

Pemberian Tepung Tempe Meningkatkan Kualitas Tulang pada Tikus Ovariectomi

(ADMINISTRATION OF TEMPE FLOUR IMPROVING THE QUALITY OF OVARECTOMY-RATS BONE)

I Nyoman Suarsana¹, Samuel Leonardo Silitonga²,
I Nyoman Sadra Dharmawan³, I Made Kardena⁴, Bambang Pontjo Priosoeryanto⁵

¹Laboratorium Biokimia, ²Mahasiswa Program Sarjana Kedokteran Hewan,

³Laboratorium Patologi Klinik, ⁴Laboratorium Patologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana

Jln Sudirman, Denpasar, Bali

⁵Lab Patologi, Departemen Klinik Reproduksi, dan Patologi,

FKH, Institut Pertanian Bogor, Dramaga, Bogor

E-mail : suarsana65@yahoo.com

ABSTRAK

Pada tikus ovariectomi terjadi penurunan fungsi ovarium sehingga berdampak pada penurunan fungsi tulang. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui potensi tepung tempe dalam meningkatkan kondisi tulang pada tikus ovariectomi ditinjau dari kadar kalsium, fosfor pada plasma dan tulang serta gambaran sel osteoblas dan osteoklas tulang. Sebanyak 20 ekor tikus albino betina galur Sprague Dawley umur tiga bulan bobot badan sekitar 200 g digunakan dalam penelitian ini. Tikus percobaan dibagi menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu tikus normal (K0); tikus normal diberi tepung tempe (K1); tikus ovariectomi (OV0); dan tikus ovariectomi diberi tepung tempe (OV1). Perlakuan diberikan selama empat bulan. Parameter yang dianalisis meliputi kadar kalsium, fosfor pada plasma dan tulang menggunakan metode *atomic absorption spectrophotometer* (AAS) dan metode spektrofotometri. Selain itu, diamati juga gambaran sel osteoblas dan osteoklas tulang. Hasil penelitian menunjukkan kadar kalsium dan fosfor plasma pada tikus normal sebesar 11,08 dan 7,06 mg/dL. Kadar kalsium dan fosfor tertinggi terdapat pada tikus normal diberi tepung tempe (K1), masing-masing 11,25 mg/dL dan 7,42 mg/dL. Tikus ovariectomi (OV0) memiliki kadar kalsium dan fosfor paling rendah, yaitu 9,83 mg/dL dan 6,46 mg/dL, sedangkan tikus ovariectomi diberi tepung tempe (OV1) kadar kalsium dan fosfor, masing-masing sebesar 10,91 mg/dL dan 6,96 mg/dL. Kadar kalsium tulang pada tikus kelompok perlakuan K0, K1, OV0, and OV1 masing-masing sebesar 30,88; 31,60; 26,58; dan 29,89 mg/dl, sedangkan kadar fosfor tulang masing-masing sebesar 18,63; 19,78; 16,75; dan 17,87 mg/dL. Rataan sel osteoblas pada tikus kelompok perlakuan K0, K1, OV0, and OV1 masing-masing sebesar 26,40; 43,28; 22,72; dan 30,84 sel. Jumlah sel osteoklas masing-masing sebesar 2,96; 3,80; 10,24; dan 6,32 sel. Dapat disimpulkan bahwa pemberian tepung tempe pada tikus ovariectomi dapat memperbaiki kualitas tulang dengan meningkatkan kadar kalsium, fosfor dan mempertahankan rasio Ca:P pada plasma dan tulang, serta meningkatkan jumlah sel osteoblas.

Kata-kata kunci: tepung tempe, isoflavon, ovariectomi, osteoklas, osteoblas

ABSTRACT

Study to determine the potential of tempe flour in improving bone quality of ovariectomized rats (*ovx*) based on calcium (Ca) and phosphorus (P) levels in the plasma and bones; osteoblast and osteoclast profiles have been conducted for 4 months. A total of 20 female Sprague Dawley albino rats, age of 3 months and average body weight of 200 g were used in this study. The rats were divided into 4 groups, i.e. normal rats + diets (K0); normal rats + tempe flour (K1); *ovx* + diets (OV0); and *ovx* + tempe flour (OV1), respectively. The Ca and P levels in plasma and bones were analyzed using Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) and spectrophotometric methods. In addition, the profiles of osteoblast and osteoclast were also observed. The results showed that Ca and P levels in plasma and bones of normal rats were 11.08 mg/dL and 7.06 mg/dL; 30.88 mg/dL and 18.63 mg/dL, respectively. The highest Ca and P levels in both plasma and bones were observed in normal rats which were given tempe flour (K1), 11.25 mg/dL

and 7.42 mg/dL; and 31.60 mg/dL and 19.78 mg/dL, respectively. Similarly, Ca and P levels in plasma and bones of *ovx* which were given tempe flour were slightly higher (10.91 mg/dL and 6.96 mg/dL; and 29.89 mg/dL and 17.87 mg/dL) compared to *ovx* without tempe flour diets (9.38 mg/dL and 6.46 mg/dL; and 26.58 mg/dL and 16.75 mg/dL). The numbers of osteoblast was found slightly higher both in normal rats and *ovx* which were given tempe flour; whereas slightly decreased of osteoclast was observed only in *ovx* which were given tempe flour. The administration of tempe flour in *ovx* diets could improved bone quality as indicated by the Ca and P levels in plasma and bones and decreased numbers of osteoclast.

Key words: tempe flour, ovariectomized-rat, osteoclast.

PENDAHULUAN

Osteoporosis merupakan salah satu masalah kesehatan utama di dunia saat ini dan jumlahnya meningkat sejalan dengan meningkatnya populasi usia lanjut. Badan dunia *World Health Organization* menyatakan bahwa osteoporosis merupakan masalah kesehatan terbesar yang sedang dihadapi setelah penyakit kardiovaskuler. Pengobatan osteoporosis yang sudah lanjut dengan komplikasi merupakan hal yang sangat sulit, dan memerlukan waktu perawatan lama maupun biaya yang cukup besar (Kawiyana, 2010).

Seiring dengan bertambahnya usia harapan hidup manusia, maka terjadi peningkatan jumlah kelompok usia lanjut. Di Indonesia kelompok usia lanjut di tahun 2000 adalah sebesar 7,28% dan diperkirakan menjadi 11,34% pada tahun 2020. Menurut *Bureau of the Census USA*, Indonesia pada tahun 2025 akan mengalami lonjakan kenaikan penduduk usia lanjut sampai 41,4%, dan merupakan angka terbesar di dunia (Makmun, 2002). Akibatnya akan terjadi keluhan atau gejala yang berkaitan dengan proses penuaan. Salah satu keluhan dan gejala yang sering ditemukan adalah pada organ sistem muskuloskeletal berupa osteoporosis, yaitu penurunan massa tulang dan cenderung terjadi patah tulang.

Penurunan massa tulang akan bertambah cepat pada umur tua, yaitu periode pascamenopause pada wanita yang kekurangan hormon estrogen atau andropause pada laki-laki, umumnya hal ini terjadi setelah umur 50-60 tahun. Jumlah wanita berusia di atas 50 tahun cenderung meningkat sebagai dampak kemajuan teknologi berbagai program pelayanan kesehatan, di samping kemajuan dalam bidang lainnya yang menyebabkan bertambahnya usia harapan hidup (Pfeilschifter *et al.*, 2002).

Tempe sebagai makanan fungsional kaya kandungan mineral kalsium, dan fosfor

(Karyadi, 2000) serta *isoflavon daidzein*, *genistein*, dan *glisitein* (Nakajima *et al.*, 2005). Mineral kalsium dan fosfor sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan tulang sehingga sangat diperlukan untuk mencegah osteoporosis. Isoflavon juga dapat berperan seperti estrogen (*like* estrogen). Menurut Kuiper *et al.*, (1998), isoflavon mempunyai kemiripan struktur dengan estrogen dan mampu berikatan dengan reseptor beta-estrogen pada tulang. Sifat yang dimiliki oleh isoflavon dapat menggantikan peran estrogen terutama dalam mencegah resorpsi massa tulang sehingga dapat mencegah terjadinya keropos tulang (osteoporosis).

Adanya kemiripan struktur antara estrogen dengan isoflavon serta adanya reseptor beta estrogen, menyebabkan isoflavon dapat berikatan dengan reseptor estrogen pada berbagai jaringan tubuh termasuk tulang. Isoflavon memperlihatkan afinitas yang relatif lebih tinggi untuk mengikat reseptor beta estrogen yaitu sekitar 6-8 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan reseptor alpha (Kuiper *et al.*, 1998). Potensi ini memberikan efek positif pada jaringan tulang karena isoflavon kemungkinan dapat berperan dalam membantu memperbaiki metabolisme tulang.

Pada tikus yang diovariectomi, terjadi kondisi yang membuat kadar estrogen rendah (Oestergaard *et al.*, 2006). Kadar estrogen rendah juga terdapat pada kondisi menopause dan biasanya diikuti dengan gejala osteoporosis. Dengan demikian, pemberian tepung tempe pada tikus ovariektomi diharapkan dapat meningkatkan kualitas tulang pada tikus ovariektomi.

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui potensi tepung tempe dalam meningkatkan kualitas tulang pada tikus ovariektomi ditinjau dari kadar kalsium, fosfor plasma dan tulang serta gambaran sel osteoblas dan osteoklas tulang.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Tikus Ovariectomi

Tikus dibius dengan ketamin-HCl dosis 100 mg/mL sebanyak 0,1 mL/ekor, kemudian dilakukan pembedahan pada daerah lumbal (kiri/kanan) yang sebelumnya telah dicukur untuk menghilangkan rambut pada bagian dorsal lumbal. Kedua ovarium kiri dan kanan dipotong dan diangkat, lalu dilakukan penjahitan dan diberi antibiotik. Tikus dibiarkan sampai sadar dan dipelihara selama dua minggu untuk penyembuhan dan adaptasi sebelum digunakan sebagai hewan model osteoporosis.

Penyiapan Hewan Percobaan

Sebanyak 20 ekor tikus albino betina galur *Sprague Dawley* umur tiga bulan bobot badan sekitar 200 g digunakan dalam penelitian ini. Tikus percobaan dibagi menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu tikus normal (K0); tikus normal diberi tepung tempe (K1); tikus ovariectomi (OV0); dan tikus ovariectomi diberi tepung tempe (OV1). Tepung tempe pada penelitian ini telah dianalisis dan mengandung Ca (311,51 mg/100 g bk) dan P (643,57 mg/100 g bk) serta mengandung isoflavon aglikon (*daidzein*, *glisitein*, *genistein*, dan faktor-2) sebesar 66,234 mg/10 g bk. Perlakuan diberikan selama empat bulan penelitian dan selama perlakuan tikus diberi pakan komersial dan air minum secara *ad libitum* dan tepung tempe yang mengandung isoflavon 4 mg/200 g bb/hari diberikan secara oral menggunakan sonde lambung. Analisis kadar kalsium dan fosfor plasma dilakukan pada bulan ke-0, 2, dan 4. Sebelum mengambil darah, tikus dibius dengan 0,1 mL/ekor ketamine-HCl dosis 100 mg/mL secara intramuskuler. Darah diambil melalui vena orbitalis dan ditampung dalam tabung yang sudah mengandung EDTA guna mendapatkan plasma. Analisis kadar kalsium dan fosfor tulang serta pengamatan sel osteoblas dan osteoklas tulang dilakukan pada akhir penelitian.

Analisis Kadar Kalsium dan Fosfor Plasma

Analisis kadar kalsium plasma menggunakan metode *atomic absorption spectrophotometer* (AAS) dan kadar fosfor menggunakan metode spektrofotometri dengan

spektrofotometer UV-VIS LW 200 series pada panjang gelombang 660 nm. Uraian metode analisis kalsium dan fosfor seperti yang telah dilakukan oleh Suarsana *et al.*, (2011).

Pembuatan Abu Tulang

Pembuatan abu tulang merujuk pada metode yang telah digunakan oleh Sabri (2011). Tulang tibia dari proksimal-distal (sebelah kanan) ditimbang 50 g kemudian dikeringkan di oven 60°C. Selanjutnya dibuat tepung tulang dengan mortar. Tepung tulang diberi perlakuan dengan asam nitrat pekat lalu dipanaskan dengan *hot plate* suhu 80°C selama 24 jam. Kemudian ditambah 0,4 mL asam sulfat pekat, 2 tetes campuran $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4(1:2)$ dan dipanaskan selama satu jam. Campuran tersebut ditambahkan 2 mL aquades dan 0,6 mL HCl, kemudian dihomogenkan. Larutan yang diperoleh sudah siap untuk dianalisis kadar kalsium dan fosfor.

Analisis Kadar Kalsium dan Fosfor Tulang

Sebanyak 25 mL sampel larutan tulang disaring dengan kertas Whatman. Kadar kalsium plasma dianalisis menggunakan metode AAS dan kadar fosfor menggunakan metode spektrofotometri dengan spektrofotometer UV-VIS LW 200 series pada panjang gelombang 660 nm.

Pengamatan Sel Osteoblas dan Osteoklas

Jaringan tulang tibia bagian epifisis (sebelah kiri) difiksasi dalam larutan 10% buffer formalin selama 24 jam. Sampel jaringan tulang didekalsifikasi menggunakan asam nitrat pekat 5%. Setelah lunak, jaringan tulang dipotong kecil-kecil dan diletakkan di dalam *tissue cassette* selanjutnya diproses dengan metode standar, yaitu dehidrasi, *clearing*, infiltrasi, *embedding*, pemotongan dan pewarnaan *haematoxylin eosin* (HE). Sediaan yang telah diwarnai lalu diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 200 kali. Pengamatan terhadap sediaan tulang adalah menghitung rata-rata jumlah sel osteoblas, osteoklas yang dihitung dari lima lapang pandang per sediaan.

Analisis Data

Hasil analisis terhadap kadar kalsium, fosfor, sel osteoblas, dan osteoklas kemudian diuji menggunakan analisis sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji beda Duncan pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Analisis Kadar Kalsium dan Fosfor Plasma

Rataan hasil analisis kadar kalsium dan fosfor plasma tikus percobaan disajikan pada Tabel 1 dan 2. Pada akhir penelitian, tikus ovariektomi (OV0) memiliki kadar kalsium dan fosfor lebih rendah dan berbeda nyata ($P < 0,05$) bila dibandingkan dengan tikus normal (KO), tikus normal diberi tepung tempe (K1) dan tikus ovariektomi diberi tepung tempe (OV1).

Hasil analisis menunjukkan kadar kalsium dan fosfor plasma tikus normal (KO) cenderung konstan dan berada pada kisaran nilai masing-masing 10,87-11,08 mg/dL dan 7,04-7,08 mg/dL. Demikian pula pada tikus normal diberi tepung tempe (K1) serta tikus ovariektomi diberi tepung tempe (OV1) mempunyai kadar kalsium dan fosfor sama dengan tikus normal (KO) dan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Adapun rentang nilai kadar kalsium dan fosfor plasma tikus normal diberi tepung tempe (K1) adalah sebesar 11,05-11,25 mg/dL dan 7,11-7,42 mg/dL, sedangkan kadar kalsium dan fosfor tikus ovariektomi

diberi tepung tempe (OV1) adalah sebesar 10,90-10,91 mg/dL dan 6,96-7,09 mg/dL. Pada tikus ovariektomi (OV0) kadar kalsium dan fosfor masing-masing 9,83-10,15 mg/dL dan 6,46-7,10 mg/dL nyata lebih rendah ($P < 0,05$) (Tabel 1 dan 2).

Pemberian tepung tempe mampu mempertahankan kadar kalsium dan fosfor plasma tikus selama percobaan. Terpenuhinya kalsium dan fosfor disebabkan tepung tempe yang diberikan pada tikus percobaan mengandung mineral kalsium dan fosfor yang cukup. Tepung tempe yang digunakan pada percobaan ini telah dianalisis mengandung kalsium dan fosfor sebesar 311,51 dan 643,57 mg/100 g bk. Ketersediaan kalsium dan fosfor pada tepung tempe diduga menyebabkan kadar mineral kalsium dan fosfor pada tikus perlakuan yang diberi tepung tempe dapat mempertahankan dan meningkatkan kadar kedua mineral tersebut dalam plasma.

Banyak faktor yang menentukan kepadatan dan massa tulang. Dari total massa tulang, 60-80% kepadatannya ditentukan oleh gen (Hunter *et al.*, 2001). Namun, faktor gaya hidup,

Tabel 1. Rataan kadar kalsium plasma tikus selama empat bulan percobaan

Perlakuan	Kadar kalsium plasma tikus (mg/dL)		
	Bulan ke-0	Bulan ke-2	Bulan ke-4
KO	10,87±0,27a	10,94±0,39b	11,08±0,36b
K1	11,05±0,33a	11,21±0,37b	11,25±0,39b
OV0	10,88±0,34a	10,15±0,42a	9,83±0,47a
OV1	10,90±0,31a	10,91±0,38b	10,91±0,43b

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil uji berbeda nyata ($P < 0,05$). KO=tikus normal, K1=tikus normal diberi tepung tempe; OV0=tikus ovariektomi; OV1= tikus ovariektomi diberi tepung tempe

Tabel 2. Rataan kadar fosfor plasma tikus selama empat bulan percobaan

Perlakuan	Kadar fosfor plasma tikus (mg/dL)		
	Bulan ke-0	Bulan ke-2	Bulan ke-4
KO	7,08±0,49a	7,04±0,32b	7,06±0,42b
K1	7,11±0,55a	7,31±0,35b	7,42±0,42b
OV0	7,10±0,45a	6,86±0,45a	6,46±0,36a
OV1	7,09±0,29a	6,99±0,37b	6,96±0,34b

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil uji berbeda nyata ($P < 0,05$). KO=tikus normal, K1=tikus normal diberi tepung tempe; OV0=tikus ovariektomi; OV1= tikus ovariektomi diberi tepung tempe.

seperti aktivitas fisik dan gizi (Bonjour *et al.*, 2009), juga berperan dalam menentukan massa tulang. Dari sudut pandang gizi, pentingnya asupan vitamin D, fosfor (P) dan kalsium (Ca) untuk pertumbuhan dan kesehatan tulang (Tang *et al.*, 2007). Kadar kalsium dan fosfor dalam tubuh dipertahankan oleh mekanisme homeostasis. Mulai dari penyerapan, sampai pada metabolisme kedua mineral tersebut diregulasi oleh hormon paratiroid dan 1,25(OH)₂D (Berndt dan Kumar, 2008).

Meskipun tepung tempe terus menerus diberikan dengan kadar kalsium dan fosfor yang cukup, tubuh akan mengatur kadar kalsium dan fosfor plasma darah dalam rasio yang optimum selebihnya akan dideposit ke dalam tulang dan kelebihan dikeluarkan melalui ginjal. Menurut Theobald (2005), sebagian besar (setara dengan 99%) kalsium ada dalam tubuh ditemukan dalam tulang, sisanya (di bawah 1%) ditemukan pada jaringan lunak dan cairan tubuh. Kalsium hadir dalam bentuk hidroksiapatit, struktur kristal anorganik yang terdiri dari kalsium dan fosfor [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂].

Perbandingan kalsium dan fosfor (Ca:P)

pada semua perlakuan mendekati rata-rata 1,53-1,55:1,00 (Tabel 3). Tampaknya nilai perbandingan tersebut dipertahankan oleh tikus selama percobaan. Rasio Ca:P tersebut dapat memberikan hasil metabolisme tubuh yang optimum untuk pertumbuhan, khususnya pertumbuhan dan pemeliharaan tulang.

Hasil Analisis Kadar Kalsium Dan Fosfor Tulang

Rataan analisis kadar kalsium, fosfor, dan rasio kadar kalsium:fosfor (Ca:P) pada tulang tibia tikus percobaan disajikan pada Tabel 4.

Pada Tabel 4 disajikan bahwa, kadar kalsium dan fosfor tikus ovariektomi (OV0) nyata lebih rendah (P<0,05) bila dibandingkan dengan perlakuan tikus normal (K0), tikus normal diberi tepung tempe (K1) dan tikus ovariektomi diberi tepung tempe (OV1). Sementara kadar kalsium dan fosfor antara perlakuan K0, K1, dan OV1 tidak berbeda nyata (P>0,05). Adapun kadar kalsium dan fosfor tikus ovariektomi (OV0) masing-masing 26,58 mg/g dan 16,75 mg/g. Kadar kalsium perlakuan K0, K1, dan OV1 masing-masing 30,88; 31,60; dan

Tabel 3. Rasio kadar kalsium dan fosfor plasma tikus selama empat bulan percobaan

Perlakuan	Rasio kadar kalsium dan fosfor (Ca:P) plasma bulan ke:		
	Bln 0	Bln 2	Bln 4
K0	1,53:1,00	1,55:1,00	1,57:1,00
K1	1,55:1,00	1,55:1,00	1,52:1,00
OV0	1,53:1,00	1,54:1,00	1,52:1,00
OV1	1,54:1,00	1,56:1,00	1,57:1,00

Keterangan : K0=tikus normal, K1=tikus normal diberi tepung tempe; OV0=tikus ovariektomi; OV1=tikus ovariektomi diberi tepung tempe.

Tabel 4. Rataan kadar kalsium dan fosfor tulang tibia tikus pada bulan ke-4 percobaan

Kelompok	Kadar (mg/g)		Rasio Ca:P tulang
	Kalsium	Fosfor	
K0	30,88±0,92bc	18,63±0,64 b	1,66:1,00
K1	31,60±0,57c	19,78±0,54c	1,59:1,00
OV0	26,58±0,54a	16,75±0,56a	1,58:1,00
OV1	29,89±0,93b	17,87±0,69b	1,67:1,00

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil uji berbeda nyata (P<0,05). K0=tikus normal, K1= tikus normal diberi tepung tempe; OV0=tikus ovariektomi; OV1= tikus ovariektomi diberi tepung tempe.

29,89 mg/g, sedangkan kadar fosfor pada perlakuan yang sama masing-masing sebesar 18,63; 19,78; dan 17,87 mg/g.

Hasil analisis kadar kalsium dan fosfor tulang tikus menunjukkan bahwa perlakuan ovariektomi menyebabkan kadar kedua mineral tersebut lebih rendah dibandingkan dengan tikus normal, sedangkan kadar kalsium dan fosfor pada tikus perlakuan dengan diberi tepung tempe menyebabkan kadar kalsium dan fosfor meningkat. Rendahnya kadar kalsium dan fosfor pada tikus ovariektomi erat kaitannya dengan hormon estrogen. Hormon estrogen yang dihasilkan oleh ovarium sangat penting dalam membantu meregulasi metabolisme kalsium dan fosfor pada tulang (Kawiyana, 2010).

Defisiensi estrogen menyebabkan terjadinya *remodeling* tulang. Menurut Parffit (2002), siklus *remodeling* tulang dimulai dengan aktivasi yang melibatkan interaksi sel osteoblas dengan osteoklas yang memicu diferensiasi dan migrasi osteoklas kemudian diikuti dengan melekatnya osteoklas pada permukaan tulang yang sudah termineralisasi dan mulai menginisiasi penyerapan tulang. Hal ini yang menyebabkan kadar mineral kalsium dan fosfor tulang pada tikus ovariektomi menurun.

Rasio kalsium dan fosfor plasma (Tabel 3) terlihat rasio Ca:P berkisar antara 1,53-1,54:1,00. Menurut (EFSA, 2005), diet rasio kalsium dan fosfor yang optimum untuk pembentukan dan pertumbuhan tulang adalah 1,5:1,00. Tepung tempe yang diberikan pada tikus percobaan kemungkinan dapat meningkatkan metabolisme mineral kalsium dan fosfor dalam tubuh serta membantu menjaga keseimbangan kadar kalsium dan fosfor dalam darah. Meningkatnya kalsium dan fosfor tulang sangat penting untuk pertumbuhan dan pemeliharaan tulang karena menyebabkan matriks tulang lebih padat sehingga tulang tidak mudah rapuh.

Aktivitas Sel Osteoblas dan Osteoklas Tulang

Hasil pengamatan sel osteoblas dan osteoklas tikus percobaan disajikan pada Tabel 5. Data tersebut menunjukkan jumlah sel osteoblas pada tikus normal diberi tepung tempe (K1) berbeda nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dengan kelompok tikus normal (K0), tikus ovariektomi (OV0), dan tikus ovariektomi diberi tepung tempe (OV1). Sementara jumlah sel osteoblas antara kelompok perlakuan K0, OV0, dan OV1 tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

Berbeda dengan sel osteoblas, jumlah sel osteoklas antara tikus normal (K0) serta tikus normal diberi tepung tempe (K1) tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), akan tetapi jumlah sel osteoklas kedua perlakuan tersebut berbeda nyata ($P < 0,05$) lebih kecil bila dibanding dengan tikus ovariektomi (OV0), dan tikus ovariektomi diberi tepung tempe (OV1).

Pada kelompok tikus perlakuan ovariektomi (OV0) jumlah sel osteoklas lebih tinggi dibanding dengan ketiga kelompok perlakuan lainnya (K0, K1, OV1). Hal ini disebabkan, tikus yang diovariektomi mengalami defisiensi hormon estrogen. Menurut penelitian Oestergaard *et al.*, (2006), kadar estrogen pada tikus ovariektomi menurun sangat cepat pada minggu ke-2 dan sampai pada minggu ke-9 kadar estrogen 66,1+15,4 pmol/L dari kadar awal (*baseline*) sebesar 97,4+41,4 pmol/L. Hormon estrogen memengaruhi aktivitas sel osteoblas dan osteoklas. Defisiensi estrogen menyebabkan osteoklastogenesis yang meningkat dan berlanjut terhadap kehilangan massa tulang. Selain itu, rendahnya estrogen akan memengaruhi aktivitas sel osteoblas maupun sel osteoklas dan meningkatkan sitokin yang berfungsi untuk penyerapan tulang (Kawiyana, 2010).

Pada tikus ovariektomi diberi tepung tempe (OV1) yang sama-sama mengalami defisiensi estrogen seperti pada OV0, menunjukkan jumlah sel osteoklas berbeda nyata lebih kecil bila dibandingkan dengan tikus ovariektomi (OV0). Hal ini diduga kandungan isoflavon tepung tempe dapat bekerja seperti estrogen sehingga dapat mencegah terjadinya osteoklastogenesis atau mencegah pembentukan dan aktivitas sel osteoklas. Menurut Mann (2007), isoflavon

Tabel 5. Rataan jumlah sel osteoblas dan osteoklas tulang tibia tikus selama empat bulan percobaan

Kelompok	Sel osteoblas	Sel osteoklas
K-0	26,40±6,89a	2,96±1,02a
K-1	43,28±8,16b	3,80±1,18a
OV-0	22,72±5,29a	10,24±1,67c
OV-1	30,84±6,78a	6,32±1,50b

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil uji berbeda nyata ($P < 0,05$). K0=tikus normal, K1= tikus normal diberi tepung tempe; OV0=tikus ovariektomi; OV1= tikus ovariektomi diberi tepung tempe.

merupakan senyawa fitoestrogen yang mempunyai struktur fungsional yang mirip dengan estrogen dan mempunyai afinitas terhadap reseptor beta estrogen pada berbagai organ termasuk organ tulang. Senyawa isoflavon berikatan dengan reseptor beta estrogen pada permukaan sel kemudian secara reaksi bertingkat (*cascade reaction*) isoflavon dapat berikatan dengan *electrophile response element* (ERE) pada daerah gen target yang selanjutnya mampu menginduksi gen yang memungkinkan dapat melakukan fungsi sebagaimana fungsi hormon estrogen.

Hormon estrogen mempunyai dua buah reseptor, yaitu reseptor alpha dan reseptor beta. Kedua reseptor menyebar di seluruh tubuh, seperti pada payudara, ginjal, hati, uterus, dan tulang. Sel osteoblas dan osteoklas tulang menyediakan reseptor untuk hormon seks steroid termasuk estrogen. Sel osteoblas merupakan target kerja estrogen melalui aktivasi reseptor alpha estrogen, dan estrogen dapat menginduksi osteoblastik memproduksi osteoprotegerin (OPG) (Zallone, 2006). OPG berfungsi menghambat penyerapan tulang atau mencegah kehilangan massa tulang (Bell, 2003). Menurut Morito (2001), isoflavon mempunyai sifat menyerupai estrogen (*estrogen like*), sehingga isoflavon dapat berikatan dengan reseptor estrogen beta dan dapat menjadi modulator reseptor estrogen selektif yang telah terbukti mampu meningkatkan massa tulang atau mencegah kehilangan massa tulang.

Remodeling dan pertumbuhan tulang pada masa resorpsi diatur oleh pasangan sel osteoklas dan osteoblas (Miyamoto, 2011), sehingga sel osteoblas dan osteoklas dapat dijadikan petunjuk mengenai kondisi *modeling* dan *remodelling*. Tulang merupakan suatu jaringan dinamis yang setiap saat melakukan pembentukan dan penyerapan melalui suatu proses yang disebut dengan *remodelling* tulang. Menurut Heinemann *et al.* (2011), komunikasi antara sel osteoblas pembentuk tulang dan sel osteoklas perombakan (penyerap) tulang merupakan persyaratan mendasar untuk *remodeling* tulang yang seimbang. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Matsuo dan Irie (2008), bahwa proses *remodeling* tulang melibatkan sel-sel pembentuk tulang (osteoblas) dan sel-sel tulang penyerap (osteoklas) pada tingkat aktivitas yang seimbang, sehingga peningkatan atau pengurangan kepadatan tulang bergantung pada perbedaan keseimbangan sel-sel tersebut.

Di negara-negara Timur seperti Jepang dan China yang mana konsumsi kedelai dan produk fermentasi kedelai tinggi, dilaporkan bahwa kejadian osteoporosis lebih rendah dibandingkan dengan negara-negara Barat. Hal ini diasumsikan isoflavon pada kedelai seperti genistein bertanggung jawab sebagai pelindung tulang (Atkinson, 2004) karena genistein dapat mencegah aktivitas osteoklas. Hal yang sama juga telah dilaporkan oleh Morris *et al.*, (2006), genistein menghambat aktivitas osteoklas, yaitu sel-sel tulang yang bertanggung jawab atas dekalsifikasi tulang, sebaliknya dapat merangsang sel-sel osteoblas, yaitu sel yang bertanggung jawab untuk produksi matriks tulang. Genistein menyebabkan sel osteoblas untuk melepaskan banyak vesikel matriks, kolagen, dan fosfatase alkali. Vesikel matriks bertindak sebagai pusat kalsifikasi. Hal ini menunjukkan bahwa genistein dapat membantu mencegah osteoporosis dan hilangnya massa tulang.

SIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian tepung tempe pada tikus ovariektomi selama empat bulan dapat memperbaiki kualitas tulang dengan meningkatkan kadar kalsium, fosfor dan mempertahankan keseimbangan rasio antara kalsium dengan fosfor pada plasma dan tulang serta meningkatkan sel osteoblas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, ucapan terimakasih disampaikan kepada DP2M Dikti atas dana penelitian Hibah Kompetensi yang dibiayai dari dana DIPA Dikti sesuai dengan SP2HP No: 357/SP2HP/Dit.litabmas/IV/2011, tanggal 14 April 2011, dengan Surat Perjanjian Pelaksana Penelitian Tahun Anggaran 2011, Nomor: 1987.2/UN.14/ KU.03.04/ PERJAN -JIAN/2011, atas nama I Nyoman Suarsana

DAFTAR PUSTAKA

Atkinson C. 2004. The effects of phytoestrogen isoflavones on bone density in women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 79(2): 326-333.

- [EFSA]The European food safety authority. 2005. Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the commission related to the tolerable upper intake level of phosphorus. *EFSA J* 233: 1-19.
- Bell NH. 2003. RANK Ligand and the regulation of skeletal remodeling. *J Clin Invest* 111: 1120-1122.
- Berndt T, Kumar R. 2008. Novel mechanisms in the regulation of phosphorus homeostasis. *Physiology* 24: 17-25.
- Bonjour JP, Chevalley T, Ferrari S, Rizzoli R. 2009. The importance and relevance of peak bone mass in the prevalence of osteoporosis. *Salud Publica Mex* 51:S5-17(Suppl 1).
- Heinemann C, Heinemann S, Worch H, Hanke T. 2011. Development of An Osteoblast/Osteoclast Co-Culture Derived By Human Bone Marrow Stromal Cells And Human Monocytes For Biomaterials Testing. *European Cell and Materials* 21: 80-93.
- Hunter D, De Lange M, Snieder H, MacGregor AJ, Swaminathan R, Thakker RV *et al*. 2001. Genetic contribution to bone metabolism, calcium excretion, and vitamin D and parathyroid hormone regulation. *J Bone Miner Res* 16: 371-378.
- Karyadi D. 2000. Ciri fungsional tempe dalam kerangka nilai tambah gizi, kesehatan, pencegahan dan pengobatan. Di dalam prosiding *Seminar Massa Depan Industri Tempe Menghadapi Milenium Ketiga*. Yayasan Tempe Indonesia.
- Kawiyana S. 2010. Mendambakan Tulang Tetap Kuat Sehat dan Kuta di Hari Tua Melalui Pemahaman Osteoporosis dan Penanggulangannya. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besa Tetap dalam Bidang Ilmu Bedah Pada Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Sabtu 20 Maret 2010. 44 halaman.
- Kuiper GGJM, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, Van der Saag PT, Van der Burg B, Gustfssn JA. 1998. Interaction of estrogenic chemical and phytoestrogens with estrogen receptor α . *Endocrinology* 139: 4252-4263.
- Makmun LH. 2002. Peran antioksidan Terhadap jantung Usia lanjut. Dalam *Prosiding temu ilmiah Geriatri 2002*. Tim Editor: Supatondo dkk. Jakarta. Pusat Informasi dan Penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Mann GE, Rowlands DJ, Li FYL, de Winter P, Siow RCM. 2007. Activation of endothelial nitric oxide synthase by dietary isoflavones: Role of NO in Nrf2-mediated antioxidant gene expression. *Cardiovascular Research* 75: 261-274.
- Matsuo K, Irie N. 2008. Osteoclast-osteoblast communication. *Arch Biochem Biophys* 473: 201-209.
- Miyamoto T. 2011. Review: Regulators of Osteoclast Differentiation and Cell-Cell Fusion. *Keio J Med* 60 (4): 101-105
- Morito K. 2001. Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors α and β . *Biol Pharm Bull* 24: 351-356.
- Morris C, Thorpe J, Ambrosio L, Santin M. 2006. The Soybean Isoflavone Genistein Induces Differentiation of MG63 Human Osteosarcoma Osteoblasts. *Journal of Nutrition*. 136(5):1166-1170.
- Nakajima N, Nozki N, Ishihara K. 2005. Analysis Isoflavone content in tempeh, a fermented soybean and preparation of a new isoflavone-enriched tempeh. *J Biosci Bioeng* 100: 685-687.
- Oestergaard S, Sondergaard BC, Hoegh-Andersen P, Henriksen K, Qvist P, Christiansen C, Tankó LB, Karsdal MA. 2006. Effects of Ovariectomy and Estrogen Therapy on Type II Collagen Degradation and Structural Integrity of Articular Cartilage in Rats. *Arthritis & Rheumatism* 54(8): 2441-2451.
- Parffit AM. 2002. Targeted and nontargeted bone remodeling: relationship to basic multicellular unit origination and progression. *Bone* 30: 5-7
- Pfeilschifter J, Koditz R, Pfohl M, Schatz H. 2002. Changes in Inflammatory Cytokine Activity after Menopause. *Endocrine Reviews* 23(1): 90-110.
- Sabri M. 2011. Aktivitas ekstrak etanol batang sipatah-patah (*Cissus quadrangula salisb*)

- sebagai antiosteoporosis pada tikus (*Rattus norvegicus*). Disertasi. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Suarsana N, Dharmawan NS, Priosoeryanto BP, Gorda W. 2011. Tepung tempe kaya isoflavon dapat meningkatkan kadar kalsium, fosfor dan estrogen plasma tikus betina normal. *J. Veteriner* 12 (3): 229-234
- Tang BM, Eslick GD, Nowson C, Smith C, Bensoussan A. 2007. Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis. *Lancet* 370: 657-666.
- Theobald HE. 2005. Dietary calcium and health. British Nutrition Foundation. *Nutrition Bulletin* 30: 237-277
- Zallone A. 2006. Direct and Indirect Estrogen Action on Osteoblast and Osteoclast. *Ann NY Acad Sci* 1068: 173-179.