

Pengaruh Pemberian Suplemen Kalsium Karbonat Dosis Tinggi Pada Tikus Putih Ovariohisterektomi terhadap Mineralisasi Ginjal

(MINERALIZATION STUDY OF RENAL RATS FOLLOWING OVARYOHYSTERECTOMY AND ADMINISTRATION HIGH DOSE CALCIUM CARBONATE)

Wiwik Misaco Yuniarti¹, Ira Sari Yudaniayanti¹, Nusdianto Triakoso¹

¹Bagian Klinik Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Kampus C. Jln. Mulyorejo Surabaya, 60115. Telp. 031-5993016, 031-5992785.
Email wiwikmisaco@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian suplemen kalsium karbonat dosis tinggi pada tikus putih pasca ovariohisterektomi terhadap kadar kalsium dan fosfor dalam ginjal. Dalam penelitian ini digunakan 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina jenis *Sprague dawley* umur 12 minggu. Pada umur 13 minggu dilakukan operasi ovariohisterektomi pada semua hewan coba. Pada umur 15 minggu hewan percobaan dibagi secara acak menjadi empat kelompok perlakuan yaitu P0 : diberi pakan standar tanpa pemberian suplemen kalsium; P1: suplementasi CaCo₃ 75 mg per ekor per hari; P2 : suplementasi CaCo₃ 225 mg per ekor per hari; P3 : suplementasi CaCo₃ 450 mg per ekor per hari. Pada akhir perlakuan seluruh hewan coba dieuthanasi dan selanjutnya ginjal sinister diambil untuk pemeriksaan kadar kalsium-fosfor. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian suplemen kalsium karbonat dosis tinggi 450 mg/ekor/hari pada tikus ovariohisterektomi (P3) mempunyai kadar kalsium ginjal terendah, tetapi secara statistik tidak berbeda nyata dengan dosis lainnya. Kadar fosfatnya tertinggi pada perlakuan P3 dan sangat nyata berbeda dengan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan adanya retensi fosfat yang merupakan gejala gagal ginjal melanjut.

Kata Kunci : Ovariohisterektomi, kalsium karbonat, ginjal.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of high dose calcium carbonate in rat (*Rattus norvegicus*) following ovariectomy. A total of twenty female rats at 13 week-old were used in this study. Following ovariectomy, the animals were randomized in four treatment groups. Group P0 were fed with standard food only P1, P2 and P3 groups treated with standard food but supplemented calcium carbonate respectively at the dose of 75 mg per animal per day, 225 mg per animal per day, and 450 mg per animal per day. The calcium carbonate supplement were given daily in the morning for 42 days. The experimental animals were sacrificed at 21 week-old. Calcium and phosphorus level in sinister kidneys were determined by spectrophotometric method. The data obtained from this study were analysed using one way analysis of variance. No significant difference was observed in calcium level among four treatment groups, with the lowest level were found in P3 group. However, the phosphorus level of P1 was significantly lower than those of P2 and P3 groups. The highest phosphorus level was observed in P3 group, indicating a phosphorus retention and the signs of renal failure.

Key word : Ovariectomy, calcium carbonate, renal

PENDAHULUAN

Dawson and Hughes (1996) dalam penelitiannya menyatakan bahwa dengan hilangnya estrogen karena menopause, wanita juga akan cepat kehilangan mineral. Kehilangan mineral tersebut dapat mencapai 3% per tahun selama lima tahun pertama dan sekitar 1% pertahun pada tahun-tahun

berikutnya. Pada masa yang akan datang, usia harapan hidup di Indonesia terus meningkat sehingga osteoporosis sangat mungkin menjadi masalah kesehatan dan sosioekonomi utama di masyarakat, di samping penyakit jantung koroner dan kanker (Magetsari, 1999).

Osteoporosis pada wanita pascamenopause umumnya disebabkan oleh hilangnya fungsi estrogen sehingga pencegahan dan pengobatan

yang dapat dilakukan adalah dengan pemberian estrogen atau preparat penggantinya (Gass and Neff, 1995). Pada pengobatan hormonal, yang harus diperhatikan adalah kontra indikasi dan efek samping yang dapat ditimbulkannya, seperti kanker payudara, karsinoma endometrium, perdarahan vagina, tromboflebitis aktif, tromboemboli dan serangan iskemik sementara (Nguyen *et al.* 1995).

Menurut Preisinger *et al.* (1995), pencegahan osteoporosis yang baik adalah dengan menjaga keseimbangan kalsium dalam tulang. Hal itu dapat dilakukan dengan menghindari hilangnya kalsium yang berlebihan dari ginjal dan menghindari gangguan penyerapan kalsium oleh usus. Saat ini, terdapat fenomena dalam masyarakat bahwa osteoporosis dapat dicegah dengan cara meningkatkan asupan kalsium yang dilakukan dengan meningkatkan konsumsi kalsium, baik dalam bentuk suplemen tablet maupun dengan cara menkomsumsi susu berkalsium tinggi. Pemilik hewan kesayangan juga berusaha memberikan kalsium kepada hewan peliharaannya sebagai usaha mencegah terjadinya gangguan proses pembentukan tulang. Penggunaan kalsium dosis tinggi tanpa diikuti dengan fosfor dalam takaran yang seimbang dikhawatirkan dapat mengganggu keseimbangan kalsium – fosfor di dalam tubuh, yang dapat berakibat pada terjadinya presipitasi garam kalsium pada berbagai jaringan, terutama ginjal (Osborne *et al.*, 1972).

Firmansyah (2005), melaporkan pemberian suplemen kalsium karbonat dosis tinggi (450 mg/hari) mempengaruhi proses perbaikan gambaran histopatologik tulang femur pada tikus putih yang diovariohisterektomi, tetapi masih terdapat beberapa hal lain yang perlu diteliti, seperti pengaruh suplemen kalsium karbonat dosis tinggi terhadap morfologi dan fungsi ginjal secara umum.

Berdasarkan hal tersebut di atas, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh kalsium karbonat dosis tinggi pada tikus terhadap gambaran mineralisasi ginjal. Tujuan ovariohisterektomi pada tikus adalah untuk mengkondisikan hewan model mengalami defisiensi estrogen, sehingga menyerupai kondisi wanita yang mengalami menopause. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian suplemen kalsium karbonat dosis tinggi pada tikus putih pasca ovariohisterektomi terhadap kadar kalsium dan fosfor dalam ginjal. Hasil penelitian

ini diharapkan dapat digunakan sebagai sumber informasi ilmu pengetahuan dan sebagai bahan pertimbangan dalam penggunaan kalsium pada penderita osteoporosis

METODE PENELITIAN

Hewan Coba

Dalam penelitian ini digunakan 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina jenis *Sprague dawley* umur 12 minggu dengan berat badan 150 – 200 g sebagai hewan percobaan. Tikus diberi pakan BUR - II (PT. Guyofeed, Surabaya). Hewan ditempatkan dalam kandang individu, dan diadaptasikan terhadap pakan dan lingkungan selama satu minggu. Selama masa adaptasi, hewan coba diberi pakan standar sebanyak 10% berat badan (± 20 g) dan air minum secara *ad libitum*.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan lima kali ulangan pada setiap perlakuan. Setiap kelompok perlakuan diberi kalsium karbonat dengan dosis yang berbeda.

Ovariohisterektomi dan Pemberian Kalsium Karbonat

Pada umur 13 minggu dilakukan operasi ovariohisterektomi pada semua hewan coba. Tujuannya untuk menimbulkan kondisi defisiensi hormon estrogen yang analog dengan kondisi hormonal wanita pascamenopause. Pada umur 15 minggu, hewan percobaan dibagi secara acak dalam empat perlakuan, masing-masing terdiri dari lima ekor tikus betina ovariohisterektomi sebagai ulangan. Masing-masing hewan coba yang telah diacak ditempatkan dalam kandang individu sesuai perlakuan. Perlakuan meliputi P0 : hewan coba dengan pakan standar tanpa pemberian suplemen kalsium; P1 : hewan coba dengan pakan standar dengan suplementasi kalsium 75 mg per ekor per hari; P2 : hewan coba dengan pakan standar dengan suplementasi kalsium 225 mg per ekor per hari; P3 : hewan coba dengan pakan standar dengan suplementasi kalsium 450 mg per ekor per hari. Suplemen kalsium dicampur dengan aquades dan diberikan secara peroral dengan *feeding tube* pada pagi hari selama 42 hari. Selama percobaan hewan diberi pakan standar sebanyak 10% BB (± 20 g)/ekor/hari dan air minum secara *ad libitum*. Pada akhir perlakuan (umur 21 minggu) seluruh

hewan coba dieuthanasi dengan cara dislokasi tulang leher. Ginjal sinister diambil untuk dilakukan pemeriksaan kadar kalsium-fosfor. Analisis kadar kalsium-fosfor dilakukan di Fakultas MIPA UGM, dengan menggunakan AAS (*Atomic Absorbance Spectrofotometric*) dengan alat Perkin Elmer 3110 untuk kalsium, sedangkan untuk analisis fosfor menggunakan metode spektrofotometri dengan alat Spektrometri 20 D Miltron Roy.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan kadar kalsium dan fosfor ginjal dianalisis dengan sidik ragam/anova pola searah dan dilanjutkan dengan Tukey HSD *test*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan kadar kalsium ginjal berdasarkan analisis statistika menggunakan anova pola searah menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) diantara perlakuan (Tabel 1.)

Hasil analisis statistik anova pola searah terhadap kadar fosfat ginjal menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) di antara perlakuan (Tabel 1.). Tukey HSD *test* menunjukkan bahwa kadar fosfat ginjal yang terendah terdapat pada perlakuan P1, yaitu tikus ovariohisterektomi dengan pakan standar dan suplementasi kalsium 75 mg per ekor per hari yang tidak berbeda nyata dengan kelompok P0, tapi berbeda nyata dengan kelompok P2 dan P3, demikian juga P0 tidak berbeda nyata dengan P2 dan P3.

Menurut Cunningham (1992), sebagian besar kalsium yang difiltrasi di dalam ginjal, 98-99% akan diserap kembali. Sekitar 60% kalsium diserap kembali di tubulus kontortus proksimal, sedangkan sisanya diserap kembali di bagian asenden lengkung henle dan tubulus kontortus distal. Reabsorpsi di dalam tubulus

kontortus distalis merupakan proses transpor aktif yang diatur oleh hormon paratiroid, sedangkan reabsorpsi kalsium oleh tubulus kontortus proksimal tidak secara langsung dipengaruhi oleh hormon paratiroid. Hal serupa dinyatakan oleh Djojosoebagio (1990), bahwa proses reabsorpsi kalsium mempunyai titik penentu (TmCa) pada tubulus bagian distalis. TmCa akan bergantung kepada hormon paratiroid yang beredar di dalam peredaran darah sesuai kebutuhan tubuh..

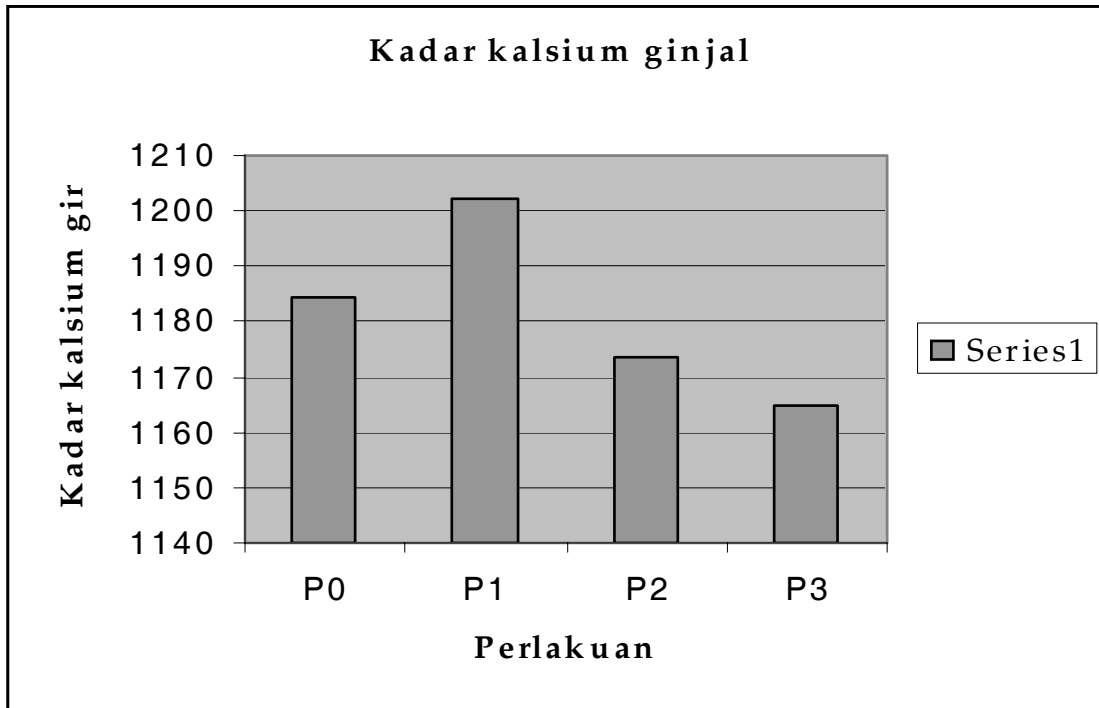
Berbeda dengan kalsium, 80-90% fosfat mengalami proses filtrasi di dalam glomerulus dan sebagian besar akan direabsorpsi di tubulus proksimal melalui proses transpor aktif. Proses ini sangat dihambat oleh hormon paratiroid. Proses reabsorpsi kalsium mempunyai titik penentu pada tubuli distalis, sedangkan proses reabsorpsi fosfat mempunyai titik penentu (TmP/GFR) pada tubuli bagian proksimal. Penyarangan fosfat yang meningkat oleh glomerulus yang disebabkan oleh meningkatnya kadar fosfat dalam serum, umumnya tidak diimbangi dengan meningkatkan penyerapan kembali fosfat dalam ginjal. Kelebihan filtrasi fosfat ini akan diekskresikan melalui urine sehingga sistem penyerapan fosfat menjadi jenuh (Djojosoebagio,1990).

Estrogen berperan amat penting dalam proses homeostasis, yaitu sebagai menunjang sekresi kalsitonin, sebagai inhibitor resorpsi tulang, dan dapat meningkatkan kadar 1,25 dihidrosikolekalsiferol (1,25 DHCC) yang berfungsi untuk meningkatkan derajat absorpsi kalsium di usus, serta mempunyai pengaruh anabolik terhadap tulang (Stevenson and Marsh, 1992). Pada tikus yang mengalami ovariohisterktomi dan hanya diberi pakan standar tanpa suplementasi kalsium (perlakuan P0), memungkinkan hewan untuk menderita hipokalsemia karena fungsi estrogennya mulai menurun sehingga proses penyerapan kalsium di usus juga menurun.

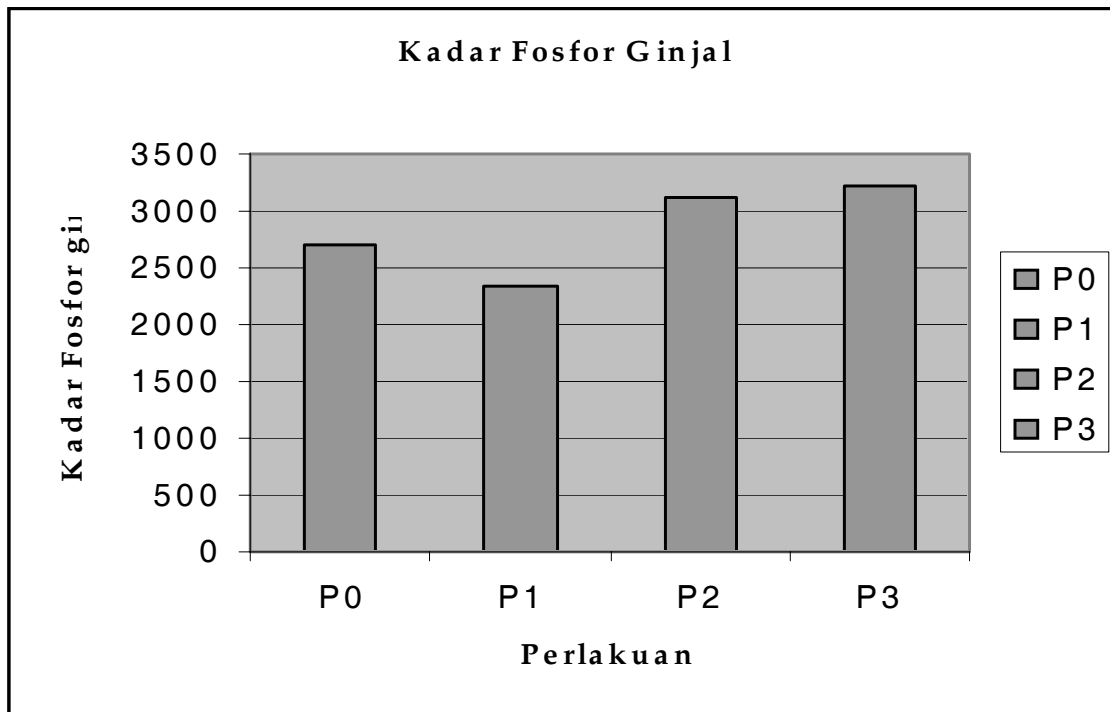
Tabel 1. Rata-rata dan standart deviasi kadar kalsium dan fosfat ginjal (ppm) tikus ovariohisterktomi pada minggu ke-8

Perlakuan	Kadar Kalsium (ppm)	Kadar Fosfat (ppm)
Kelompok P0	1184,23 ^a ± 92,5	2700,01 ^{ab} ± 362,09
Kelompok P1	1202,24 ^a ± 95,23	2335,44 ^a ± 264,35
Kelompok P2	1173,35 ^a ± 133,91	3112,87 ^b ± 477,76
Kelompok P3	1164,85 ^a ± 310,22	3228,85 ^b ± 450,48

a,b, superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).



Gambar 1. Kadar kalsium ginjal pada tikus ovariohisterektomi pada minggu ke 8



Gambar 2. Kadar fosfat ginjal pada tikus ovariohisterektomi pada minggu ke 8

Keadaan hipokalsemia akan merangsang sistem homeostasis untuk bekerja secara langsung pada tulang melalui aktifitas hormon paratiroid (PTH). Hormon tersebut bekerja pada ginjal, terutama pada bagian tubulus kontortus distalis, untuk meningkatkan reabsorpsi kalsium sehingga kadar kalsium ekstra sel meningkat. Sebaliknya, jika PTH bekerja pada tubulus kontortus proksimal dan distalis, maka reabsorpsi fosfat akan menurun sehingga kadar fosfat cairan ekstra sel juga menurun (Cunningham, 1992). Temuan tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini bahwa meskipun kadar kalsium ginjal tidak menunjukkan perbedaan yang nyata di antara perlakuan, kadar kalsium pada kelompok P0 lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan P2 dan P3 lainnya. Hasil ini menunjukkan bahwa ada proses aktif reabsorpsi kalsium dalam tubulus kontortus distalis pada perlakuan P0 untuk mencegah terjadinya hipokalsemia. Namun, karena asupan kalsium hanya berasal dari pakan standar, kalsium yang terabsorpsi tidak setinggi pada perlakuan P1 yang diberi suplemen kalsium. Kadar fosfat dalam ginjal pada perlakuan P1 paling rendah dan tidak berbeda nyata dengan P0, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan P2 dan P3. Hal ini tampaknya terjadi karena hormon paratiroid bekerja pada tubulus kontortus proksimalis untuk menurunkan reabsorpsi fosfat dan meningkatkan sekresi fosfat melalui urine.

Kadar kalsium ginjal terendah ditemukan pada perlakuan P3, meskipun secara statistika tidak berbeda nyata dengan kelompok yang lainnya. Keadaan ini tampaknya disebabkan oleh kemampuan tubuh untuk mengatasi hipokalsemia. Namun, karena asupan kalsium yang diberikan cukup tinggi dan melebihi yang dibutuhkan oleh tubuh, kalsium tidak direabsorpsi oleh tubulus kontortus distalis setelah difiltrasi oleh glomerulus. Kalsium yang tidak tereabsorpsi selanjutnya dieksresikan melalui urin. Sebaliknya, tubulus kontortus proksimalis bereaksi untuk mereabsorpsi fosfat sehingga kadar fosfat ginjal yang tertinggi terdapat pada perlakuan P3 yang secara nyata lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok P1.

Hasil ini sesuai dengan temuan Wideman *et.al* (1989) bahwa asupan kalsium yang tinggi akan meningkatkan kadar kalsium urin, akan menurunkan kadar fosfat urin dan menurunkan kadar kalsium ginjal dan meningkatkan kadar

fosfat ginjal. Asupan kalsium yang tinggi tanpa disertai dengan peningkatan asupan fosfor akan menyebabkan rasio kalsium dan fosfor tidak seimbang dan rendahnya asupan fosfor akan menstimulasi 1,25 dihidroksikolekalsiferol untuk meningkatkan absorpsi kalsium sehingga hormon paratiroid akan memicu terjadinya hiperkalsiuria dan hipofosfaturia.

SIMPULAN

Asupan kalsium yang tinggi tanpa diikuti oleh peningkatan asupan fosfor akan menyebabkan rasio kalsium dan fosfor menjadi tidak seimbang. Absorpsi kalsium yang berlebihan akan diekskresikan melalui urine sehingga terjadi hiperkalsiuria. Sebagai akibatnya, kadar kalsium dalam ginjal menurun yang dapat memicu tubulus kontortus proksimal unyuk mereabsorpsi fosfat. Reabsorpsi fosfat menyebabkan retensi fosfat dalam ginjal dan jika keadaan ini berlangsung lama, maka dapat mengganggu fungsi ginjal.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kepada Rektor Universitas Airlangga penulis sampaikan terima kasih atas bantuan dananya sehingga penelitian ini dapat berlangsung. Terima kasih juga disampaikan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Kepada semua pihak yang telah ikut membantu, penulis sampaikan banyak terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

- Cunningham JG. 1992. *Textbook of Veterinary Physiology*, Philadelphia : W.B. Saunders Company, pp. 416-423.
- Dawson and Hughes B, 1996. Calcium and vitamin D nutritional needs of elderly woman. *J Nutr* 126 : 1165 – 1167.
- Djojosoebagio S. 1990. *Fisiologi Kelenjar Endokrin*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Bogor : Pusat Antar Universitas. Ilmu Hayati IPB
- Firmansyah I. 2005. Gambaran histopatologik tulang Femur tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Ovariohisterektomi Dengan Suplemen Kalsium Karbonat Dosis Tinggi. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya.

- Gass R and Neff M, 1995. Prevention of menopausal osteoporosis. *Schweiz Med Wochenschr* 125 : 1538 – 1591.
- Magetsari R. 1999. Osteoporosis Pada Wanita Pascamenopause. Seminar Bahagia Menjelang dan Sesudah Menopause, Yogyakarta : 27 – 33
- Nguyen TVC, Jones G, Sambrook PN, White GP, Kelly PJ and Eisman JA, 1995. Effect of estrogen exposure and reproductive factor and bone mineral density and osteoporotic fractures. *J Clin Endocrinol Metab* 80 : 2709 – 2714.
- Osborne CA, Low DG, Finco DR, 1972. *Canine and Feline Urology*. Philadelphia : WB Saunders Co., Philadelphia, pp 127 – 135; 165 – 169; 214 – 219.
- Preisinger E, Alaclamioglu Y, Pils K, Saradeth T and Scheider B, 1995. Therapeutic exercise in the prevention of bone loss. *Am J Phys Med Rehabil* 74 : 120 – 123.
- Stevenson JS, Marsh MS, 1992. *An Atlas of Osteoporosis*. New Jersey : Parthenon Pub., New Jersey, USA.
- Wideman R.S., Roush W.B., Satnick J.L., Gahn R.P. and Oldroyd N.O., 1989. Methionine Hydroxy analog (free acid) reduces avian kidney damage and urolithiasis induced by excess dietary calcium. *J Nutr* 119.