densitas mineral tulang maka diharapkan oxLDL dan RANKL dapat digunakan sebagai penanda untuk memprediksi penurunan densitas mineral tulang. Selain itu hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemahaman dan data dasar dalam strategi penatalaksanaan penyakit dengan kecenderungan penurunan densitas mineral tulang.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. KARAKTERISTIK TULANG

A.1. MORFOLOGI TULANG

Tulang merupakan kerangka yang menyebabkan tubuh dapat berdiri tegak. Tulang merupakan jaringan yang tersusun oleh sel dan matriks kolagen ekstraselular disebut osteoid. Osteoid ini termineralisasi oleh deposit *calcium hydroxyapatite* sehingga tulang menjadi kaku dan kuat. (Chavassieux P., et al., 2007)

Pada potongan tulang terdapat dua macam struktur yaitu bagian luar disebut tulang kortikal (*stratum compacta*) merupakan bagian tulang yang padat, sangat kokoh, kompak dan kuat sedangkan bagian dalam yang berpori dan berongga disebut tulang trabekular (*stratum spongiosa*). Pada orang dewasa 70-80% dari skeleton merupakan tulang kortikal dan 20-30% tulang trabekular, namun demikian proporsi tulang kortikal dan trabekular dapat bervariasi, misalnya pada vertebra lumbalis tulang trabekular sekitar 70% dari total jaringan tulang dan pada proximal femur serta distal radius sekitar 50%. (Manolagas S.C., & Jilka R.L., 1995; WHO, 2003; Chavassieux P., 2007)

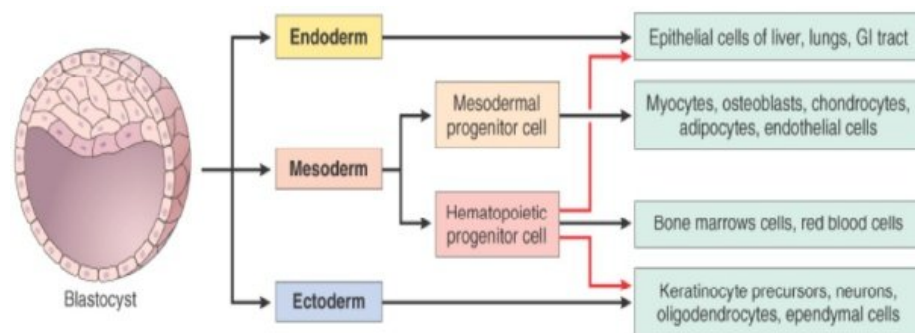
A.2. KOMPOSISI TULANG

Unsur yang menyusun tulang terdiri dari mineral (65%) dan matriks (35%). Matriks tulang terdiri dari sel (2%) yaitu osteoblas: sel pembentuk

matriks tulang, osteosit: sel yang mempertahankan matriks tulang dan osteoklas: sel yang meresorpsi tulang serta osteoid (98%) matriks tulang yang mengandung sedikit mineral.

Komponen anorganik merupakan 70% dari seluruh massa tulang sedangkan komponen organik sekitar 20% dan air 10%. Kolagen tulang merupakan komponen organik terbesar yang membentuk dan memungkinkan tulang menahan regangan sedangkan anorganik atau mineral berfungsi menahan beban tekanan.

Sel-sel tulang berasal dari stem sel tulang yang berkembang menjadi mesoderm progenitor kemudian membentuk jalur mesenkim (preosteoblas, osteoblas, osteosit dan *bone lining cells*) dan jalur hemopoetik (preosteoklas, osteoklas) (Williams P.L., 1980; WHO, 2003)



Gambar 1. Diferensiasi sel-sel embrionik dan generasi sel-sel jaringan (Williams PL, 1980)

A.3. MODELING TULANG

Pembentukan tulang dimulai pada saat masih janin (akhir minggu ke-4) dan akan bertumbuh dan berkembang terus sampai umur 30-35 tahun. Pada usia ini disebut modeling tulang karena merupakan masa dimana terbentuknya model tulang seseorang. Pada usia 30-35 tahun pertumbuhan tulang sudah selesai kemudian dilanjutkan dengan proses remodeling tulang yaitu proses pergantian tulang yang sudah tua dengan tulang baru yang masih muda. Secara alami setelah pembentukan tulang selesai, maka akan terjadi penurunan massa tulang. Hal ini bisa dicegah dengan menjaga asupan gizi setelah puncak massa tulang tercapai. Puncak massa tulang dipertahankan untuk mencegah penurunan massa tulang, dimana penurunan massa tulang ini akan mengakibatkan berkurangnya kepadatan tulang, dan tulang akan mengalami porous yang disebut osteoporosis. (Chavassieux P., 2007; Racci N., 2008)

A.4. REMODELING TULANG

Massa tulang yang normal merupakan bentuk keseimbangan antara formasi dan resorpsi tulang. Keseimbangan ini dilaksanakan oleh osteoblas dan osteoklas pada unit remodeling tulang. Remodeling dibutuhkan untuk menjaga kekuatan tulang. Remodeling tulang terjadi setelah puncak massa tulang tercapai sampai selama kita hidup yang konstan melalui proses resorpsi dan formasi tulang. Sel yang berperan dalam remodeling tulang adalah osteoklas yang berasal dari stem sel hemopoetik dan osteoblas yang berasal dari stem sel mesenkim sumsum

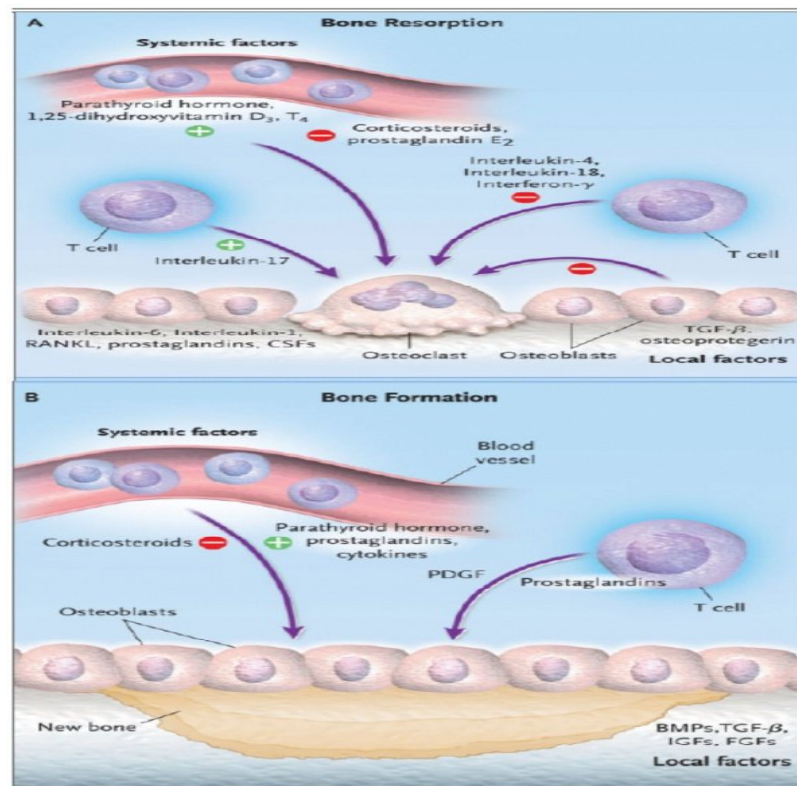
tulang. Resorpsi tulang dilakukan oleh osteoklas sedangkan formasinya oleh osteoblas. ([Fournier](#) P.E., et al., 1997; WHO, 2003)

Secara teratur tulang mengalami pergantian yang dilaksanakan melalui 2 proses yaitu modeling dan remodeling, pada keadaan normal jumlah tulang yang dibentuk sebanding dengan tulang yang dirusak, ini disebut *positive coupled* sehingga masa tulang yang hilang nol. Bila tulang yang dirusak lebih banyak, maka akan terjadi kehilangan masa tulang yang disebut *negative coupled*. (Lindsay R., 2007)

A.5. INTERAKSI OSTEOLAS DAN OSTEOKLAS

Pembentukan osteoklas dikontrol oleh beberapa hormon, seperti hormon paratiroid, 1,25-dihydroxycholecalciferol, hormon estrogen dan testosteron. Lingkungan mikro dari sumsum tulang juga berperan sebagai sumber sitokin seperti *Tumor Necrosis Factors* (TNF-s) dan interleukin, yang mengatur aktivitas dan diferensiasi osteoklas. Aktivitas dan diferensiasi osteoklas juga dimediasi oleh interaksi dari kedua molekul yang dihasilkan oleh osteoblas yaitu OPG dan RANKL, kedua komponen ini mempunyai efek yang berlawanan dalam remodeling tulang. *Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B ligan* (RANKL) akan mengikat *Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B* (RANK) pada sel prekursor osteoklas untuk aktivasi dan diferensiasi osteoklas, sedangkan OPG bekerja sebagai reseptor umpan dengan menghambat RANKL berikatan dengan receptor RANK sehingga menghambat diferensiasi osteoklas. (Müller R.J. & Richards R.G., 2003)

Peran sitokin pada interaksi osteoblas dan osteoklas melalui mekanisme hormonal yaitu kalsitonin menghambat resorpsi tulang dengan penurunan TGF- β pada osteoblas, sedangkan estrogen berpengaruh terhadap resorpsi tulang dengan menghambat produksi sitokin, terutama TNF- α , IL-1, IL-6 dan *Macrophage Colony Stimulating Factor* (M-CSF) pada sel stoma sumsum tulang. (Suda T., 1999, Krassas G.E., 2001)

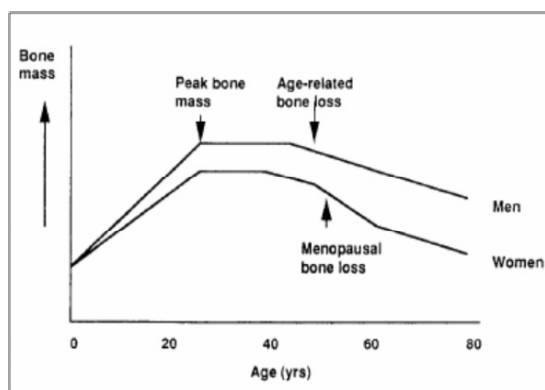


Gambar 2. Resorpsi dan Formasi tulang (Suda T., 1999)

A.6. PUNCAK MASSA TULANG (Peak bone mass = PBM)

Puncak pertumbuhan massa tulang adalah jumlah jaringan tulang di akhir pematangan skeletal. Ini merupakan penentu utama dari risiko terjadinya

penurunan DMT. Massa tulang akan tetap konstan setelah puncak massa tulang dicapai pada usia dewasa muda (30-35 tahun) yang menyebabkan kebutuhan gizi pada masa ini lebih tinggi daripada fase kehidupan lainnya. (Heaney R.P., 2000; Almatsier S., 2002) Pertumbuhan tulang terjadi secara cepat pada saat remaja karena 40-50% dari total skeleton dibentuk, (Kretchmer, 1997) apabila pada masa ini kalsium yang dikonsumsi kurang dan berlangsung dalam waktu yang cukup lama, PBM tidak akan terbentuk secara optimal. (Kalkwarf et.al, 2003) Pada usia muda menjelang 20 tahun proses pembentukan tulang sangat aktif jauh melampaui proses penyerapan tulang, setelah puncak massa tulang dicapai pada umur 30 tahun, maka kurva akan mendatar (*plateau*) dan kemudian sekitar umur 40 tahun kurva mulai menurun. Kecepatan laju penurunan sekitar ± 1 % per tahun. (Bonjour J.P., 1998; Wren T.A., 2007)



Gambar 3. Perubahan densitas mineral tulang (Bonjour J.P., 1998)

B. DENSITAS MINERAL TULANG

B.1. PENGERTIAN

Densitas mineral tulang adalah kepadatan mineral tulang yang menggambarkan gabungan komulatif dari kehidupan tulang dahulu dan saat pemeriksaan. Densitas mineral tulang ditentukan oleh jumlah mineral tulang dalam setiap satuan luas bagian tulang. Semakin tinggi kandungan mineralnya, semakin padat massa tulang dan semakin besar kekuatan tulang. Dalam keadaan normal, tulang kita senantiasa berada dalam keadaan seimbang antara proses formasi dan resorpsinya. Fase yang satu akan merangsang terjadinya fase yang lain, dengan demikian tulang senantiasa beregenerasi dalam suatu keadaan yang seimbang. Keadaan tersebut menyebabkan kepadatan massa tulang dan kekuatannya selalu tetap.

Predisposisi penurunan densitas mineral tulang dimulai sejak masa kanak-kanak dan remaja. Oleh karena itu tahap pencegahan lebih ditekankan sejak usia dini melalui perbaikan proses fisiologi seperti peningkatan massa tulang selama pertumbuhan sampai mencapai puncak massa tulang (WHO, 2003)

Pada osteoklastogenesis, osteoklas bekerja lebih aktif dibandingkan dengan osteoblas, akibatnya kepadatan tulang berkurang dan menyebabkan kerapuhan tulang, jika massa tulang yang hilang sedemikian besarnya maka benturan ringan pun dapat menyebabkan fraktur tulang. Tulang-tulang yang sering mengalami fraktur yaitu vertebra lumbalis, proximal femur dan distal radius. (Chavassieux P., 2007)

Diferensiasi dan fungsi osteoklas pada proses osteoklastogenesis diatur oleh (Khosia S., 2001; Hadjidakis & Androulakis, 2006) :

a. *Receptor for Activation of Nuclear Factor Kappa β Ligand* (RANKL).

Receptor for Activation of Nuclear Factor Kappa β Ligand merupakan suatu ligand yang diekspresikan pada permukaan sel osteoblas dan berikatan dengan RANK, reseptor yang berada pada permukaan sel prekursor osteoklas. Pengikatan RANKL ke RANK menyebabkan diferensiasi sel prekursor osteoklas menjadi sel osteoklas matang.

b. *Macrophage Colony-Stimulating Factor* (M-CSF)

Macrophage Colony-Stimulating Faktor diperlukan untuk diferensiasi dan proliferasi prekursor osteoklas dari progenitor hemopoetik. Molekul ini diekspresikan oleh osteoblas. M-CSF membantu diferensiasi osteoklas dengan berikatan pada reseptornya (c-Fms) pada prekursor osteoklas.

3. *Osteoprotegerin* (OPG)

Osteoprotegerin dihasilkan oleh osteoblas, merupakan reseptor umpan yang akan berikatan dengan RANKL. Ketika OPG berikatan dengan RANKL maka akan mencegah RANKL berikatan dengan RANK, sehingga menghambat pematangan osteoklas.

B.2. FAKTOR RESIKO

Pada tahap awal penurunan densitas mineral tulang tidak memberikan keluhan dan gejala spesifik sampai terjadinya fraktur sehingga penyakit pada penurunan densitas mineral tulang (osteoporosis) biasa disebut sebagai *The Silent Thief*. Anamnesis terperinci tentang faktor risiko yang mungkin dimiliki sangat membantu dalam menegakkan diagnosis. Analisis faktor risiko ini penting untuk menentukan perlu atau tidaknya dilakukan pemeriksaan densitas mineral tulang yang merupakan modalitas utama dalam menegakkan diagnosis. Penurunan densitas mineral tulang dapat disebabkan oleh multifaktor dan yang merupakan faktor risiko adalah :

- a. Umur, merupakan salah satu faktor terpenting bahkan tanpa adanya faktor risiko yang lain tulang porous dapat dideteksi sebelum menopause. Dilaporkan penurunan DMT pada proksimal femur telah terjadi pada dekade ketiga kehidupan (Cooper C., 2002). Waught E.J., dkk melaporkan bahwa wanita sehat yang berusia 40-60 tahun merupakan faktor risiko penting pada kejadian penurunan densitas mineral tulang.
- b. Ras. Ras kulit putih (Kaukasia dan Asia) mempunyai densitas massa tulang lebih rendah dari ras kulit hitam (Afrika)
- c. Sex. Osteoporosis lebih banyak terjadi pada wanita dari pada pria.

- d. Genetik. Sambrook P., 2006 melaporkan gen yang mempengaruhi DMT yaitu *Vitamin-D reseptor*, *collagen 1 α 1*, *LDL receptor-related protein 5* (LRP5).
- e. Hormon estrogen. Estrogen merupakan regulator pertumbuhan dan homeostasis tulang yang penting. Estrogen berpengaruh positif terhadap mineralisasi tulang, diperlukan tidak hanya untuk memaksimalkan puncak massa tulang tetapi juga untuk mempertahankannya. Estrogen memiliki efek langsung dan tak langsung pada tulang. Efek tak langsung berhubungan dengan homeostasis kalsium yang meliputi regulasi absorpsi kalsium di usus, modulasi 1,25(OH)₂D, ekskresi kalsium di ginjal dan sekresi PTH. Terhadap sel tulang, estrogen akan meningkatkan formasi osteoblas dan menghambat resorpsi osteoklas. Penurunan kadar estrogen dapat menyebabkan peningkatan produksi sitokin spesifik seperti TNF- α , IL-1, IL-6. Peningkatan sitokin ini dapat merangsang pembentukan RANKL dan M-CSF serta menghambat pembentukan OPG pada osteoblast sehingga aktivitas osteoklas meningkat. (Groff & Gropper, 2000; WHO, 2003)
- f. Obat-obatan. Obat-obat yang dapat mempengaruhi risiko terjadinya penurunan DMT melalui apoptosis osteoblas dan penghambatan sintesis kolagen oleh osteoblas, seperti obat steroid (prednison 7,5 mg/hari selama 6 bulan), antikonvulsan, obat pengganti tiroxin. (Liu R.H., dan Werth V.P., 2006)

- g. Faktor gizi. Faktor gizi yang dapat menyebabkan kehilangan massa tulang adalah kekurangan kalsium, fosfat, vitamin D, vitamin K, protein. Kalsium merupakan mineral terbanyak dalam tubuh kurang lebih 1000 gram kalsium dibutuhkan untuk mineralisasi tulang dan memaksimalkan puncak masa tulang agar dapat mempertahankan densitas tulang yang normal (Liliana, 2000; Kass J.H. & Wolff, 2004). Vitamin D mempercepat penyerapan kalsium dalam sistem pencernaan. (Lips P., 2001)
- h. Aktivitas fisik. Groff & Gropper (2000) membuktikan bahwa aktivitas fisik berhubungan positif dengan penambahan kepadatan tulang vertebra.
- i. Kebiasaan merokok. Merokok berhubungan dengan masa tulang yang rendah dengan menurunkan penyerapan kalsium di saluran cerna. (Massey & Whiting, 1993)
- j. Kebiasaan minum kopi. Kafein berhubungan dengan gangguan keseimbangan kalsium. Massey & Whiting, 1993 melaporkan bahwa, 300-400 mg kafein akan meningkatkan urin kalsium sebanyak 0,25 μmol atau 10 mg/hari dan meningkatkan sekresi kalsium ke dalam usus.
- k. Kebiasaan minum alkohol. Laitinen & Valimiki, 1991 melaporkan bahwa orang-orang yang meminum alkohol secara berlebihan akan menurunkan aktivitas osteoblas serta meningkatkan kadar hormon parathyroid.

- l. Indeks Massa Tubuh (IMT). Semakin kurus dan kecil tubuh seseorang maka semakin berisiko untuk mengalami osteoporosis (Groof & Gropper, 2000). Klasifikasi IMT menurut WHO dikategorikan normal jika IMT 18,5 – 24,9 kg/m².
- m. Paritas merupakan salah satu faktor risiko osteoporosis, karena pembentukan kerangka tulang janin akan mengambil 3% kalsium tulang ibu. Jika asupan kalsium ibu kurang, maka kalsium untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan janin diambil dari tulang ibu.
- n. Menyusui. Katz, 2000 melaporkan bahwa transfer kalsium dari serum ibu ke air susu setelah melahirkan akan meningkat, untuk memenuhi kebutuhan ini, kepadatan tulang ibu akan berkurang dengan kecepatan 1% per bulan.

B.3. PATOGENESIS

Hasil akhir dari proses penurunan DMT adalah fraktur, yang dapat terjadi sebagai akibat dari trauma minimal atau bahkan secara spontan. Massa tulang merupakan penyebab utama kerapuhan tulang, tetapi perubahan kualitatif dalam matriks tulang juga harus dipertimbangkan. Dua faktor yang menentukan tingkat massa tulang adalah diperolehnya usia puncak massa tulang serta durasi dan laju kehilangan tulang (Hanada R, 2010). Puncak massa tulang dicapai selama tiga dekade pertama kehidupan. Faktor genetik, endokrin metabolik, inflamasi serta stres mekanik pada skeletal dilaporkan memainkan peran penting dalam menentukan puncak massa tulang. Faktor sistemik (1,25(OH)₂D, PTH, kalsitonin, hormon

estrogen, androgen) dan faktor lokal (sitokin dan *growth factor*) telah diketahui berpartisipasi dalam pengaturan remodeling tulang. (Raisz L.G., et al., 2005; Sambrook P., 2006)

B.4. PENGUKURAN DENSITAS MINERAL TULANG

Densitas/ kepadatan mineral tulang berhubungan dengan kekuatan tulang dan risiko fraktur. Pemeriksaan densitometri tulang merupakan pemeriksaan yang akurat untuk menilai densitas mineral tulang, sehingga dapat digunakan untuk menilai faktor prognosis dan prediksi fraktur. Penilaian DMT menurut kriteria WHO dengan T score (-1) setara dengan penurunan densitas mineral tulang sebesar 10-12%, sedangkan pemeriksaan radiologi biasa, untuk mendeteksi DMT secara dini kurang memuaskan karena pemeriksaan ini baru dapat mendeteksi setelah terjadi penurunan densitas mineral tulang lebih dari 30%. (WHO, 2003)

Pengukuran DMT dapat dilakukan pada vertebra lumbal, proksimal femur, distal radius dan seluruh tubuh. Secara rutin, untuk diagnosis osteoporosis cukup diperiksa pada vertebra lumbal dan proksimal femur, jika terdapat keterbatasan biaya dapat dipertimbangkan pemeriksaan hanya pada 1 daerah, yaitu pada vertebra lumbal untuk wanita yang berumur kurang dari 60 tahun, atau proksimal femur pada wanita yang berumur lebih dari 60 tahun dan pada pria.

Beberapa metode yang dapat digunakan untuk menilai densitas mineral tulang (Cooper C. 2002) adalah

- a. *Dual-Energy X-ray Absorptiometry (DXA)*. Pemeriksaan dengan DXA merupakan baku emas untuk menentukan diagnosis osteoporosi. Pemeriksaan ini menggunakan dua sinar-X berbeda. Sejumlah sinar-x dipancarkan pada bagian tulang dan jaringan lunak yang dibandingkan dengan bagian lain. Tulang yang mempunyai kepadatan tulang tertinggi hanya mengizinkan sedikit sinar-x melewatinya. DXA merupakan metode yang paling akurat untuk mengukur densitas mineral tulang. DXA dapat mengukur sampai 2% mineral tulang yang hilang setiap tahun. Penggunaan alat ini bersifat non invasif dengan akurasi tinggi, sangat cepat dan hanya menggunakan radiasi dengan dosis yang rendah (3 mrad). Unit pengukuran densitas tulang dengan DXA adalah densitas area (gr/cm^2).
- b. *Peripheral Dual-Energy X-ray Absorptiometry(P-DXA)*, merupakan hasil modifikasi dari DXA.
- c. *Dual Photon Absorptiometry (DPA)*, menggunakan zat radioaktif untuk menghasilkan radiasi.
- d. *Quantitative Ultrasound (QUS)*. Pemeriksaan ini menggunakan alat Ultrasound dengan mengukur os calcaneus. (Dufresne TE, 2003)
- e. *Quantitative Computed Tomography (QTC)* adalah suatu model dari CT-scan.

Hasil pengukuran densitas mineral tulang dapat dilaporkan dalam beberapa bentuk yaitu:

a. *T-score*

T-score adalah hasil pengukuran densitas mineral tulang yang dibandingkan dengan nilai rata-rata DMT sehat pada dewasa muda (30 tahun), dimana pada umur tersebut tercapai puncak massa tulang. Nilai densitas mineral tulang selanjutnya dilaporkan sebagai standar deviasi (SD) dari mean kelompok yang direferensikan tanpa memperhatikan umur yang diukur densitas mineral tulangnya. Semakin negatif nilai *T-score*, maka semakin rendah DMT dan semakin besar kemungkinan terjadi fraktur.

Nilai negatif (-) menunjukkan bahwa tulang mempunyai DMT lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata DMT sehat pada usia 30 tahun. Nilai positif (+) menunjukkan bahwa tulang mempunyai DMT lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata DMT sehat pada usia 30 tahun.

b. *Z-score*

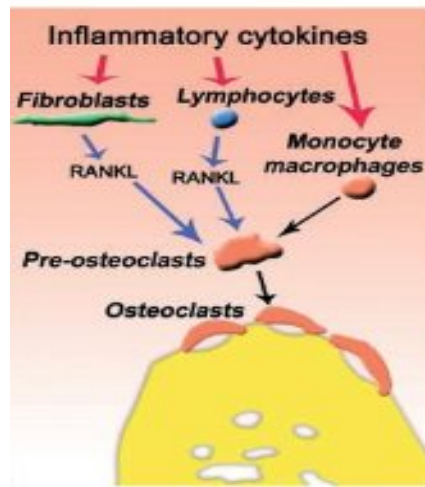
Nilai DMT yang diperoleh dibandingkan dengan hasil lain dari kelompok yang mempunyai umur, jenis kelamin dan ras yang sesuai. Nilai ini diberikan dalam standar deviasi (SD) dari nilai rata-rata kelompoknya. Nilai *Z-score* antara -2 dan +2, jika skor lebih negatif dari (-2) misalnya (-2,5) maka angka ini menunjukkan kehilangan DMT. Nilai negatif (-) menunjukkan bahwa tulang mempunyai DMT lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata DMT yang lain dalam kelompoknya. Nilai positif (+) menunjukkan bahwa tulang mempunyai DMT lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata DMT yang lain dalam kelompoknya.

Dalam menentukan beratnya penurunan DMT maka WHO menetapkan hasil pengukuran dalam T-score (WHO, 2003), sebagai berikut:

- Osteoporosis berat yaitu bila didapatkan densitas mineral tulang $<-2,5$ standar deviasi (SD) dibawah rerata puncak massa tulang wanita dewasa muda normal disertai dengan fraktur (T-score <-2.5 SD, disertai fraktur).
- Osteoporosis yaitu densitas mineral tulang $<-2,5$ SD di bawah nilai rerata puncak massa tulang wanita dewasa muda normal (T-score <-2.5 SD).
- Osteopenia (densitas mineral tulang rendah) adalah densitas mineral tulang antara -1 SD dan $-2,5$ SD di bawah rerata puncak massa tulang wanita dewasa muda normal (T-score antara -1 dan -2.5 SD).
- Normal bila densitas mineral tulang >-1 SD di bawah nilai rerata puncak massa tulang wanita dewasa muda normal (T-score >-1 SD).

Klasifikasi di atas akan memberikan peringatan bahwa derajat densitas mineral tulang tertentu, seseorang menunjukkan resiko untuk mengalami fraktur. Semakin rendah densitas mineral tulang maka semakin besar resiko untuk mengalami fraktur.

B.5. RESPON IMUN DAN DENSITAS MINERAL TULANG



Gambar 4. Peran sitokin inflamasi pada resorpsi tulang

Para ilmuwan telah menemukan hubungan antara resiko penurunan densitas mineral tulang dan respon imun. Penelitian menunjukkan bahwa sistem kekebalan tubuh berperan dalam terjadinya penurunan densitas tulang yang meningkatkan risiko patah tulang dan kecacatan. (Ginaldi L., et al., 2005).

Limfosit T, monosit dan makrofag telah diketahui memainkan peran penting dalam penurunan densitas mineral tulang dan kalsifikasi vaskuler. Mediator kimia dari metabolisme tulang seperti *matrix Gla protein* (MGP), osteocalcin, *bone morphogenetic protein* (BMP), *osteopontin* (OPN), OPG, RANKL juga ditemukan dalam lesi aterosklerotik. (Danilevicius C.F., 2007)

Monosit merupakan prekursor makrofag di semua jaringan dan terdapat di setiap fase aterogenesis. Makrofag derivat monosit merupakan *antigen presenting cells* (APC) yang mensekresi sitokin, seperti M-CSF. Secara in vitro, pajanan terus menerus terhadap M-CSF memungkinkan

makrofag bertahan hidup dan bermultiplikasi dalam lesi. Awalnya, diduga hanya miosit yang berproliferasi selama perkembangan lesi aterosklerotik, namun akhirnya diketahui bahwa replikasi makrofag, monosit dan limfosit T berperan sama pentingnya. Kemampuan makrofag dalam menghasikan sitokin (misalnya TNF- α , IL-1 dan TGF- β) berperan penting dalam lesi aterosklerotik yang secara potensial meningkatkan respon inflamasi.

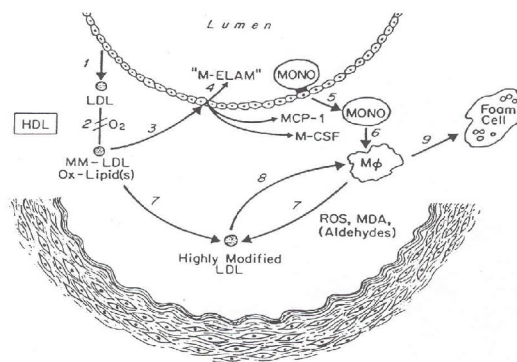
Interleukin-1 berperan utama dalam resorpsi tulang dan merangsang mitogenik osteoklas. Fungsi ini diperkuat oleh TNF- α bekerja sebagai sinergis dengan PTH. Interleukin-6 merupakan protein fase akut yang memperkuat resorpsi tulang bersama IL-1 dan TNF- α melalui rangsangan mitogenesis dari sel osteoklas. (Gor A., et al., 2000)

Transforming growth factor banyak ditemukan pada matriks tulang, TGF aktif selama proses pembentukan tulang serta memperkuat aktivitas osteoblas dengan meningkatkan sintesa kolagen dan kecepatan formasi tulang serta menghambat diferensiasi osteoklas. Hormon sistemik yaitu PTH dan 1,25 (OH) $_2$ D menstimulasi formasi osteoklas dengan memicu ekspresi RANKL pada sel-sel stroma sumsum tulang dan osteoblas. (Sato K., et al., 2006)

C. LDL, oxLDL DAN DENSITAS MINERAL TULANG

Hiperkolesterolemia telah dikaitkan dengan penurunan densitas mineral tulang. Beberapa penelitian melaporkan adanya hubungan positif antara kejadian osteoporosis dengan kadar kolesterol (Graham L.S., 2009;

Makovey J., et al., 2009). Beberapa pasien osteoporosis memiliki kadar kolesterol tinggi, penyumbatan pembuluh darah jantung, peningkatan risiko stroke. Dilaporkan obat penurun kolesterol dapat mengurangi kejadian patah tulang, namun untuk menunjukkan mekanisme yang tepat dalam menghubungkan kejadian tersebut masih belum jelas dipahami (Grahama L.S., et al., 2009). Penelitian Orozco dkk menemukan pada wanita postmenopause dengan profil lipid atherogenik mempunyai densitas mineral tulang vertebra lumbalis dan femur yang rendah (osteopenia) dibandingkan dengan yang mempunyai profil lipid normal.



Gambar 5. Oksidasi LDL pada dinding arteri (Berliner et al. 1995)

Proses oksidasi LDL dimulai dengan masuknya LDL ke lapisan subendotel arteri yang selanjutnya mengalami modifikasi (teroksidasi) oleh radikal bebas menjadi MM-LDL (Midly Modified-LDL). Modifikasi LDL akan menstimulasi sel endotel untuk mensekresikan molekul adhesi yaitu *monocyte chemotactic protein I* (MCP-I) dan *macrophage colony stimulating factor* (M-CSF). Molekul-molekul tersebut menyebabkan

terjadinya adhesi monosit pada endotel sehingga migrasi monosit ke lapisan subendotel serta terjadi aktivasi dan diferensiasi makrofag. Selanjutnya makrofag akan melepaskan ROS dan senyawa aldehid sehingga LDL akan teroksidasi sempurna membentuk Highly Modified-LDL (HM-LDL). Low Density Lipoprotein yang telah teroksidasi sempurna oleh reseptor makrofag akan membentuk foam sel yang merupakan lesi awal aterosklerotik. (Berliner, et al., 1995)

Oxidized LDL bersifat sitotoksik karena terjadi degradasi protein LDL (*Apolipoprotein β*) sehingga oxLDL menjadi lebih reaktif terhadap jaringan sekitarnya yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan reaksi inflamasi, jika HDL ada dalam konsentrasi yang cukup maka pembentukan oxLDL dapat dihambat dan reaksi inflamasi dapat dicegah. (Liu Ming-Lin, 2002)

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa aterosklerosis sering disertai dengan gangguan pada remodelling tulang. (Samy I., 2004; Mazière C., et al., 2009) *Oxidized* LDL mempengaruhi remodelling tulang dengan menghambat signaling fosfat melalui jalur ERK/ JNK kinase, jalur ini akan memicu oxLDL meningkatkan *reactive oxygen species* (ROS) dan ion Ca^{2+} intrasel. (Boyle W.J., 2003; Maziere C., et al., 2009) Ion Ca^{2+} akan mengaktifkan sumsum tulang untuk diferensiasi osteoklas serta merangsang calsineurin untuk mengaktifkan *Nuclear Factor of Activated T cell* (NFAT) dan meningkatkan molekul RANKL agar mengaktifkan prekursor osteoklas untuk terjadinya osteoklastogenesis yang dapat meningkatkan resorpsi tulang. (Li j., 2000; Kim M.S., et al., 2009; Maziere

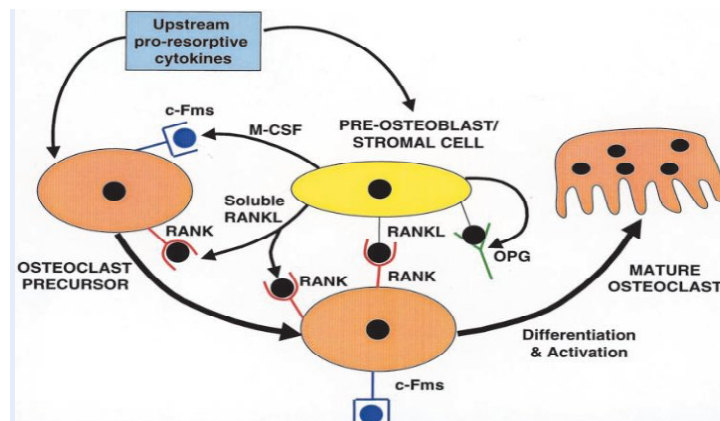
C., et al., 2010b) *Nuclear Factor of Activated T cell* juga memainkan peran penting dalam mengontrol gen sitokin yang terlibat dalam respon inflamasi (Maziere C., et al., 2004), namun jalur dimana RANKL menginduksi ossilasi Ca^{2+} untuk osteoclastogenesis sampai saat ini masih kurang dipahami. (Maziere C., et al., 2010b)

D. RANK/ RANKL/ OPG/ M-CSF SISTEM

Receptor Activator of Nuclear Faktor kappa β Ligan (RANKL)/ OPG/ M-CSF adalah protein yang diekspresikan oleh berbagai sel selain osteoblas, termasuk monosit, makrofag, sel T dan sel B, sedangkan reseptor RANK merupakan protein yang diekspresikan oleh prekursor osteoklas. (Anderson D.M., 1997)

Osteoklastogenesis diatur oleh interaksi antara RANKL dan reseptor RANK yang diperlukan untuk diferensiasi dari progenitor osteoklas menjadi osteoklas dewasa, (Nakagawa N., 1998)

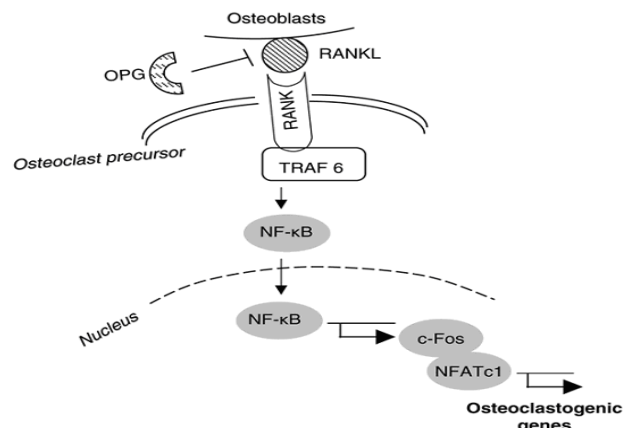
Osteoprotegerin dihasilkan oleh osteoblas, merupakan suatu reseptor umpan untuk RANKL yang akan menghambat osteoklastogenesis dengan menghambat interaksi RANKL/RANK. RANK/RANKL/OPG merupakan regulator utama dalam resorpsi tulang. (Yasuda H, 1998; Khosla S., 2001; Grimaud E., 2003; McClung M., 2007) Rasio RANKL/OPG merupakan parameter kunci dalam mengatur metabolisme tulang. (Groff & Gropper, 2000)



Gambar 6. Sel preosteoblast/ sel stroma meregulasi osteoclastogenesis (Khosla S, 2001

Secara fisiologis aktivasi osteoklas pada resorpsi tulang diawali dengan adanya pelepasan *Macrophage Colony-Stimulating Factor* (M-CSF) oleh osteoblas. *Macrophage Colony-Stimulating Factor* akan berikatan dengan reseptor c-Fms yang terdapat pada permukaan prekursor osteoklas sehingga merangsang diferensiasi dan proliferasi progenitor hemopoetik menjadi prekursor osteoklas yang akan mengekspresikan reseptor RANK. (Khosla S., 2001)

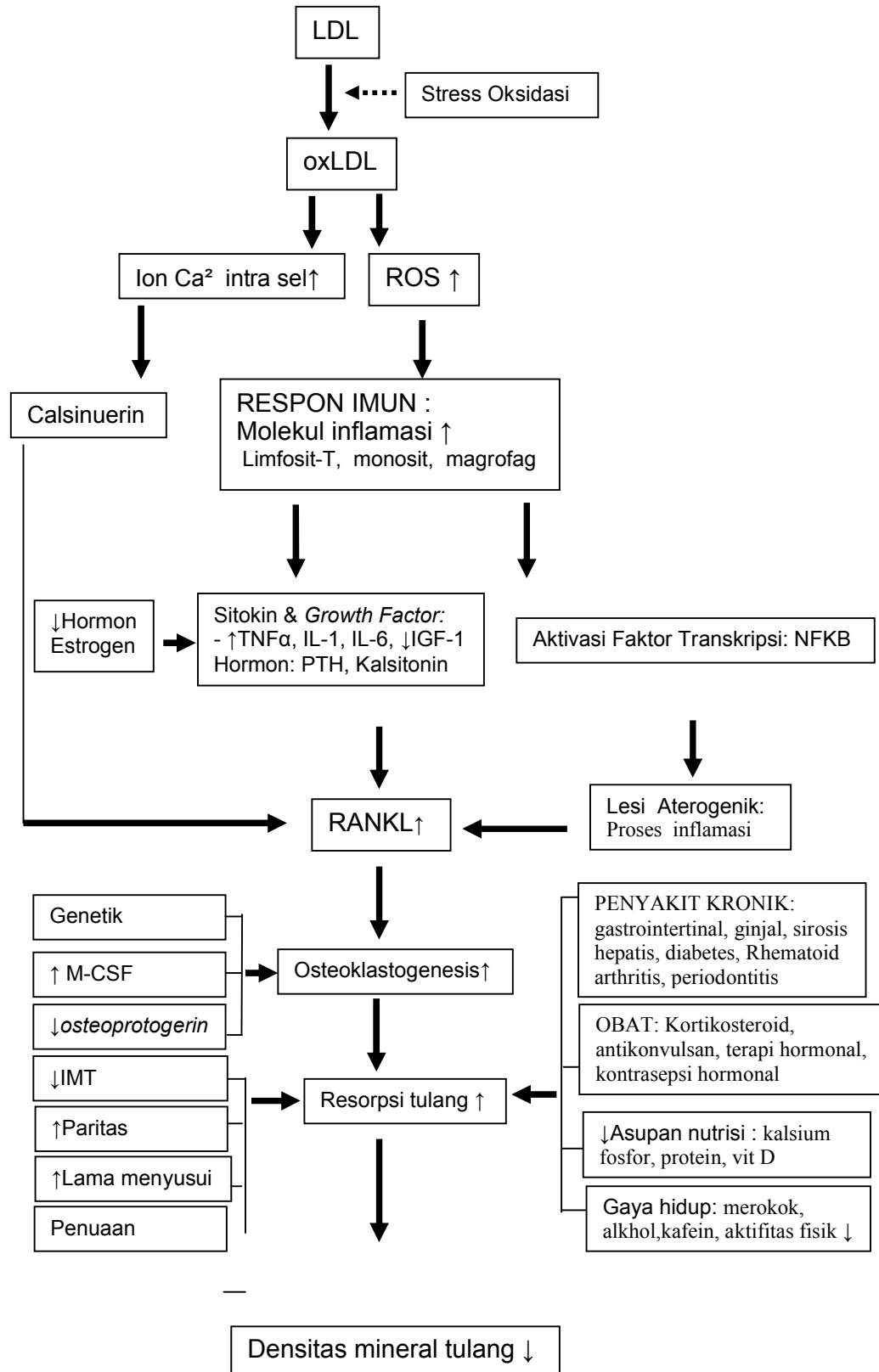
Receptor Activator of Nuclear Faktor kappa β RANKL/OPG sistem mengaktivasi pembentukan, fungsi dan diferensiasi osteoklas yang terlibat dalam remodeling tulang. (Blair J.M., et al., 2006) Osteoklastogenesis diregulasi oleh interaksi antara RANKL dan reseptor RANK (Nakagawa N., et al., 1998). Beberapa faktor termasuk sitokin dan hormon akan merangsang ekspresi RANKL. (Boyle W.J., 2003)



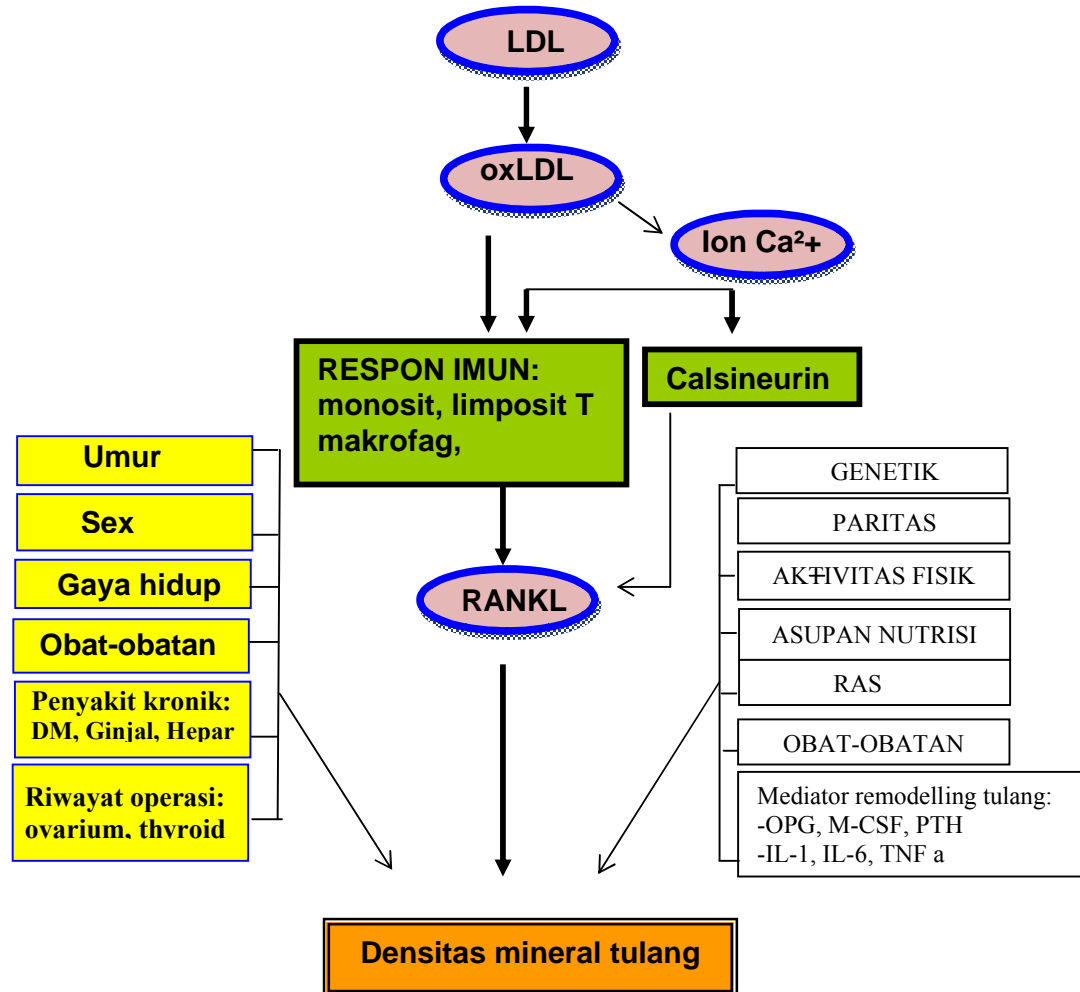
Gambar 7. Jalur pensinyalan osteoklastogenesis

Dalam kondisi fisiologis, RANKL diproduksi oleh osteoblas yang akan berikatan dengan reseptor RANK pada permukaan prekursor osteoklas. Ikatan ini kemudian merekrut protein adaptor TRAF6 (*Tumor Necrosis Factor associated Factor*) menyebabkan aktivasi NF- κ B (*Nuclear factor-kappa β*) yang akan bermigrasi ke nucleus. *Nuclear factor kappa β* meningkatkan pengekspresian c-Fos dan c-Fos akan berinteraksi dengan NFATc1 (*Nuclear factor of activated T cells*) untuk memicu transkripsi gen osteoklastogenik untuk mematangkan osteoklas dari prekursor osteoklas






E. KERANGKA TEORI



F. KERANGKA KONSEP



Keterangan:

-  Variabel bebas
-  Variabel tergantung
-  Variabel antara
-  Variabel kendali
-  Variabel tidak diteliti

G. VARIABEL PENELITIAN

1. Variabel tergantung: Densitas mineral tulang
2. Variabel bebas: LDL, oxLDL, RANKL dan kalsium serum
3. Variabel antara : respon imun, calsineurin
4. Variabel kendali: umur, sex, gaya hidup, penyakit kronik, minum obat-obatan, riwayat operasi ovarium, kelenjar tiroid, gastrektomi.

H. HIPOTESIS.

1. Terdapat korelasi negatif antara kadar LDL dengan densitas mineral tulang.
2. Terdapat korelasi negatif antara kadar oxLDL dengan densitas mineral tulang.
3. Terdapat korelasi negatif antara kadar RANKL dengan densitas mineral tulang.
4. Terdapat korelasi negatif antara kadar oxLDL dan RANKL terhadap densitas mineral tulang.
5. Terdapat korelasi positif antara kadar kalsium serum dengan densitas mineral tulang.

I. DEFINISI OPERASIONAL VARIABEL/ KRITERIA OBYEKTIF

1. Densitas mineral tulang ditentukan dengan menggunakan metode DXA (Lunar, DPXNT GE, Healthcare). Dilakukan pemeriksaan pada vertebra lumbalis dan proximal femur. Interpretasi dilakukan sesuai kriteria WHO berupa T score, dikatakan:

- Normal jika T-score >-1 SD terhadap rerata puncak massa tulang wanita muda normal
 - Osteopeni (massa tulang rendah) jika T-score antara -1 dan -2.5 SD terhadap rerata puncak massa tulang wanita muda normal.
 - Osteoporosis jika T-score <-2.5 SD terhadap rerata puncak massa tulang wanita muda normal.
2. LDL diukur dengan metode spektrofotometer menggunakan alat ABX Pentra 400. Kadar normal pada wanita <130 mg/dL.
 3. Kalsium serum ditentukan dengan alat ABX Pentra 400 Chemical Analyser dengan nilai rujukan $8,6-10,2$ mg/dl.
 4. OxLDL diukur dengan metode ELISA menggunakan *oxidized* LDL ELISA kit (Mercodia AB, Swedia) dengan nilai rujukan $6,0-6,8$ pmol/L
 5. RANKL diukur dengan metode ELISA menggunakan human RANKL Instant ELISA kit, (Bender MedSystems, Austria) dengan nilai rujukan $5-10$ pmol/L.
 6. Umur: umur yang tercantum sesuai dengan dokumen resmi (KTP/SIM) atau sesuai tanggal kelahiran yang didapat dari wawancara. Umur dibagi dalam 3 kelompok yaitu kelompok umur $30-44$ tahun, $45-51$ tahun dan $52-60$ tahun.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan rancangan *cross sectional study*.

B. Lokasi Penelitian

Pengumpulan sampel dilakukan di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo dan RS jejaring pendidikan lainnya di Makassar. Pemeriksaan LDL, GDP, ureum, kreatinin, SGOT, SGPT, kalsium serum dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik, Pemeriksaan oxLDL dan RANKL dilakukan di Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS dan pemeriksaan densitas mineral tulang di Klinik Osteoporosis Stela Makassar.

C. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan Oktober 2011 sampai Juni 2013

D. Subyek Penelitian

Wanita berusia 30–60 tahun yang datang ke Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo serta RS jejaring pendidikan lainnya di Makassar dan melakukan pemeriksaan LDL, kalsium serum, Ureum, Kreatinin, SGOT, SGPT, Gula darah puasa

E. Besar Sampel

Diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut

$$n = za^2PQ/ d^2$$

Keterangan:

n : besar sampel

za : tingkat kepercayaan ($\alpha = 95\%$) 1,96

P : Perkiraan proporsi pada populasi 5% = 0,05 pada SD=2

Q : $1 - P = (1 - 0,05) = 0,95$

D : ketepatan relatif/ presisi (0,05)

Dengan memasukkan angka-angka tersebut ke dalam rumus, maka diperoleh besar sampel minimal adalah 78 orang.

F. Kriteria Subyek

Kriteria Inklusi

- Wanita 30 – 60 tahun
- Bersedia menjadi objek penelitian dengan menandatangani *informed consent*.
- Tidak pernah/ sedang menggunakan kontrasepsi hormonal dan tidak mendapat terapi hormonal.
- Tidak pernah mengalami patah tulang dan kelainan tulang sejak lahir.
- Tidak menderita penyakit sendi (remathoid arthritis, SLE)
- Tidak menderita: DM, penyakit hati kronis, gagal ginjal kronis, tirotoksikosis
- Tidak ada riwayat operasi oofarektomi, kelenjar thyroid, gastrektomi.
- Tidak / sedang mendapat pengobatan steroid, antikonvulsan, vit K, heparin.

- Tidak merokok dan minum alkohol

Kriteria Eksklusi

Sampel darah mengalami hemolisis, lipemik, ikterik

G. Tata Laksana Penelitian :

Subyek penelitian wanita 30-60 tahun diberi surat kesediaan/ informed consent yang ditandatangani sebagai persetujuan responden dalam mengikuti penelitian ini, setelah itu dilakukan anamnesis dan pemeriksaan fisik serta mengisi formulir yang disediakan. Selanjutnya dilakukan pengambilan sampel darah vena sebanyak 5 cc dari vena mediana cubiti, yang kemudian disentrifus agar diperoleh sampel serum untuk pemeriksaan LDL, GDP, SGOT/ SGPT, ureum/ kreatinin, jika hasil pemeriksaan ini normal, maka dilanjutkan dengan pemeriksaan oxLDL dan RANKL dengan metode ELISA serta pemeriksaan densitas mineral tulang dengan menggunakan metode DXA (Lunar DPXNT GE, Healthcare).

H. Metode Pemeriksaan

- Data dikumpulkan dengan menggunakan lembar kuesioner.
- Sampel darah diambil 5 cc untuk pemeriksaan LDL, GDP, GOT, GPT, Ureum Kreatinin dan kalsium serum. Pemeriksaan dilakukan dengan metode spektrofotometer menggunakan alat ABX Pentra 400, dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr Wahidin Sudirohusodo. Pemeriksaan oxLDL dengan metode ELISA menggunakan Mercodia Oxidized LDL ELISA kit (Mercodia AB,

Sweden) dan tes RANKL dengan metode ELISA menggunakan humanRANKL Instant ELISA kit (Bender MedSystems, Austria). Pemeriksaan ELISA dilakukan di Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS.

a. Sampel darah vena diambil sebanyak 5 cc dari vena mediana cubiti dengan cara identifikasi vena yang akan ditusuk lalu difiksasi agar tidak mudah bergeser, usapkan antiseptik alkohol 70% di daerah pembuluh darah tersebut. Tusukkan jarum disposable yang dihubungkan dengan *vacuteiner* dengan EDTA secara steril.

Darah disimpan pada lemari pendingin $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ sampai akan dilakukan pengukuran.

b. Darah disentrifius sampai tampak presipitat

c. EDTA plasma dan serum diencerkan 1:10 dengan buffer yang telah diencerkan sebelum dianalisis.

d. Diambil beberapa strip mikrotiter dari kit.

e. Setiap well dari kit dicuci 5 kali dengan dispensing $250\text{ }\mu\text{L}$ buffer yang telah diencerkan. Setelah pencucian terakhir microtiter plat diletakkan terbalik di atas kertas absorbent/ tisu.

f. Ditambahkan $100\text{ }\mu\text{L}$ Standar/ sampel/ kontrol lalu diduplikat ke masing-masing well

g. Plat ditutup rapat dan diinkubasi selama 4 jam dalam suhu kamar ($18\text{-}26\text{ }^{\circ}\text{C}$) pada mixer horizontal

h. Masing-masing well diisi kemudian diaspirasi. Tiap well dicuci 5 kali dengan dispensing $250\text{ }\mu\text{L}$ buffer yang telah diencerkan. Setelah

pencucian terakhir, microtiter plat harus dibalik menyentuh tissu untuk menghilangkan kelebihan solusi

- i. Ditambahkan 100 μL konjugasi yang diencerkan ke setiap well
 - j. Plat ditutup rapat dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar (18-26 $^{\circ}\text{C}$) pada mixer horizontal
 - k. masing-masing well diisi lalu diaspirasi. Tiap well dicuci 5 kali dengan 250 μL buffer yang telah diencerkan. Setelah pencucian terakhir, Plat microtiter harus terbalik menyentuh kertas tissu untuk menghapus kelebihan solusi.
 - l. Ditambahkan 100 μL SUB (substrat) ke dalam tiap well
 - m. Diinkubasi selama 15-25 menit pada suhu kamar gelap (18-26 $^{\circ}\text{C}$)
 - n. Ditambahkan 50 μL STOP (stop solution) ke dalam tiap well, lalu diaduk.
 - o. Segera ditentukan absorban dengan membaca ELISA pada 450 nm terhadap 620 nm (atau 690 nm) sebagai referens. Jika tidak ada panjang gelombang referens yang tersedia, yang dibaca hanya di 450 nm. Jika absorban tertinggi melebihi standar kisaran fotometer itu, penyerapan harus segera diukur pada 450 nm terhadap 620 nm sebagai referens.
- Densitas mineral tulang
- a. Densitas mineral tulang diukur dengan menggunakan metode DXA, sampel dibaringkan di meja empuk sementara scanner akan melewati tubuhnya. Memakai pakaian longgar dan tidak memakai kacamata atau perhiasan yang mengandung

logam. Tes ini tidak menyakitkan dan biasanya memakan waktu sekitar 20 menit

b. interpretasi sesuai kriteria WHO berupa T-score.

Normal : jika BMD > -1 SD di bawah rata-rata PBM

Osteopenia : jika BMD -1 s/d $-2,5$ SD di bawah rata-rata PBM

Osteoporosis : jika BMD $< -2,5$ SD di bawah rata-rata PBM

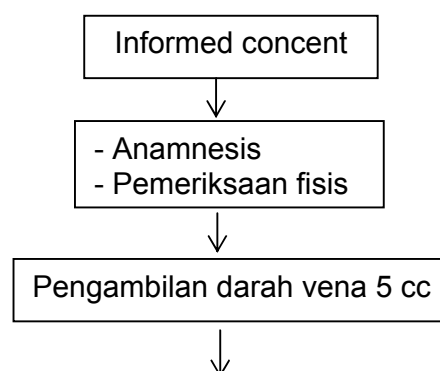
I. Analisa Data

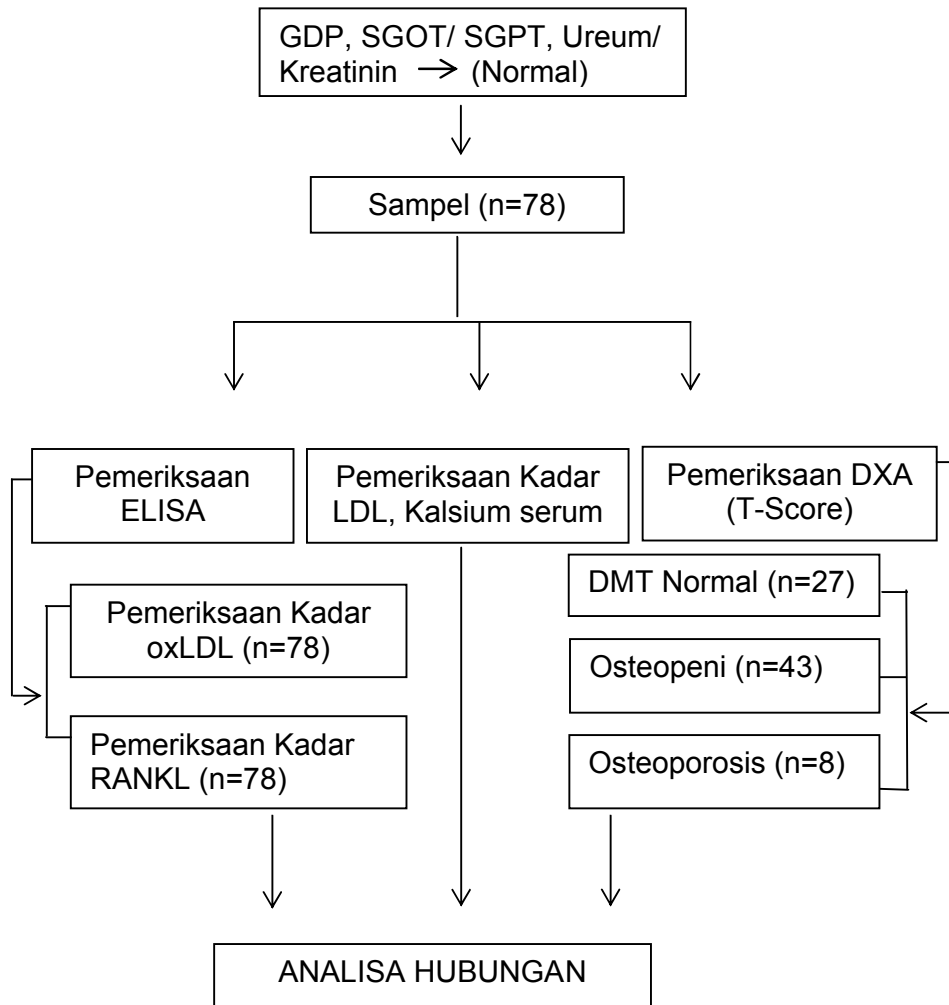
Analisis data dilakukan dengan perangkat statistik, dilakukan uji *Mann-Whitney U*, *Uji Spearman's rho* dan *Uji chi-square*, untuk melihat hubungan dan adanya perbedaan antara molekul LDL, ox LDL, RANKL dan kalsium serum terhadap densitas mineral tulang. Kesimpulan bermakna jika $p < 0,05$.

J. Aspek Etik Penelitian

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Biomedis pada Manusia, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar dengan No 1172/H.04.8.4.5.31/PP36-KOMETIK / 20101

K. Alur Penelitian





BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Gambaran Umum

Telah dilakukan penelitian terhadap kelompok wanita berumur 30-60 tahun. Pengumpulan sampel berlangsung mulai Oktober 2011 sampai Juni 2013. Setelah diberikan penjelasan tentang tujuan, manfaat dan metode penelitian, dilakukan skrining berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang kemudian didapatkan 78 subyek penelitian.

Pemeriksaan yang dilakukan adalah pemeriksaan kolesterol LDL dan kalsium serum di RSUP.Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, pemeriksaan densitas mineral tulang pada vertebra lumbalis dan proximal femur dengan menggunakan metode DXA di Klinik Osteoporosis Stella Makassar dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan Elisa oxLDL dan RANKL di Unit Penelitian Fakultas Kedokteran Unhas.

Karakteristik umum sampel penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Subyek Penelitian

Karakteristik	Min	Max	Rerata±SD (n=78)
Umur (tahun)	30	60	46,21±7,80
IMT (kg/m ²)	16	39,4	24,71±3,99
Umur menopause (tahun)	43	54	50,00±2,50
LDL (mg/dl)	49,00	196,00	122,58±36,98
oxLDL (mU/L)	4,20	51,50	9,29±5,36
RANKL (pmol/L)	3,00	180,00	26,46±34,54
Kalsium serum (mg/dl)	8,00	14,00	9,91±1,56

Keterangan: Min: *mínimum*, Max: *máximo*, SD=*stándar deviasi*, IMT=*Indeks Massa Tubuh*, LDL=*Low Density Lipoprotein*, oxLDL= *oxidized Low Density Lipoprotein*, RANKL=*Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B Ligand*

Tabel 2. Distribusi Sampel Berdasarkan Kelompok Umur dan Densitas Mineral Tulang

Kelompok Umur (tahun)	Densitas Mineral Tulang (n=78)		
	Normal (n=27)	Osteopeni (n=43)	Osteoporosis (n=8)
30 – 44	11(44,0%)	14(56,0%)	0
45 – 51	13(48,2%)	14(51,8%)	0
52 – 60	3(11,5%)	15(51,7%)	8(30,8%)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penurunan densitas mineral tulang sudah tampak pada usia 30 tahun dan kejadian osteoporosis meningkat seiring dengan penambahan usia (Tabel 2).

2. Distribusi Kadar LDL, oxLDL, RANKL, Kalsium Serum dengan Densitas Mineral Tulang

Tabel 3. Distribusi kadar LDL, oxLDL, RANKL, kalsium serum terhadap Densitas Mineral Tulang

Kadar	Densitas Mineral tulang (n=78)								
	Normal (n=27)			Osteopeni (n=43)			Osteoporosis (n=8)		
	min	med	max	min	med	max	min	med	max
LDL (mg/dl)	61,0	113,0 ^{a1b1}	188,0	49,0	121,0 ^{a1c1}	196,0	57,0	148,0 ^{b1c1}	177,0
oxLDL (mU/L)	4,4	7,8 ^{a1b1}	13,0	4,0	8,8 ^{a1c1}	51,5	6,6	11,0 ^{b2c2}	14,1
RANKL (pmol/L)	3,0	11,0 ^{a1b1}	165,0	8,0	16,0 ^{a2c1}	180,0	8,0	23,5 ^{b2c1}	147,0
Ca serum (mg/dl)	8,0	9,0 ^{a1b1}	11,0	8,0	9,5 ^{a2c1}	11,0	13,0	14,0 ^{b2c2}	14,0

Keterangan: min: minimal, med: median, max: maksimal, Superscript ^a adalah perbandingan densitas mineral tulang normal & osteopeni, Superscript ^b adalah perbandingan densitas mineral tulang normal & osteoporosis, Superscript ^c adalah perbandingan densitas mineral tulang osteopeni & osteoporosis. Superscript yang sama pada baris yang sama dengan uji Mann-Whitney U menunjukkan tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$), sedangkan Superscript yang berbeda dengan uji Mann-Whitney U menunjukkan berbeda bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 3 menunjukkan kadar LDL tidak berbeda pada ketiga kelompok ($p>0,05$), sedangkan kadar oxLDL tidak berbeda antara kelompok normal dan osteopeni ($p=0,45$), tetapi berbeda antara kelompok normal dan osteoporosis ($p=0,01$) serta antara kelompok osteopeni dan osteoporosis ($p=0,03$). Demikian juga kadar RANKL berbeda antara kelompok ($p<0,05$) kecuali antara osteopeni dan osteoporosis ($p=0,14$). Sementara kadar kalsium serum didapatkan berbeda ($p<0,05$) pada semua kelompok. Hal ini menunjukkan adanya peran oxLDL, RANKL dan kalsium serum pada densitas mineral tulang.

3. Korelasi Kadar LDL, oxLDL, RANKL, Kalsium dengan Densitas Mineral Tulang

Korelasi kadar LDL, oxLDL, RANKL, kalsium serum terhadap densitas mineral tulang dapat dilihat pada Tabel 4.

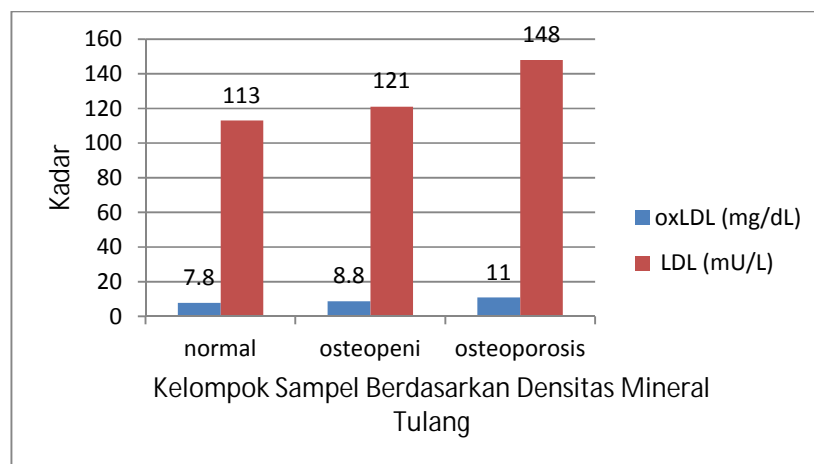
Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kadar LDL berkorelasi tidak bermakna ($r=0,154$; $p=0,184$), sedangkan kadar oxLDL ($r=0,255$; $p=0,024$), RANKL ($r=0,328$; $p=0,003$) dan kalsium serum ($r=0,523$; $p=0,000$) menunjukkan korelasi bermakna terhadap densitas mineral tulang pada subyek penelitian.

Tabel 4. Korelasi antara kadar oxLDL, RANKL, kalsium serum terhadap Densitas Mineral Tulang

Kadar	Densitas Mineral Tulang (n=78)	
	r	P
LDL	0,154	0,184
OXLDL	0,255	0,024
RANKL	0,328	0,003
Calsium serum	0,523	0,000

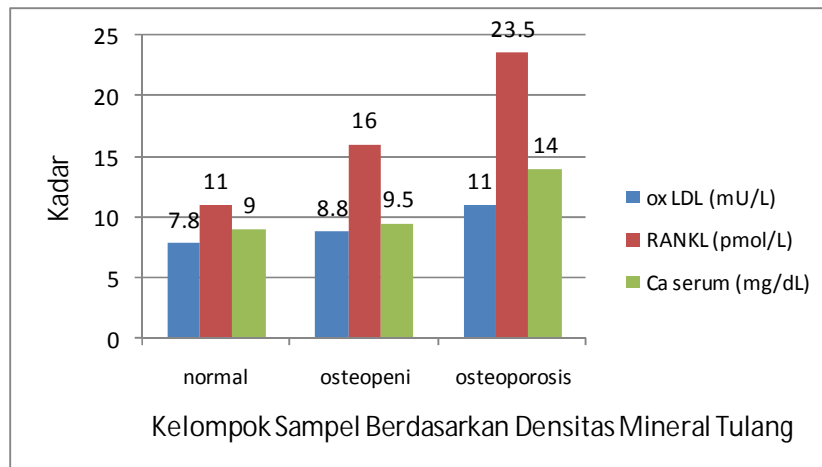
Uji Spearman's rho

Keterangan: r=koefisien korelasi, LDL=Low Density Lipoprotein, oxLDL=Oxidized Low Density Lipoprotein, RANKL=Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B Ligan,



Gambar 8. Median kadar LDL, oxLDL di antara kelompok densitas mineral tulang

Gambar 8 menunjukkan bahwa kadar LDL dan oxLDL tampak tinggi pada kelompok osteoporosis dan osteopeni dibandingkan kelompok normal.



Gambar 9. Median kadar oxLDL, RANKL dan kalsium serum antara densitas mineral tulang normal, osteopeni dan osteoporosis

Gambar 9 menunjukkan bahwa kadar oxLDL, RANKL dan kalsium serum tampak tinggi pada kelompok osteoporosis dan osteopeni dibandingkan kelompok normal.

4. Distribusi Kadar oxLDL dengan RANKL

Tabel 5. Distribusi Kadar oxLDL dan RANKL

Kadar oxLDL (mU/L)	Kadar RANKL (pmol/L)		TOTAL
	≥ 11(tinggi)	< 11(rendah)	
≥ 6,8 (tinggi)	52 (66,7%)	12 (15,4%)	64 (82,1)
<6,8(rendah)	9 (11,5%)	5 (6,4%)	14 (17,9)
			78 (100%)

Uji chi-square P=0,164

Pada Tabel 5 tampak bahwa pada penelitian ini peningkatan kadar oxLDL yang disertai dengan peningkatan kadar RANKL adalah 66,7%, lebih banyak didapatkan, namun demikian didapatkan pula kadar oxLDL tinggi yang disertai kadar RANKL rendah (15,4%). Kadar oxLDL rendah dapat

juga disertai dengan peningkatan kadar RANKL (11,5%). Hal ini menunjukkan ada kecenderungan bahwa peningkatan kadar RANKL dalam darah dapat disertai dengan peningkatan kadar oxLDL, tetapi secara statistik tidak bermakna ($p=0,164$).

Tabel 6. Distribusi kadar oxLDL dengan Densitas Mineral Tulang

Kadar oxLDL (mU/L)	Densitas Mineral Tulang (n=78)		
	Normal n=27	Osteopeni n=43	Osteoporosis n=8
≥ 6,8 (tinggi)	20 (31,3)	37(57,8%)	7 (10,9%)
<6,8(rendah)	7 (50,0%)	6 (42,9%)	1 (7,1%)

Uji chi-square P=0,408

Pada tabel 6 tampak bahwa oxLDL yang tinggi didapatkan lebih banyak pada osteoporosis (87,5%) dan osteopeni (86,1%) dibanding dengan densitas mineral tulang normal (74,1%) sedangkan pada oxLDL yang rendah lebih banyak ditemukan pada densitas mineral tulang normal (25,9%) namun dapat pula ditemukan pada osteoporosis (12,5%) dan osteopeni (13,9%). Keadaan ini menunjukkan ada kecenderungan bahwa peningkatan kadar oxLDL disertai penurunan densitas mineral tulang, tetapi secara statistik tidak bermakna ($p > 0,0$

Tabel 7. Distribusi kadar RANKL dengan Densitas Mineral Tulang

Densitas Mineral Tulang (n=78)	
--------------------------------	--

Kadar RANKL (mU/L)	Normal n=27	Osteopeni n=43	Osteoporosis n=8
≥ 11 (tinggi)	13(21,3%)	41(67,2%)	7 (11,5%)
< 11 (rendah)	14(82,4%)	2 (11,8%)	1 (5,8%)

Uji chi-square P=0,000

Pada Tabel 7 tampak bahwa kadar RANKL tinggi lebih banyak ditemukan pada osteopeni (95,3%) dan osteoporosis (87,5%), namun dapat juga ditemukan pada densitas mineral tulang normal (48,1%) sebaliknya pada kadar RANKL rendah lebih banyak ditemukan pada densitas mineral tulang normal (15,4%).

Tabel 8. Distribusi kadar oxLDL, RANKL dan Densitas Mineral Tulang

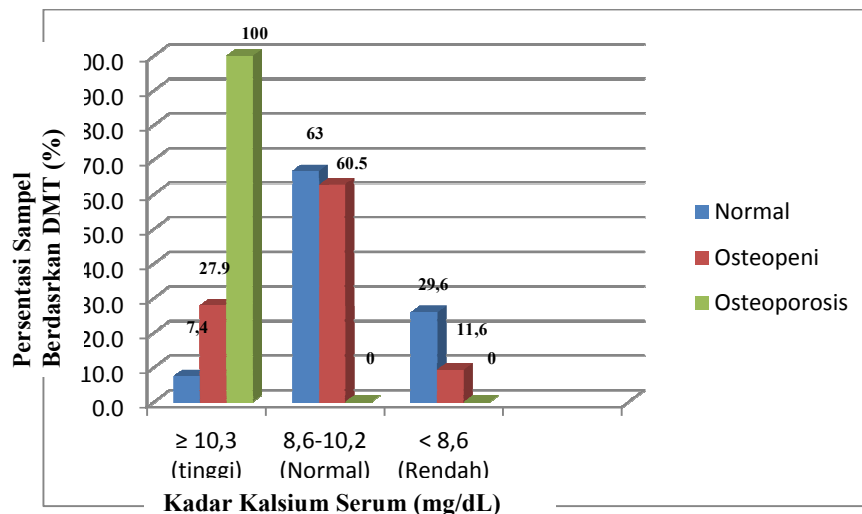
Kadar oxLDL & RANKL	Densitas Mineral Tulang (n=78)		
	Normal	Osteopeni	Osteoporosis
Keduanya tinggi	11(21,1%)	35 (67,3%)	6 (11,6%)
Salah satu tinggi	11(52,4%)	8 (38,1%)	2 (9,5%)
Keduanya rendah	5 (100%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)

Uji chi-square P=0,002

Pada tabel 8 tampak bahwa peningkatan kadar oxLDL dan RANKL lebih banyak ditemukan pada osteopeni (81,4%) dan osteoporosis (75%)

dibanding dengan densitas mineral tulang normal (40,7%). Pada sampel dengan salah satu dari kadar oxLDL atau RANKL yang tinggi ditemukan lebih banyak pada densitas mineral tulang normal (40,7%) namun demikian juga ditemukan osteoporosis (25,0%) dan osteopeni (18,6%). Pada sampel dengan kadar oxLDL dan RANKL yang rendah hanya ditemukan pada densitas mineral tulang normal. Tampak bahwa kadar oxLDL dan RANKL yang tinggi dapat disertai dengan penurunan densitas mineral tulang, keadaan ini menunjukkan penurunan densitas mineral tulang yang bermakna ($p < 0,05$).

5. Distribusi Kadar kalsium serum terhadap densitas mineral tulang



Gambar 10. Perbedaan kadar kalsium serum di antara kelompok densitas mineral tulang.

Pada Gambar 10 menunjukkan bahwa kadar kalsium serum yang tinggi didapatkan pada sampel dengan osteoporosis (100%), dan osteopeni (27,9%), sedangkan kadar kalsium serum yang rendah didapatkan pada densitas mineral tulang normal (29,6%) dan osteopeni (11,6%). Keadaan

ini menunjukkan kadar kalsium serum yang tinggi mempengaruhi penurunan densitas mineral tulang dan bermakna secara statistik ($p=0,00$).

B. PEMBAHASAN

Penelitian ini ditujukan untuk melihat adanya hubungan antara LDL, oxLDL, RANKL dan kalsium serum terhadap densitas mineral tulang (DMT) pada kelompok wanita berumur 30-60 tahun. Penurunan densitas mineral tulang penyebab osteoporosis menjadi masalah kesehatan yang semakin penting bersamaan dengan bertambahnya populasi lanjut usia dalam masyarakat Indonesia. Pembahasan akan mengacu kepada tujuan umum dan khusus serta hipotesis yang telah ditetapkan dalam penelitian ini.

1. Karakteristik sampel

Penelitian ini terdiri dari 78 subyek penelitian. Rentang umur yang dipilih sebagai sampel adalah antara 30-60 tahun dengan rerata $46,21 \pm 7,80$ tahun, rentang IMT $16-39,4 \text{ kg/m}^2$ dengan rerata $24,71 \pm 3,99 \text{ kg/m}^2$, rentang umur menopause 43-54 tahun dengan rerata $50,00 \pm 2,50$ tahun (Tabel 1). Rentang umur ini dipilih dengan pertimbangan bahwa umur 30 tahun berhubungan dengan tercapainya puncak massa tulang (*peak bone mass*), jika puncak massa tulang tidak tercapai dengan sempurna akan berdampak pada ketahanan tulang dikemudian hari.

2. Distribusi Sampel Berdasarkan Kelompok Umur dan Densitas Mineral Tulang

Tabel 2 hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penurunan densitas mineral tulang (osteopeni) telah mulai terjadi pada kelompok umur muda (30-44 tahun) bahkan terdapat pada semua kelompok umur, dimana pada kelompok umur 30-44 tahun (32,6%), umur 45-51 tahun (32,6%) dan

umur 52-60 tahun (34,8%). Osteoporosis semuanya terjadi pada kelompok umur 52-60 tahun. Densitas mineral tulang normal juga didapatkan pada ketiga kelompok umur tersebut. Hal ini dapat dijelaskan bahwa osteopeni pada kelompok umur 30-44 tahun dapat disebabkan oleh pencapaian puncak massa tulang yang tidak maksimal pada usia dewasa muda. Keadaan ini dapat disebabkan oleh kekurangan asupan nutrisi terutama kalsium, vitamin D, protein, serta adanya anoreksia, malabsorpsi atau paparan sinar matahari yang rendah. Selain itu dapat juga disebabkan oleh aktifitas fisik kurang, IMT kurang, jumlah paritas dan lama menyusui. Telah dilaporkan oleh Cooper C., bahwa penurunan densitas mineral tulang pada proksimal femur telah terjadi pada dekade ketiga kehidupan (Cooper C., 2002).

Osteopeni yang terdapat pada kelompok umur 45-51 tahun dan 52-60 tahun (Tabel 2) selain disebabkan oleh asupan nutrisi yang kurang terutama kalsium dapat juga disebabkan oleh rendahnya kadar estrogen yang dapat mengurangi absorpsi kalsium di usus dan reabsorpsi kalsium di ginjal serta menurunkan sintesa berbagai protein yang membawa $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ sehingga kadarnya rendah di dalam plasma. Kadar estrogen yang rendah juga dapat meningkatkan produksi sitokin spesifik seperti $\text{TNF-}\alpha$, IL-1, IL-6. Peningkatan sitokin ini dapat merangsang pembentukan RANKL dan M-CSF serta menghambat pembentukan OPG pada osteoblas yang mengakibatkan aktivitas osteoklas meningkat (Groff & Gropper, 2000). Alhorg H.G. melaporkan bahwa remodeling tulang dipengaruhi oleh

hormon estrogen yang diperkirakan mulai menurun kadarnya dalam tubuh sejak usia 35 tahun (Alhorg H.G., 2010).

Penelitian ini mendukung pernyataan yang dikeluarkan oleh WHO bahwa kepadatan tulang terakumulasi selama masa kehidupan intrauterina, kanak-kanak dan pubertas, dan mencapai puncaknya sekitar umur 25 tahun. Kepadatan tulang kemudian dipelihara selama sekitar 10 tahun, setelah umur 35 tahun biasanya akan kehilangan 0,3-0,5% dari kepadatan tulang per tahun sebagai bagian dari proses penuaan (WHO, 2003). Waught E.J. dkk melaporkan bahwa wanita sehat berumur 40-60 tahun merupakan faktor resiko penting pada kejadian penurunan densitas mineral tulang. (Waugh E.J., et al., 2009)

Pada Tabel 2, kelompok umur 52-60 tahun masih didapatkan 3 sampel (11,1%) dengan DMT normal, disebabkan sampel ini mempunyai IMT >30 kg/m² (obesitas) dan telah mengalami menopause >3 tahun. Ada pendapat menyatakan bahwa berat badan lebih akan berpengaruh positif terhadap DMT pada wanita postmenopause karena akan menstimulasi formasi tulang dengan mengkonversi androgen menjadi estrogen. (Weitzmann M.N., Pacifici R, 2006) Ovarium adalah penghasil utama estrogen (estradiol), selain itu dapat pula dihasilkan oleh sel lemak dalam bentuk estron, 3 sampel ini adalah obesitas dan postmenopause yang berarti sel lemak yang berlebihan akan menghasilkan estrogen yang cukup untuk fungsi remodelling tulang. Berat badan yang berlebihan juga dapat menyebabkan tulang yang menyokong berat badan (vertebra dan femur) akan selalu mendapat stres mekanik/ tekanan dari otot-otot yang

mengadakan perlekatan disekitar periosteum tulang. Periosteum merupakan struktur yang sangat seluler dan vaskuler, kaya akan osteoblas dan nutrisi sehingga osteoblas aktif berdiferensiasi untuk pertumbuhan dan perbaikan tulang.

3. Distribusi Kadar LDL dan oxLDL dengan Densitas Mineral Tulang

Hiperkolesterolemia dikaitkan dengan penurunan densitas mineral tulang. Beberapa penelitian melaporkan adanya hubungan positif antara kejadian penurunan DMT dengan kadar kolesterol. Beberapa pasien osteoporosis memiliki kadar kolesterol tinggi, penyumbatan pembuluh darah jantung, peningkatan risiko stroke. (Graham L.S., 2009; Makovey J., et al., 2009) Berbeda dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kolesterol LDL dengan kelompok densitas mineral tulang ($p=0,184$) dan berkorelasi rendah terhadap DMT ($r=0,154$) (Tabel 3, Tabel 4 dan Gambar 8). Sebaliknya ada perbedaan bermakna antara kolesterol LDL teroksidasi (oxLDL) dengan kelompok densitas mineral tulang ($p=0,024$) dan berkorelasi cukup terhadap DMT ($r=0,255$) (Tabel 3, Tabel 4, Gambar 9).

Beberapa peneliti melaporkan bahwa LDL yang telah teroksidasi (oxLDL) dapat menginduksi osteogenesis sel vaskuler melalui pelepasan sitokin oleh monosit, makrofag serta faktor transkripsi *Nuclear Factor of Activated T cell* (NFAT) untuk menghasilkan RANKL yang terlibat dalam respon imun dan fisiologi tulang. (Tintut Y., et al., 2002; Meziere C., et al., 2004)

Oxidized Low Density Lipoprotein dapat memediasi inflamasi dan gangguan metabolik seperti aterosklerosis dan osteoporosis, disamping itu oxLDL juga diyakini dapat mempengaruhi beberapa fungsi limfosit T. Hasil penelitian menggunakan tikus hiperlipidemia yang dilaporkan oleh Grahama L.S. dkk menunjukkan adanya hubungan antara oxLDL dan limfosit T, dimana kehilangan massa tulang dikaitkan dengan peningkatan ekspresi mRNA RANKL yang dimediasi melalui jalur signal NFkB. (Grahama L.S., et al., 2009)

4. Distribusi Kadar oxLDL dan RANKL terhadap Densitas Mineral Tulang

Pada Tabel 3 hasil penelitian ini tampak bahwa kadar RANKL menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok DMT normal dan osteopeni ($p=0,03$), dan antara kelompok DMT normal dan osteoporosis ($p=0,05$). Sebaliknya kadar RANKL antara kelompok osteopeni dan osteoporosis tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($p=0,14$). Hal ini dapat disebabkan kurangnya jumlah sampel osteoporosis (10,4%).

Peningkatan kadar RANKL tidak selalu diikuti dengan penurunan DMT. Hal ini terlihat pada Tabel 7 yang menunjukkan kadar RANKL tinggi lebih banyak ditemukan pada kelompok osteopeni (95,3%) dan osteoporosis (87,5%), namun dapat juga ditemukan pada DMT normal (48,1%), namun *Uji Chi-square* menunjukkan ada hubungan bermakna antara ketiga kelompok DMT ($p=0,000$, Tabel 7). Hal ini menunjukkan kadar RANKL yang tinggi mempengaruhi penurunan densitas mineral tulang.

Pada kadar RANKL tinggi dengan DMT normal, dapat dijelaskan bahwa selain RANKL, osteoklastogenesis juga dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, OPG dan M-CSF. Tintut Y dalam studinya berpendapat bahwa aktivitas monosit di dalam plak aterosklerosis dapat mempengaruhi densitas mineral tulang melalui sekresi OPG (Tintut Y., 2005), sehingga ratio OPG/ RANKL yang meningkat akan menghambat proses osteoklastogenesis. Disamping itu keadaan ini dapat juga disebabkan oleh gangguan pematangan osteoklas dari prekursor osteoklas akibat adanya gangguan pensinyalan faktor transkripsi melalui molekul/ protein adaptor sehingga pematangan osteoklas pada proses osteoklastogenesis terhambat.

Pada Tabel 8 hasil penelitian ini didapatkan osteoporosis (25,0%) dan osteopeni (18,6%) pada Kadar RANKL rendah dengan oxLDL tinggi atau sebaliknya, hal ini dapat dipengaruhi oleh tingkat oksidasi LDL, dimana efek lipid yang teroksidasi bergantung pada tingkat oksidasi LDL yang akan mempengaruhi bioaktivitas oxLDL. Almeida M. melaporkan bahwa dalam preosteoklas sumsum tulang, lipid yang teroksidasi ringan (MM-LDL) akan meningkatkan osteoklastogenesis yang diinduksi oleh RANKL (Almeida M., 2009), sebaliknya Maziere C. dkk melaporkan bahwa lipid yang teroksidasi tinggi (HM-LDL) dapat mencegah RANKL menginduksi osteoklastogenesis dengan menghambat fosforilasi ERK, p38 dan JNK kinase, *DNA-binding activity* dari NFkB serta faktor transkripsi NFAT di monosit (Maziere C., 2009)

Aktivitas dan differensiasi osteoklas juga dimediasi oleh interaksi dari molekul yang dihasilkan oleh osteoblas yaitu osteoprotegerin (OPG) dan RANKL, kedua komponen ini mempunyai efek yang berlawanan dalam remodeling tulang. *Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B ligand* (RANKL) akan mengikat RANK pada osteoklas untuk aktivasi dan differensiasi osteoklas, sedangkan OPG bekerja sebagai reseptor umpan dengan menghambat RANKL berikatan dengan reseptor RANK yang akan menghambat differensiasi osteoklas, (Müller R.J. & Richards R.G., 2003) sehingga ratio RANKL/ OPG sangat penting dalam differensiasi osteoklas yang berperan pada regulasi tulang dalam menjaga keseimbangan remodeling tulang, selain itu *Macrophage Colony-Stimulating Faktor* (M-CSF) juga berperan pada osteoklastogenesis yaitu berikatan pada reseptornya (c-Fms) di prekursor osteoklas. (Khosla S., 2001)

Sel menyerupai osteoklas telah diidentifikasi dalam plak aterosklerotik, terutama di tepi deposit mineral kalsium (Min H., 2000; Mohler E.R., 2001). Osteoklas berasal dari monosit dan makrofag (Faust J., 1999). Lesi aterosklerotik kaya akan monosit/ makrofag dan mineral kalsium, hal ini merupakan sumber preosteoklas yang berlimpah. Pematangan osteoklas membutuhkan faktor *makrofag colony stimulating factor* (M-CSF) dan RANKL, dimana kedua faktor tersebut ada didalam lesi aterosklerotik.

Bucay N. dkk melakukan penelitian pada tikus mendapatkan adanya kalsifikasi pembuluh darah dan osteoporosis akibat kekurangan OPG sebagai faktor penghambat osteoklas dan hiperlipidemia (Bucay N, 1998).

Oxidized LDL (oxLDL) berperan pada stress oksidatif dalam regulasi sitokin, hal ini berhubungan dengan efek proinflamasi dari oxLDL dalam menginisiasi dan perkembangan plak aterosklerosis. Oxidized LDL dapat meningkatkan RANKL yang diinduksi oleh ROS dalam meningkatkan aktifitas osteoklas, hal ini berkaitan dengan fakta bahwa aterosklerosis disertai dengan gangguan remodeling tulang penyebab osteoporosis dan kelainan vaskuler. (Samy I. et al., 2004; Maziere C., 2009)

5. Korelasi antara kadar oxLDL, RANKL dan Kalsium serum terhadap Densitas Mineral Tulang

Pada table 4 dan Gambar 10 penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat korelasi negatif bermakna antara kadar oxLDL, RANKL dan kalsium serum dengan densitas mineral tulang ($p < 0,05$). Hal ini berarti peningkatan kadar oxLDL, RANKL dan kalsium serum akan seiring dengan penurunan densitas mineral tulang sedangkan kolesterol LDL menunjukkan korelasi yang tidak bermakna terhadap densitas mineral tulang yang menunjukkan bahwa LDL berkorelasi tetapi tidak bermakna terhadap densitas mineral tulang.

Hal ini berbeda dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Hjortnaes J, bahwa kalsifikasi pembuluh darah dan osteoporosis berhubungan dengan hiperlipidemia. Hiperlipidemia telah menurunkan osteogenesis pada femur dari mencit. (Hjortnaes J., 2010) Demikian pula yang dilaporkan oleh Parhami F. dkk bahwa, peningkatan kadar LDL dan rendahnya kadar HDL berhubungan dengan rendahnya densitas mineral tulang. Hiperlipidemia dapat merusak diferensiasi osteogenik sel-sel

stroma sumsum tulang pada tikus (preosteoblas) yang berakibat berkurangnya kepadatan tulang (Parhami F., et al., 2001), ini merupakan salah satu pertimbangan bahwa diet tinggi lemak diperlukan untuk stres oksidatif dan peradangan kronis.

Pada Gambar 9 hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar oxLDL, RANKL dan calsiom serum lebih tinggi pada kelompok osteoporosis dan osteopeni dibanding normal dan pada Tabel 8 tampak bahwa peningkatan kadar oxLDL dan RANKL lebih banyak ditemukan pada osteopeni (81,4%) dan osteoporosis (75%) dibanding dengan densitas mineral tulang normal (40,7%). Dari hasil ini tampak bahwa kadar oxLDL dan RANKL yang tinggi dapat disertai dengan penurunan densitas mineral tulang. Hal ini sesuai dengan pendapat Demer dkk yang telah mengidentifikasi molekul sinyal dalam menginduksi diferensiasi osteogenik dan kalsifikasi pembuluh darah melalui oxLDL yang memiliki efek menginduksi sel-sel osteoklas dalam resorpsi tulang melalui peningkatan RANKL dalam penurunan densitas mineral tulang. (Demer L.L., et al., 2011)

Pada Gambar 10 hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar kalsium serum yang tinggi didapatkan pada semua sampel osteoporosis dan osteopeni (27,9%), sedangkan kadar kalsium serum yang rendah didapatkan pada densitas mineral tulang normal (29,6%) dan osteopeni (11,6%). Hal ini menunjukkan, kadar kalsium serum yang tinggi didapatkan pada penurunan densitas mineral tulang dan bermakna secara statistik ($p=0.000$).

Peningkatan kadar kalsium serum pada postmenopause dengan penurunan DMT (osteoporosis), dapat dijelaskan bahwa pada umur ini terjadi penurunan kadar estrogen yang diikuti dengan peningkatan kadar hormon paratiroid. Hormon paratiroid akan merangsang resorpsi tulang sehingga terjadi peningkatan kadar kalsium darah. Hormon paratiroid tidak dapat berikatan dengan reseptor pada osteoklas, sehingga tidak dapat mempengaruhi secara langsung perilaku osteoklas, tetapi hormon ini dapat berikatan dengan reseptor pada osteoblas, yang dapat menstimulasi pembentukan tulang. Telah dipercaya bahwa ikatan antara hormon paratiroid dengan osteoblas menghasilkan peningkatan ekspresi RANKL, sehingga secara tidak langsung terjadi peningkatan aktivitas osteoklas.

Peningkatan kadar kalsium pada osteoporosis dapat juga diakibatkan oleh konsumsi kalsium berlebihan setelah proses osteoporosis terjadi, hal ini menunjukkan bahwa umur tua tidak menjadi indikasi untuk konsumsi kalsium secara rutin.

Hasil penelitian ini berbeda dengan pendapat Kass J.H & Wolff bahwa faktor gizi yang dapat menyebabkan kehilangan massa tulang adalah kekurangan kalsium. kalsium dibutuhkan untuk mineralisasi tulang dan memaksimalkan puncak masa tulang agar dapat mempertahankan densitas tulang yang normal (Kass J.H. & Wolff 2004), selain peningkatan aktivitas osteoklas oleh kadar RANKL yang meningkat, estrogen yang rendah juga dapat mengurangi absorpsi kalsium di usus dan reabsorpsi

kalsium di ginjal serta menurunkan sintesa berbagai protein yang membawa 1,25 (OH)₂D sehingga kadarnya rendah di dalam plasma.

Beberapa penelitian yang dilakukan pada mencit menunjukkan bahwa peningkatan oxLDL akan menghambat fosforilasi ERK JNK kinase serta meningkatkan *Reactive oxygen species* (ROS) dan ion Ca²⁺ intrasel. Ion Ca²⁺ akan mengaktifkan diferensiasi monosit yang berasal dari sumsum tulang menjadi osteoklas, ion Ca²⁺ juga akan merangsang calsineurin untuk mengaktifkan *Receptor Activator of Nuclear Factor kappa β Ligan* (RANKL) dalam mengaktifkan prekursor osteoklas untuk terjadinya osteoklastogenesis. (Li J., 2000; Meziere C., et al., 2009)

Bucay N dkk juga membuktikan adanya hubungan yang erat antara jalur RANKL/OPG/ RANK/ kalsifikasi vascular dengan densitas mineral tulang, OPG dapat melindungi kalsifikasi vaskular terhadap aktivitas RANKL sedangkan inaktivasi OPG akan memperburuk kalsifikasi vaskular pada tikus hiperlipidemia. Salah satu mekanisme yang mungkin bahwa tingginya aktivitas resorpsi tulang menyebabkan hiperkalsemia. (Bucay N., et al., 1998, Bennett B.J., et al., 2006)

RINGKASAN

Dari hasil analisis data penelitian ini didapatkan:

1. Kadar kolesterol LDL berkorelasi tidak bermakna terhadap penurunan densitas mineral tulang.
2. *Oxidized Low Density Lipoprotein* (oxLDL) berkorelasi negatif yang bermakna terhadap osteoporosis, peningkatan kadar oxLDL dapat mengakibatkan penurunan densitas mineral tulang. Namun belum dapat dibuktikan terhadap osteopeni.
3. *Receptor Activator of Nuclear Factor kappa β Ligand* (RANKL) berkorelasi negatif yang bermakna terhadap densitas mineral tulang. Peningkatan kadar RANKL dapat mengakibatkan penurunan densitas mineral tulang.
4. *Oxidized Low Density Lipoprotein* (oxLDL) yang disertai dengan RANKL serum berkorelasi negatif bermakna terhadap densitas mineral tulang. Peningkatan kadar oxLDL dan RANKL secara bersama-sama dapat mengakibatkan penurunan densitas mineral tulang.
5. Kalsium serum mempunyai korelasi negatif yang bermakna terhadap penurunan densitas mineral tulang. Peningkatan kadar kalsium serum dapat mengakibatkan penurunan densitas mineral tulang pada osteoporosis.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

Dalam penelitian ini didapatkan:

1. Kolesterol LDL berperan tidak bermakna terhadap terjadinya penurunan densitas mineral tulang.
2. *Oxidized Low Density Lipoprotein* (oxLDL) berperan terhadap terjadinya osteoporosis, namun belum dapat dibuktikan terhadap osteopeni.
3. *Receptor Activator of Nuclear Factor kappa β Ligan* (RANKL) berperan terhadap terjadinya penurunan densitas mineral tulang.
4. Kadar oxLDL dapat menunjukkan keadaan densitas mineral tulang jika disertai dengan kadar RANKL.
5. Terdapat peningkatan kadar kalsium serum terhadap penurunan densitas mineral tulang.

B. SARAN

Disarankan penelitian lanjut untuk:

1. Menganalisis kadar oxLDL dan RANKL untuk menentukan cut off nya sebagai penanda penurunan densitas mineral tulang dengan menggunakan sampel yang lebih besar dan lebih homogen.

2. Pemeriksaan kadar *Osteoprotogerin* (OPG) dan RANKL secara bersama-sama untuk mengetahui peran ratio RANKL/ OPG terhadap densitas mineral tulang.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson D.M., Maraskovsky E., Billingsley W.L. (1997). A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-Cell growth and dendritic cell function. *Nature*, 390(6.656):175-9
- Alhorg H.G, Rosengren B, Jarvinen TL. (2010). Prevalensi of osteoporosis and hip fracture incidence in women over 30 years of secular trends. *Musculoskeletal BMC disord*, 11
- Almeida M, Ambrogini E, Han L, Manolagas SC, Jilka RL. (2009). Increased lipid oxidation causes oxidative stress, increased peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression, and diminished pro-osteogenic Wnt signaling in the skeleton. *J Biol Chem*.
- Bennett BJ, Scatena M, Kirk EA, Rattazzi M, Varon RM, Averill M, Schwartz SM, Giachelli CM, Rosenfeld ME. (2006). Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced atherosclerotic lesion progression and calcification in older ApoE^{-/-} mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 26:2117–2124
- Blair JM, Zhou H, Seibel MJ. (2006). Dunstan CR. *Mechanisms of disease: roles of OPG, RANKL and RANK in the pathophysiology of skeletal metastasis. Nature Review Clinical Oncology*, 3:41-49.
- Bonjour JP. (1998). Delayed puberty and peak bone mass. *European Journal of Endocrinology*, 139:257–259.
- Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. (2003) Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 423:337-342.
- Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, Scully S, Tan HL, Xu W, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS. (1998). osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev*, 12:1260–1268
- Chavassieux P, Seeman E, and Delmas P.D. (2007). Insights into Material and Structural Basis of Bone Fragility from Diseases Associated with Fractures: How Determinants of the Biomechanical Properties of Bone Are Compromised by Disease. *Endocrine Reviews*, 28(2):151–164.
- Collin-Osdoby P, Rothe L, Anderson F, Nelson M, Maloney W, Osdoby P. Receptor activator of NF-kappa B and osteoprotegerin expression by human microvascular endothelial cells, regulation by inflammatory cytokines, and role in human osteoclastogenesis. *J Biol Chem*. 2001;276:20659–20672

Colon EC, Lyles KW, Levine DA. *Prevalensi and predictor of osteoporosis Treatment of nursing home resident with known osteoporosis or recent fracture*. 2007;18(4):553-559.

Cooper C. *Epidemiology of osteoporosis*. Best Practice & Research clinical Rheumatology. 2002;16(5):795-80

Demer L, Tintut Y. *The Roles of Lipid Oxidation Products and Receptor Activator Nuclear Factor-kappa B Signaling in Atherosclerotic Calcification*, 2011, 108 (12): 1482-1493

Dufresne TE, Chmielewski PA, Manhart MD, Johnson TD, Borah B. *Risedronate bone architecture in early post-menopausal women in 1 year as measured by three-dimensional microcomputed tomography*. *Calcif Tissue Int*. 2003;73:423-432.

Danilevicius CF, Locularpes JB and Pereira RMR. *Bone metabolism and vascular calcification*. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2007;40:435-442

Departmen Kesehatan Republik Indonesia, 2008. *Berdiri Tegak Bicara Tegak Bicara Lantang kalahkan Osteoporosis*, diunduh dari <http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=3218&Item id=2>. 15 April 2010

Farhat GN, Strotmeyer ES, Newman AB, et all. *Volumetric and areal bonemineral density measures are associated withcardiovascular disease in older menand women: the health, aging, and body composition study*. *Calcif Tissue Int*. 2006;79:102-111

[Fournier](#) PE, [Rizzoli](#) R, [Slosman](#) DO, [Theintz](#) G and [Bonjour](#) JP. *Asynchrony between the rates of standing height gain and bone mass accumulation during puberty*. 1997;7(6):525-532.

Fouque-Aubert A, Chapurlat R. *Influence of RANKL inhibition on immune system in the treatment of bone diseases*, *Joint Bone Spine*. 2009;75(1):5-10.

Grahama LS, Parhamib F, Tintut Y, Kitchen C. *Oxidized lipids enhance RANKL production byT lymphocytes: Implications for lipid-inducedbone loss*. *Clinical Immunology*. 2009;YCLIM-06519:11.

Ginaldi L, Benedetto M, Martinis M. *Osteoporosis, inflammation and ageing Immunity*. 2005; 2:14.

Grimaud E, Soubigou L, Couillaud S, Coipeau P, Moreau A, Passuti N, Gouin F, Redini F, Heymann D: *Receptor activator of nuclear factor*

*kappaB ligand (RANKL)/osteoprotegerin (OPG) ratio is increased in severe osteolysis. Am J Pathol.*2003,163:2021-2031.

Groff J.L, Smith JL. and Gropper S.S. *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. United State:Wadsworth Thomson Learning. 2000;461-531.

Gor A, Denli A, Nas K, Olpan L, Evik R, Altun R, Erdogan F. *Cytokines in the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis and relationship between cytokines and osteocalcin*. Journal of Medical school. 2000;27

Hadjidakis DJ, Androulakis, II Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci*. 2006: 1092, 385-396.

Hanada R, Hanada T, Penninger JM. *Physiology and pathophysiology of the RANKL/ RANK system*. Biological Chemistry. 2010;391:1365-1370.

Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, Looker A, Marcus R, Matkovic V, Weaver C. *Peak bone mass. Osteoporos Int*. 2000;11:985-1009.

Hjortnaes J, Butcher J, Figueiredo JL, Riccio M, Kohler RH, Kozloff KM, Weissleder R, Aikawa E. Arterial and aortic valve calcification inversely correlates with osteoporotic bone remodelling: a role for inflammation. *Eur Heart J*. 2010;31:1975–1984

Johnell O, Kanis JA, Oden A, Sernbo I, Redlund-Johnell I, Petterson C, De Laet C, Jonsson B. *Fracture risk following an osteoporotic fracture. Osteoporos Int*. 2004;15:175-179

Kanis JA. *Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. Lancet* 2002;359(9321):1929-1936.

Kass JH, Wolff. Calcium in Women: *Healthy Bones and Much More*. Journal of Obstetric, Gynecologic, & Neonatal Nursing. 2004;33(1): 21-33.

Katz D.L. *Nutrition in Clinical Practice*, new York: Lippincott Williams and Wilkins. 2000: 127-135.

Kawiyana KS. *Osteoporosis Patogenesis Diagnosis dan Penanganan*. Tinjauan pustaka. J Peny Dalam. 2009:10(2)

Khosla S. Minireview: *The OPG/RANKL/RANK system*. Endocrinology. 2001;142:5050-55

- Kim MS, Yang YM, Son A, Tian YS. *RANKL- mediated reactive oxygen species pathway that induces long lasting calcium oscillation essential for osteoclastogenesis*. Dept. of oral biology. Yonsei University College of Dentistry. Korea. 2009.
- Kostenuik PJ. *Osteoprotegerin and RANKL regulate bone resorption, density, geometry and strength*. *Curr Opin Pharmacol*. 2005;5:618-25.
- Krassas G.E. Papadopoulou P. *Oestrogen action on bone cells* *J Musculoskel. Neuron Interact*. 2001; 2(2):143-151.
- Li J. *RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:1566-1571
- Liliana. *Metabolisme Kalsium Dan Pencegahan Osteoporosis*. Jakarta. :Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanegara. Dalam eber Papyrus. 2000;6(1):33-42.
- Lindsay R, Cosman F. *Osteoporosis in Harrison's, principle of Internal Medicine*. 16 th ed. 2007;.2268-79
- Lips P. *Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications*. *Endocr Rev*. 2001;22:477-501
- Liu Ming-Lin. *LDL oxidation and LDL particle size in the development of atherosclerosis*. Department of Medicine University of Helsinki, Finland. 2002; 12-21
- Liu RH dan Werth VP. *What is new the treatment of steroid-induced osteoporosis*, *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*. 2006, 25:72-78.
- Lorenzo J. *Interactions between immune and bone cells: new insights with many remaining questions* *J Clin Invest*. 2000;106.
- Manolagas, SC. and Jilka RL. *Bone Marrow, Cytokines, and Bone Remodeling Emerging Insights into the Pathophysiology of Osteoporosis* *N Engl J Med*. 1995;332:305-11.
- Makovey J, Chen JS, Hayward C, Williams FMK, Sambrook PN. *Association between serum cholesterol and bone mineral density* *Bone*. 2009;44: 208-213
- Massey LK, Whiting SJ. *Caffeine, urinary calcium, Calcium metabolism and bone*. *J. Nutr*. 1993;123:161:1 - 4.

- Maziere C, Morlier P, Massy Z. *Oxidized low-density lipoprotein elicits an intracellular calcium rise and increases the binding activity of the transcription factor NFAT*. 2005;38;472-480.
- Maziere C, Savitsky V, Galmiche A, Gomila C, Massy Z. *Oxidized low density lipoprotein decreases Rankl-induced differentiation of osteoclasts by inhibition of Rankl signaling*. 2009;221(3):572-8.
- Mazière C, Gomila C, Mazière JC. *Oxidized low-density lipoprotein increases osteopontin expression by generation of oxidative stress*. 2010a;48(10):1382-7.
- Mazière C, Savitsky V, Galmiche A, Gomila C, Massy Z, Mazière JC. *Oxidized low density lipoprotein inhibits phosphate signaling and phosphate-induced mineralization in osteoblasts. Involvement of oxidative stress*. 2010b;1802(11):1013-9.
- Mazière C, Salle V, Gomila C, Mazière JC. Oxidized low density lipoprotein enhanced RANKL expression in human osteoblast-like cells. Involvement of ERK, NFkappaB and NFAT. Biochemistry Laboratory, South Central Hospital University, René Laennec Avenue, Amiens 80000, France . 2013 Jun 10;1832(10):1756-1764
- McClung M, Wasnich RD, Hosking DJ, et al. *Prevention of Postmenopausal Bone Loss: Six-Year Results from the Early Postmenopausal Intervention Cohort Study*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2004;89(10):4879-4885.
- Min H, Morony S, Sarosi I, Dunstan CR, Capparelli C, Scully S, Van G, Kaufman S, Kostenuik PJ, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS. *Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis*. J Exp Med. 2000;192:463-474
- Mohler ER, 3rd, Gannon F, Reynolds C, Zimmerman R, Keane MG, Kaplan FS. *Bone formation and inflammation in cardiac valves*. Circulation. 2001;103:1522-1528
- Müller RJ and Richards RG. *Immunohistological Identification of The Osteoclast Formation Regulator Osteoprotegerin Ligan (OPGL/RANKL/TRANCE) in Human Bone Tissue*. European Cells and Materials. 2003;5(2):42-43.
- Nakagawa N, Kinoshita M, Yamaguchi K, et al. *RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in*

osteoclastogenesis. Biochem Biophys Res Commun. 1998;253:395-400.

McFarlane SI, Muniyappa R, Shin JJ, Bahtiyar G, Sowers JR. *Osteoporosis and cardiovascular disease: brittle bones and banded arteries, is there a link?* Endocrine. 2004;23:1-10

NIH Consensus Development Panel. *Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy*. JAMA. 2001;285:785-795

Orozco P. *Atherogenic lipid profile and elevated lipoprotein (a) are associated with lower bone mineral density in early postmenopausal overweight women* Eur J Epidemiol. 2004;19:1105-12

Parhami F, Morrow AD, Balucan J *et al*. Lipid oxidation products have opposite effects on calcifying vascular cell and bone cell differentiation. A possible explanation for the paradox of arterial calcification in osteoporotic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:680–87

Parhami F, Tintut Y, Beamer WG, Gharavi N, Goodman W, Demer LL. *Atherogenic high-fat diet reduces bone mineralization in mice*. J Bone Miner Res. 2001;16:182–188.

Parhami F, Basseri B, Hwang J, Tintut Y, Demer LL. *High density lipoprotein regulates calcification of vascular cells*. Circ Res. 2002; 91(7):570–76.

Raisz LG. *Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects*. J Clin Invest. 2005;115:3318-3325.

Racci N. *Molecular biology of bone remodeling*. Miner Bone Metab. 2008;5(1): 49-56.

Robbins JA, Schott AM, Garner P, Delmas PD, Hans D, Meunier PJ. *Risk factors for hip fracture in women with high BMD: EPIDOS study*. Osteoporos Int. 2005;16:149-154.

Sambrook P, Cooper C. *Osteoporosis*. Institute of Bone and Joint Research, University of Sydney, Lancet. 2006;367:2010-18

Samy I, [McFarlane](#), [John JR. Shin](#), [Bahtiyar](#) G and [Sowers](#) JR. *Osteoporosis and cardiovascular disease Brittle bones and banded arteries, is there a link*, Review. Endo. 2004;23:1

Savić T, Janković D, Janković I, et al. *Effects Of Simvastatin Therapy On Bone Mineral Density in Hypercholesterolemic Postmenopausal Woman*. Scientific Journal of the Faculty of Medicine in Nis. 2010;27(1):13-18

- Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC. *RANK ligand and osteoprotegerin paracrine regulators of bone metabolism and vascular function*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22: 549-53.
- Seshasayee D, Wang H, Lee WP, Gribling P, Ross J, Van Bruggen N, Carano R, Grewal IS. A novel in vivo role for osteoprotegerin ligand in activation of monocyte effector function and inflammatory response. *J Biol Chem*. 2004;279:30202–30209
- Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie M.T, Martin TJ. *Modulation of Osteoclast Differentiation and Function by the New Members of the Tumor Necrosis Factor Receptor and Ligand Families* *Endocrine Reviews*.1999;20(3):345-357
- Sudigdo Sastroasmoro. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Edisi Kedua. Jakarta: CV. Sagung Seto. 2002;110-128:259 – 287
- Tanko L, Y.Z. Bagger and C. Christiansen. *Low bone mineral density in the hip as a marker of advanced atherosclerosis in elderly women*, *Calcif. Tissue Int*. 2003;73:15-20.
- Tintut Y, Patel J, Territo M, Saini T, Parhami F, Demer LL. Monocyte/macrophage regulation of vascular calcification in vitro. *Circulation*. 2002;105:650–655
- Tintut Y, Morony S, Demer LL. *Hyperlipidemia promotes osteoclastic potential of bone marrow cells ex vivo*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(2):6-10
- Tintut Y, Abedin M, Cho J, Choe A, Lim J, Demer LL. Regulation of RANKL-induced osteoclastic differentiation by vascular cells. *J Mol Cell Cardiol*. 2005;39:389–393
- Walsh MC, Kim N, Kadono Y. *Osteoimmunology: Interplay between immune system and bone metabolism*. 2006;24:33-63
- Waugh EJ, Lam MA, Hawker G.A, et al. *Risk factors for low bone mass in healthy 40-60 years old women: A systematic review of the literature*. *Osteoporos Int*. 2009;20(1):1-21
- Weitzmann M.N., Pacifici R. *Estrogen deficiency and Bone Loss: an Inflammatory Tale*. *The Journal of Clinical Investigation*. 2006: (5):p. 1186-94

- Williams PL and Warwick R. *Osteology in Grays Anatomy*, 36 ed. Churchill Livingstone, Edinburgh London Melbourne And New York.1980;230-70.
- World Health Report. *Prevention and management of osteoporosis: report of a WHO scientific group.* (WHO technical report)series 92. 2003.
- Wren TA, Kim PS, Janicka A, Sanchez M and Gilsanz V. *Timing of Peak Bone Mass: Discrepancies between CT and DXA.* The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 2007;Vol.92,No.3:938-41.
- Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, Tomoyasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Udagawa N, N, Suda T. *Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL.* Proc Natl Acad Sci U S A. 1998;95:3597-3602.
- Yun AJ, Lee PY: *Maladaptation of the link between inflammation and bone turnover may be a key determinant of osteoporosis. Hipotesis Med* 2004;63:532-537.
- YY Kong. *OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis.* Nature. 1999;397:315-323.

LAMPIRAN 2

NASKAH PENJELASAN UNTUK RESPONDEN (SUBYEK)

Selamat pagi, saya dr Sitti Rafiah akan melakukan penelitian untuk menilai peranan lemak jahat (LDL,oxLDL) sebagai faktor yang dapat memperkirakan penurunan kepadatan mineral tulang penyebab pengeroposan tulang (osteoporosis). Penurunan kepadatan mineral tulang dianggap sebagai faktor berisiko tinggi karena tulang akan menjadi rapuh dan mudah retak bahkan patah.

Kami berharap ibu bersedia ikut serta didalam penelitian ini. Apabila ibu setuju untuk berpartisipasi didalam penelitian ini, maka kami akan menanyakan beberapa hal mengenai riwayat dan data pribadi ibu, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan laboratorium untuk mengetahui kadar gula darah, kolesterol dan fungsi ginjal ibu. Pemeriksaan ini hampir tanpa efek samping, dapat berupa sedikit nyeri atau perdarahan bawah kulit akibat penusukan, namun jarang terjadi karena akan dilakukan oleh petugas yang sudah berpengalaman. Kalaupun terjadi maka ibu akan ditangani sesuai prosedur tanpa biaya.

Untuk pemeriksaan laboratorium kami akan mengambil darah ibu sebanyak 5cc melalui pembuluh darah dilipatan siku, jika hasil pemeriksaannya normal maka akan dilanjutkan dengan pemeriksaan kepadatan tulang dengan menggunakan alat DEXA. Untuk pemeriksaan ini, ibu akan dibaringkan dan difoto menyerupai saat foto rontgen biasa, yang akan dilakukan di Kilinik Prof.DR.Dr. John MF Adam SpPD. Pemeriksaan DEXA ini merupakan tahapan akhir yang ibu lakukan dalam penelitian ini.

Waktu yang dibutuhkan untuk menanyakan mengenai data pribadi, riwayat penyakit serta pemeriksaan laboratorium sekitar 2 jam, setelah itu ibu boleh pulang dulu dan saya akan memanggil ibu kembali untuk pemeriksaan lanjutan yaitu DEXA yang membutuhkan waktu \pm 15-20 menit.

Ibu akan mendapatkan manfaat dari penelitian ini karena melalui prosedur yang akan ibu jalani, ibu akan mengetahui secara langsung tentang keadaan kesehatan serta kepadatan tulang ibu, sehingga jika diketahui bermasalah dapat

segera ditangani. Kami juga sangat menghargai keikutsertaan dan kepedulian ibu terhadap pengembangan ilmu kesehatan dan kedokteran, khususnya di Indonesia. Apabila ibu bersedia mohon agar memberikan pernyataan persetujuan secara tertulis. Keikutsertaan ibu dalam penelitian ini bersifat sukarela tanpa paksaan. Oleh sebab itu ibu berhak untuk menolak atau mengundurkan diri tanpa resiko kehilangan hak untuk memperoleh pelayanan kesehatan yang seharusnya diberikan oleh peneliti.

Kami menjamin kerahasiaan data ibu dan untuk tampilan pengolahan data hanya digunakan kode berupa nomor tanpa mencantumkan inisial, nama atau identitas lainnya. Bila masih ada hal yang belum dimengerti dengan baik, maka ibu dapat meminta penjelasan lebih lanjut kepada saya.

Kami juga meminta izin dari ibu untuk melaporkan hasil penelitian kami ini pada:

- L. Forum ilmiah Program pasca sarjana (S3) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
- M. Penerbitan pada jurnal ilmiah dalam maupun luar negeri.

Jika ibu setuju untuk berpartisipasi maka diharapkan agar dapat menandatangani surat persetujuan setelah penjelasan untuk mengikuti penelitian ini. Atas kesediaan dan kerjasama ibu, kami mengucapkan terima kasih.

Kontak peneliti:

Nama : dr. Sitti Rafiah, M.Si

Alamat kantor : Bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas
Hasanuddin

No HP : 08124238456

DISETUJUI OLEH KOMISI ETIK PENELITIAN
KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNHAS
Tanggal: 29 November 2011

LAMPIRAN 3

**Formulir Persetujuan Mengikuti Penelitian
Setelah Mendapatkan Penjelasan**

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama :

Umur :

Alamat :

Setelah mendengar/ membaca dan mengikuti penjelasan (telah memahami naskah penjelasan untuk responden) yang diberikan oleh..... baik mengenai tujuan, manfaat apa yang akan diperoleh pada penelitian ini, serta resiko yang mungkin terjadi, maka dengan ini saya menyatakan setuju untuk ikut dalam penelitian ini secara sukarela tanpa paksaan.

Saya mengerti bahwa pengambilan darah dapat menimbulkan ketidaknyamanan dan punya resiko, namun saya percaya hal ini dapat dihindari dengan tata cara yang benar dan dilakukan oleh petugas yang terlatih.

Saya mengerti bahwa keikursertaan saya ini bersifat sukarela tanpa paksaan sehingga saya bisa menolak ikut atau mengundurkan diri dari penelitian ini tanpa kehilangan hak saya untuk mendapatkan pelayanan kesehatan. Saya juga berhak bertanya atau meminta penjelasan bila masih ada hal yang belum jelas tentang penelitian ini.

Saya juga mengerti bahwa semua biaya yang dikenakan sehubungan dengan pemeriksaan darah dan pemeriksaan densitas mineral tulang (DEXA) dalam penelitian ini dan kemungkinan terjadinya hal-hal yang tidak diinginkan menjadi beban peneliti. Apabila terjadi perselisihan akan diselesaikan secara musyawarah untuk mencapai mufakat.

Makassar,

(Subyek penelitian)

NAMA

TANDA TANGAN

Saksi 1

Saksi 2

Penanggungjawab penelitian:

Nama : dr. Sitti Rafiah, M.Si

Alamat Kantor: Bagian Anatomi Fak. kedokteran Univ.

Hasanuddin

No HP : 08124238456

Penanggungjawab medis:

Nama : dr. Uleng Bahrun SpPK, PhD

Alamat kantor : Bagian Patologi klinik Fak. Kedokteran Unhas

No HP :085218181870

DISETUJUI OLEH KOMISI ETIK PENELITIAN
KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNHAS

Tanggal: 29 November 2011

Lampiran 4

FORMULIR KUESIONER**LDL, oxLDL, SEBAGAI FAKTOR PREDIKTOR TERHADAP PENURUNAN DENSITAS MINERAL TULANG**

Tanggal:

No. Responden:

Nama Responden:

Umur/ tanggal lahir:

Suku:

Pekerjaan:

Pendidikan:

Alamat/ telepon:

Status perkawinan: kawin/ tidak kawin

No. Register:

No. Sampel/ kode:

Tinggi Badan: m

Berat Badan : kg

IMT :

1. Apakah ibu sudah menopause (berhenti datang bulan) ? Sudah/ Belum
2. Kalau sudah, pada usia berapa ibu menopause ? tahun
3. Paritas:
4. Apakah ibu menyusui anaknya?
5. Usia menarke (pertama datang bulan) ? tahun
6. Siklus haid? Teratur/ tidak teratur; Lamanya:..... hari
7. Apakah Ibu meminum minuman beralkohol ? Ya/ tidak
8. Apakah ibu sering minum kopi ? Ya/ tidak; bila ya :gelas/ hari/ minggu
9. Merokok? Ya/ tidak; bila ya: batang/hari
10. Apakah ibu sedang mengkonsumsi obat-obatan?
Ya/ Tidak; bila ya; Jenisnya:.....
11. Apakah ibu pernah/ sementara mengidap penyakit gondok, kencing manis, gangguan pencernaan, penyakit fungsi hati, penyakit fungsi ginjal, patah tulang? Ya/ Tidak
12. Riwayat penyakit tulang dalam keluarga (ya/ tidak); bila ya, jenisnya....
13. Riwayat operasi. Pernah operasi
14. Penggunaan/ asupan kalsium; Minum susu tiap hari gelas, suplemen kalsium (ya/ tidak); suplemen vitamin D3 (ya/ tidak)
15. Aktivitas: olah raga teratur (ya/ tidak); bila ya : Jam/ hari/ minggu
16. Komsumsi makanan sehari-hari :

REKAPITULASI DATA PENELITIAN

Kadar Normal :

Normal weight = 18.5–24.9

Overweight = 25–29.9

Obesity = 30

ca serum : 8,6 - 10,2 mg/dl

RANKL : 5 - 10

OxLDL : 6,0 - 6,8

LDL : kurang

130

NO sample	UMUR	LDL	Ca	Ca	IMT	oxLDL	RANKL	SPINE	FEMUR	DMT	KAWIN	USIA MENOPAUSE	PARITAS	MENARCHE	MINUM SUSU
1	60	127	13	13	32.9	9.0	27	OSTEOPOROSIS	OSTEOPENI	OSTEOPOROSIS V	MENIKAH	52	6	15	YA
2	38	180	10	10	20.5	8.8	14	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	4	12	TIDAK
3	36	73	9	9	22.2	5.4	11	NORMAL	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	2	13	TIDAK
4	38	96	8.5	8.5	23.9	8.9	23	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	1	12	TIDAK
5	46	142	8.7	8.7	30	13.1	17	NORMAL	NORMAL	NORMAL	BELUM	BELUM	0	13	TIDAK
6	46	105	9.5	9.5	20.2	8.1	35	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	0	13	TIDAK
7	37	87	8	8	23.9	7.3	165	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	2	12	YA
8	34	125	8	8	16	8.0	11	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	2	13	YA
9	53	57	11	14	20.9	13.8	8	OSTEOPOROSIS	OSTEOPENI	OSTEOPOROSIS V	MENIKAH	43	1	15	TIDAK
10	51	187	10	10	23.9	13.8	32	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	3	16	TIDAK
11	41	121	10	10	27.1	6,9	34	NORMAL	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	4	12	TIDAK
12	59	123	9	9	23.7	9.7	16	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	53	5	14	YA
13	45	113	9	9	25	12.3	12	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	3	12	YA
14	51	163	8	8	25	10.0	7	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	3	13	YA

15	57	175	14	14	24.9	6.6	20	OSTEOPOROSIS	OSTEOPOROSIS	OSTEOPOROSIS VF	MENIKAH	47	4	13	TIDAK
16	46	150	10	10	28.4	10.5	7	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	2	13	TIDAK
17	51	137	11	11	29.1	10.0	180	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	48	4	14	TIDAK
18	54	102	12	13	26.3	10.1	17	OSTEOPOROSIS	OSTEOPENI	OSTEOPOROSIS V	MENIKAH	50	2	16	TIDAK
19	54	177	12	14	25	14.1	64	OSTEOPENI	OSTEOPOROSIS	OSTEOPOROSIS F	MENIKAH	50	1	11	TIDAK
20	55	158	10	14	23.2	11.3	15	OSTEOPOROSIS	OSTEOPENI	OSTEOPOROSIS V	MENIKAH	50	2	13	TIDAK
21	35	182	9	9	21.2	9.6	17	NORMAL	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	5	14	TIDAK
22	53	113	8	8	22.2	7.6	22	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	52	4	12	YA
23	55	88	8.5	8.5	23.3	7.8	13	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	52	5	13	TIDAK
24	36	84	8	8	18.9	11.3	13	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	2	12	YA
25	50	128	8.5	8.5	25.9	10.1	16	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	4	14	YA
26	46	92	9	9	22.1	4.4	64	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	3	12	YA
27	53	160	12	14	22.4	10.9	38	OSTEOPOROSIS	OSTEOPOROSIS	OSTEOPOROSIS VF	MENIKAH	46	2	11	TIDAK
28	53	111	10	10	27	9.4	17	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	49	5	14	TIDAK
29	43	167	8.5	8.5	30	6.4	7	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	3	14	TIDAK
30	37	61	8	8	28.8	7.0	25	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	4	12	YA
31	54	143	9	9	30.7	9.3	14	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	50	4	13	YA
32	41	111	9	9	22.8	9.0	14	NORMAL	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	3	14	TIDAK
33	59	196	9	9	35.3	7.1	18	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	52	3	12	YA
34	34	103	8	8	21.9	8.5	12	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	2	14	TIDAK
35	53	138	11	14	39.4	11.2	147	OSTEOPENI	OSTEOPOROSIS	OSTEOPOROSIS F	MENIKAH	50	2	12	TIDAK
36	33	87	9	9	22.5	7.5	4	NORMAL	NORMAL	NORMAL	BELUM	BELUM	0	12	TIDAK
37	32	100	10	10	30.3	11.1	15	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	BELUM	BELUM	0	13	TIDAK
38	31	49	10	10	21.9	5.7	19	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	2	12	TIDAK

39	42	76	9.5	9.5	25	7.3	22	NORMAL	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	3	12	TIDAK
40	30	143	8.7	8.7	30.4	11.3	28	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	2	12	TIDAK
41	53	128	8.4	8.4	31.4	11.3	17	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	51	3	14	TIDAK
42	55	105	9	9	23.1	5.9	4	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	52	4	13	TIDAK
43	53	100	11	11	25.5	51.5	16	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	51	2	15	TIDAK
44	31	62	11	11	16	4.6	77	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	BELUM	BELUM	0	15	TIDAK
45	32	111	10	10	27.6	10.2	10	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	2	13	TIDAK
46	49	97	9	9	23	6.1	17	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	3	13	YA
47	52	102	11	11	24.8	4.2	32	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	47	0	13	TIDAK
48	45	74	9	9	27.6	7.3	10	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	2	11	YA
49	36	61	10	10	20.3	5.6	7	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	2	14	YA
50	46	177	9	9	27.8	10.7	18	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	2	12	TIDAK
51	45	45,6	10	10	23.2	7.1	13	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	3	15	YA
52	45	144	8.5	8.5	24.4	11.2	22	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	1	12	YA
53	50	82	9	9	24.9	9.7	24	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	4	12	TIDAK
54	46	90	9.5	9.5	20.7	7.8	11	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	4	14	TIDAK
55	47	132	9	9	22.4	9.6	34	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	0	13	TIDAK
56	41	106	11	11	24.6	8.5	14	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	0	14	TIDAK
57	50	175	10	10	27.3	4.2	11	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	1	14	TIDAK
58	42	144	10	10	25.2	9.4	19	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	1	14	TIDAK
59	41	95	11	11	27.3	10.9	6	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	1	16	YA
60	42	89	10	10	24.4	8.0	3	NORMAL	NORMAL	NORMAL	BELUM	BELUM	0	11	YA
61	49	188	9.5	9.5	23.1	4.5	6	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	0	14	YA
62	53	179	11	11	28.6	10.2	27	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	49	1	11	TIDAK
63	45	111,4	11	11	26.2	10.0	8	NORMAL	OSTEOPENI	OSTEOPENI	BELUM	BELUM	0	13	TIDAK

64	49	150	11	11	21	6.7	7	NORMAL	NORMAL	NORMAL	BELUM	BELUM	2	14	YA
65	49	116	9	9	22.6	7.1	10	NORMAL	NORMAL	NORMAL	BELUM	BELUM	4	12	YA
66	45	109	10	10	18.9	8.5	14	NORMAL	OSTEOPENI	OSTEOPENI	BELUM	BELUM	0	16	TIDAK
67	53	116	10	10	24	7.6	155	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	52	4	15	TIDAK
68	53	146	9.5	9.5	24.6	8.8	17	OSTEOPENI	OSTEOPENI	OSTEOPENI	BELUM	50	3	12	TIDAK
69	55	146	9	9	27.5	10.3	14	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	54	3	14	TIDAK
70	46	62		9.5	22.4	8.5	14	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	2	13	YA
71	47	154		11	18.9	8.4	17	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	2	13	TIDAK
72	55	118		11	27.3	6.8	16	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	3	14	TIDAK
73	47	179		11	23	12.3	16	NORMAL	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	3	14	YA
74	53	148		9.5	22.3	7.8	12	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	4	14	TIDAK
75	46	112		9	27	6.3	44	NORMAL	NORMAL	NORMAL	MENIKAH	BELUM	0	11	TIDAK
76	53	134		9.5	20.3	9.3	23	NORMAL	OSTEOPENI	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	4	13	YA
77	52	165		11	23.2	7.2	16	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	3	14	TIDAK
78	31	90		11	20.7	10,6	53	OSTEOPENI	NORMAL	OSTEOPENI	MENIKAH	BELUM	2	13	TIDAK

