

## Keterkaitan Panhisterektomi dan Suplemen 1,25-Dihidroksivitamin D<sub>3</sub> dengan Risiko Urolitiasis pada Tikus

(CORRELATION BETWEEN PANHISTERCTOMY AND 1,25-DIHYDROXYVITAMIN D<sub>3</sub> SUPPLEMENTATION ON RATS UROLITHIASIS RISK)

Hartiningsih<sup>1</sup>, Devita Anggraeni<sup>1</sup>, Irkham Widiyono<sup>2</sup>, Hastari Wuryastuti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bagian Ilmu Bedah dan Radiologi, <sup>2</sup>Bagian Ilmu Penyakit Dalam,  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada  
Jln. Fauna 2 Kampus UGM Yogyakarta  
E-mail: hartiningsih56@yahoo.com

### ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji keterkaitan antara panhisterektomi dan suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> dengan risiko urolitiasis pada tikus *Wistar*. Sebanyak 20 tikus betina *Wistar* umur delapan minggu, dibagi empat kelompok (kontrol diberi pakan standar, kontrol diberi pakan standar+suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>, panhisterektomi diberi pakan standar, dan panhisterektomi diberi pakan standar +suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>) masing-masing lima tikus. Sebelas minggu pascaoperasi, masing-masing tikus dimasukkan ke kandang metabolik individu untuk studi *balance* selama satu minggu. Pada hari ke 4-11 studi *balance*, setiap pagi dilakukan pengumpulan dan pengukuran sisa pakan, feses, dan urin untuk pemeriksaan Ca. Pada akhir studi *balance* dilakukan pengambilan darah lewat kantung retroorbitalis untuk pemeriksaan estrogen. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekskresi Ca dalam urin dan feses tikus panhisterektomi tidak berbeda dengan tikus kontrol. Konsumsi Ca tikus panhisterektomi lebih rendah secara nyata (P<0,05) dibandingkan dengan tikus kontrol, sedangkan konsentrasi estrogen tikus panhisterektomi tidak berbeda dengan tikus kontrol. Ekskresi Ca dalam urin dan konsumsi Ca tikus yang diberi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> lebih tinggi secara nyata (P<0,05) dibandingkan dengan tikus tanpa suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>, tetapi ekskresi Ca dalam feses tidak berbeda nyata. Estrogen tikus yang diberi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> lebih rendah secara nyata (P<0,05) dibandingkan dengan tikus tanpa suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa panhisterektomi tidak berisiko terhadap urolitiasis, sedangkan konsumsi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> berisiko terhadap urolitiasis. Tidak ada keterkaitan antara panhisterektomi dengan suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> terhadap risiko urolitiasis pada tikus *Wistar*.

Kata-kata kunci : panhisterektomi, 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>, Ca urin, urolitiasis

### ABSTRACT

The objective of this research was to study the correlation of panhisterectomy and supplement 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on urolithiasis risk in *Wistar* rats. Twenty female *Wistar* rats at 8 weeks of age, were divided into four groups (control fed standard diet, control fed standard diet+1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> supplement, panhisterectomy fed standard diet and panhisterectomy fed standard diet +1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> supplement). Eleven weeks after treatment, each of rats was placed into individual metabolic cage for balance study for a week. From day 4 to 11 of the balance study, every morning the remaining food, feces, and urine were collected and recorded for calcium (Ca) analysis. At the end of balance study, blood samples were taken from canthus retroorbitalis medialis for estrogen analysis. The results showed urinary and fecal Ca excretions were not significantly different compared to the control group. Calcium consumption was significantly higher (P<0.05) in panhisterectomized rats compared with those in control rats. While, estrogen in panhisterectomized group was not significantly different to those in control rats. Calcium urinary and Ca consumption in rats consuming 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> supplement were significantly higher (P<0.05) compared with those in without 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> supplementation, but Ca excretion in feses was not significantly different. Estrogen in rats consuming 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> supplement was significantly lower (P<0.05) compared with the rats that without 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> supplementation. It can be concluded that panhisterectomy does not seem to affect urolithiasis risk, while 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> supplement may affect urolithiasis risk. There is likely no association between panhisterectomy and 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> supplementation on urolithiasis risk in *Wistar* rats.

Keywords : Panhisterectomy, 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, Ca urinary, urolithiasis

## PENDAHULUAN

Urolitiasis tidak hanya terjadi pada manusia, tetapi juga banyak terjadi pada hewan seperti anjing dan kucing. Urolit, terutama yang terdiri dari garam kalsium, kejadiannya sering terkait dengan turunnya kandungan mineral tulang. Penelitian yang dilakukan oleh Trinchieri (2005) menunjukkan bahwa terjadi penurunan densitas mineral tulang pada penderita nefrolitiasis atau batu ginjal.

Etiologi dan patogenesis urolitiasis tergantung pada jenis urolit, urolit urat, oksalat, struvite, sistein atau kalsium. Salah satu faktor yang terlibat dalam patogenesis urolit adalah terjadinya peningkatan konsentrasi mineral pembentuk urolit dalam urin sehingga menyebabkan konsentrasi urin menjadi sangat jenuh atau terjadi supersaturasi. Tingginya ekskresi kalsium dalam urin atau hiperkalsiuria dapat mengubah komposisi fisikokimia urin, dapat menjadi pemicu supersaturasi urin, terbentuknya inti urolit, dan pertumbuhan urolit garam kalsium yang umumnya berupa kalsium oksalat atau kalsium fosfat (Coe *et al.*, 1992; Bushinsky, 2000).

Hiperkalsiuria umumnya disebabkan oleh meningkatnya absorpsi Ca usus (Coe *et al.*, 2005; Pak *et al.*, 2005), reabsorpsi Ca tulang dan turunnya reabsorpsi Ca melalui tubulus ginjal (Van Abel *et al.*, 2002). Beberapa peneliti melaporkan bahwa vitamin D bentuk aktif berperan penting dalam absorpsi Ca usus dan reabsorpsi Ca oleh ginjal (Hoenderop *et al.*, 2001; Van Cromphaut *et al.*, 2001; Hoenderop *et al.*, 2002; Van de Graaf *et al.*, 2004). Kelebihan vitamin D atau hipervitaminosis D dapat menyebabkan hiperkalsemia, dan hiperkalsiuria (Yacobus *et al.*, 1992; Erben *et al.*, 1998), mineralisasi jaringan dan terbentuknya nefrolit (Sairanen *et al.*, 2000).

Turunnya estrogen pada individu pascamenopause maupun tikus pascaovariotomi dapat menjadi penyebab turunnya absorpsi Ca usus, tingginya ekskresi Ca melalui ginjal, dan hilangnya massa tulang (Holzherr *et al.*, 2000; Van den Hauvel *et al.*, 2000; Watanabe *et al.*, 2001; O'Loughlin dan Morris, 2003). Menurut beberapa peneliti, estrogen beraksi langsung pada duodenum untuk mendorong absorpsi Ca secara transpor aktif (Xu *et al.*, 2003; Van Abel *et al.*, 2003), beraksi langsung pada ginjal untuk meningkatkan reabsorpsi Ca dalam tubulus ginjal (McKane *et al.*, 1995; Van Abel, 2002) dan beraksi secara tidak langsung melalui aktivasi

ginjal untuk mengkonversi vitamin D tidak aktif menjadi aktif (Notelovitz, 1997). Turunnya estrogen dengan demikian menurunkan 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>, sementara pemberian suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> mungkin dapat menyebabkan urolitiasis terutama jika dikonsumsi individu pascamenopause yang memanfaatkan teri tawar sebagai sumber Ca dan vitamin D. Kebenaran dari dugaan ini masih perlu didukung dengan penelitian lebih lanjut. Dilaporkan oleh Holick (2004) dan Tangpricha *et al.*, (2003) bahwa ikan teri tawar selain mengandung protein tinggi dan mineral Ca, P dalam jumlah seimbang (1:1-2:1) juga merupakan sumber vitamin D.

Oleh karena itu penelitian ini dimaksudkan untuk mengkaji keterkaitan antara panhisterektomi dan suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> dengan resiko urolitiasis pada tikus *Wistar* yang mengkonsumsi teri tawar. Dengan demikian dapat diperoleh informasi tentang manfaat dan keamanan 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> pada ginjal selama pemanfaatan 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> untuk pencegahan demineralisasi tulang apabila dikonsumsi oleh individu pascapanhisterektomi (pascamenopause) yang mengkonsumsi teri tawar.

## METODE PENELITIAN

Sebanyak 20 ekor tikus *Wistar* betina umur delapan minggu dan pakan standar yang mempunyai kandungan protein 20%, Ca 0,6%, P 0,4% digunakan dalam penelitian ini. Komposisi pakan standar (% atau g/100 g pakan) yang diberikan terdiri dari 78% jagung, 20% ikan teri, 0,7% molase, 0,3% CaCO<sub>3</sub>, dan 1,0% vitamin mineral. Tikus ditempatkan dalam kandang individu dengan suhu ruang berkisar 22-25°C, diberi pakan standar dan air minum aquabidestilata secara *ad libitum*.

Pada waktu berumur delapan minggu, tikus dibagi empat kelompok (kontrol diberi pakan standar, kontrol diberi pakan standar+suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>, panhisterektomi diberi pakan standar, dan panhisterektomi diberi pakan standar+suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>) masing-masing lima tikus. Suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> (kalsitriol) diberikan secara oral sebanyak 8 ng/hari/tikus. Pada waktu berumur sembilan minggu, tikus kelompok panhisterektomi dilakukan panhisterektomi

(operasi pengambilan uterus dan ovarium). Operasi panhisterektomi dilakukan sesuai dengan metode yang dijabarkan oleh Wanfort dan Flecknell (1992) yaitu dengan membuat sayatan pada linea alba mulai dari umbilikus ke arah kaudal. Sebagai anestetika digunakan campuran ketamin 10% dosis 50 mg/kg bobot badan dan xylazine 2% dosis 5 mg/kg berat badan yang diinjeksikan secara intramuskuler. Hal yang sama dilakukan pada tikus kontrol meskipun tidak dilakukan pengambilan uterus dan ovarium (operasi semu). Satu hari pascaoperasi, semua tikus diberi perlakuan selama 12 minggu.

Sebelas minggu pascaoperasi, setiap tikus dimasukkan ke kandang metabolik individu untuk studi *balance* selama satu minggu. Studi *balance*, untuk mengetahui konsumsi Ca, ekskresi Ca feses, dan ekskresi Ca urin, dimulai setelah adaptasi hari ke 4 (hari ke 5-11). Selama studi *balance*, setiap hari sisa pakan dan feses dikumpulkan, ditimbang, dan disimpan pada suhu -5°C untuk pemeriksaan Ca. Pada waktu yang sama, urin juga dikumpulkan, diukur, diasamkan (pH 1) dalam larutan HCl 37%, dan disimpan pada suhu -5°C untuk pemeriksaan Ca. Pada akhir studi *balance* dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan hormon estrogen. Estrogen diperiksa dengan teknik *enzyme immunoassay* (EIA) (Omega Laboratorium).

Kalsium dan fosfor pakan diperiksa dengan alat *automatic chemistry Beckman Counter synchron Cx9 Pro.*, metoda *Arsenazo III*. Pemeriksaan Ca dalam feses dilakukan dengan metode yang sama, setelah pakan dan feses ditentukan kadar airnya, diabukan pada suhu 600°C sesuai dengan metode Harris (1970). Pemeriksaan Ca urin juga dilakukan dengan metode Harris, setelah urin diuapkan pada suhu 60°C, dilarutkan dalam asam HCl 37%, dan diencerkan dalam aquabidestilata. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam/ anova.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Konsumsi dan Ekskresi Kalsium dalam Feses**

Hasil analisis konsumsi Ca dan ekskresi Ca dalam feses menunjukkan bahwa tikus panhisterektomi secara nyata mengkonsumsi Ca lebih rendah (P<0,05) dibandingkan dengan tikus kontrol, namun ekskresi Ca dalam feses

tidak berbeda nyata dengan tikus kontrol (Tabel 1 dan Tabel 2).

Rendahnya konsumsi Ca pada tikus panhisterektomi, dan tidak adanya perbedaan ekskresi Ca dalam feses menunjukkan tingkat absorpsi Ca melalui usus yang lebih rendah pada tikus panhisterektomi. Dilaporkan oleh Scholz-Ahrens *et al.*, (2007) bahwa nilai absorpsi mineral Ca adalah selisih dari jumlah mineral Ca yang dikonsumsi dengan jumlah mineral Ca yang diekskresikan dalam feses. Beberapa peneliti melaporkan bahwa ovariektomi pada tikus menurunkan absorpsi Ca dalam usus (Kalu dan Orchii, 1999; Watanabe *et al.*, 2001; O’Loughlin dan Morris, 2003). Para peneliti lain membuktikan bahwa terapi dengan hormon estrogen meningkatkan absorpsi Ca melalui usus halus tikus ovariektomi (O’Loughlin dan Morris, 1998; Colin *et al.*, 1999; Kalu dan Orchii, 1999). Menurut Chen dan Kalu (1998) estrogen

Tabel 1. Rataan konsumsi Ca (mg/hari) tikus *Wistar* yang mengkonsumsi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> selama 12 minggu

Kelompok	Pakan standar+ 1,25-dihidroksi- vitamin D <sub>3</sub>	Pakan standar
Panhisterektomi	72,35±17,25 <sup>a</sup>	61,15±13,91 <sup>aa</sup>
Kontrol	76,59±8,83 <sup>b</sup>	65,39±8,91 <sup>bb</sup>

Keterangan:  
Angka dalam satu baris yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan beda nyata  
Angka dalam satu kolom yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan beda nyata

Tabel 2. Rataan Ca feses (mg/hari) tikus *Wistar* yang mengkonsumsi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> selama 12 minggu

Kelompok	Pakan standar+ 1,25-dihidroksi vitamin D <sub>3</sub>	Pakan standar
Panhisterektomi	13,93±2,28 <sup>a</sup>	13,02±2,15 <sup>a</sup>
Kontrol	14,92±2,06 <sup>a</sup>	14,01±2,38 <sup>a</sup>

Keterangan:  
Angka dalam satu baris yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata  
Angka dalam satu kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata

berperan langsung dalam absorpsi Ca usus secara transpor aktif melalui reseptor estrogen yang terdapat pada sel mukosa usus halus. Van Abel *et al.*, (2003) juga melaporkan bahwa estrogen beraksi langsung pada duodenum untuk mendorong absorpsi Ca secara transeluler atau melalui transpor aktif yang ditandai dengan meningkatnya media absorpsi Ca secara transeluler seperti *Transient Receptor Potential-Vanilloid* (TRPV5 dan TRPV6), protein pengangkut Ca kalbindin-D<sub>9k</sub>, dan pompa Ca *Plasma membran Ca<sup>2+</sup>-ATPase* (PMCA1b). Dalam penelitian ini, konsentrasi estrogen tikus panhisterektomi tidak berbeda dengan tikus kontrol (Tabel 3). Hal tersebut memberi gambaran bahwa rendahnya tingkat absorpsi Ca melalui usus pada tikus panhisterektomi mungkin disebabkan oleh lebih rendahnya 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> sebagai akibat konsumsi pakan yang lebih rendah pada tikus panhisterektomi, sehingga jumlah vitamin D yang dikonsumsi juga lebih rendah. Namun demikian, dalam penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan terhadap status 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>.

Hasil analisis konsumsi Ca dan ekskresi Ca dalam feses menunjukkan bahwa tikus yang diberi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>, mengkonsumsi Ca lebih tinggi secara nyata dan mengekskresikan Ca dalam feses tidak berbeda nyata dengan tikus tanpa suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> (Tabel 1 dan Tabel 2). Konsumsi Ca pada tikus yang diberi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> lebih tinggi dan ekskresi Ca dalam feses yang tidak berbeda nyata dengan tikus tanpa suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> menunjukkan tingginya tingkat absorpsi Ca usus. Wood *et al.*, (1998) juga melaporkan bahwa tikus *Sprague Dawley* betina yang mengkonsumsi vitamin D tinggi, meningkatkan konsentrasi 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> dan meningkatkan absorpsi Ca melalui usus. Beberapa peneliti juga melaporkan terjadinya peningkatan absorpsi Ca usus pada mencit yang diinjeksi 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> intraperitoneal (Song dan Fleet, 2007), maupun pada tikus yang diinfus 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> (Wood *et al.*, 1998), dan tikus *Wistar* yang mengkonsumsi vitamin D lebih tinggi (Vieth *et al.*, 2000) yang ditandai dengan meningkatnya media transportasi Ca transeluler. Penelitian menggunakan mencit yang dilakukan Song *et al.*, (2003) juga menunjukkan bahwa mencit yang mempunyai konsentrasi 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> dalam darah berturut-

turut sebanyak 556±29 pmol/L, 319±36 pmol/L, dan 58 ± 12 pmol/L mengakibatkan absorpsi Ca usus sebanyak 57,2±2,8%, 17,3±2,0%, 4,4±0,5%. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> dalam darah, semakin tinggi absorpsi Ca melalui usus, dan sebaliknya.

Dalam penelitian ini, lebih rendahnya konsentrasi estrogen pada tikus yang diberi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> dibandingkan dengan tikus tanpa suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> (Tabel 3), dan lebih tingginya absorpsi Ca melalui usus pada tikus yang diberi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> dibandingkan dengan tikus tanpa suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> memberi gambaran bahwa 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> berperan penting dalam absorpsi Ca melalui usus. Menurut Van Cromphaut *et al.*, (2001), Van de Graaf *et al.*, (2004), dan Van Abel *et al.*, (2003) 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> berperan dalam absorpsi Ca usus melalui aktivasi media transportasi Ca transeluler. Beberapa peneliti melaporkan bahwa suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> meningkatkan absorpsi Ca usus yang ditandai meningkatnya mediator transpot Ca transeluler seperti *epithelial Ca channel* (ECaCl) pada membran apeks sel epitel usus (Hoenderop *et al.*, 1999), mRNA kalbindin D<sub>9k</sub> duodenum (Song *et al.*, 2003; Bronner, 2003; Slepchenko dan Bronner; 2001) dan *Plasma membran Ca<sup>2+</sup>-ATPase 1b* (PMCA1b) (Kip dan Strehler, 2004).

### Konsentrasi Estrogen

Hasil analisis terhadap estrogen menunjukkan bahwa tikus panhisterektomi mempunyai estrogen tidak berbeda dengan tikus kontrol, sementara tikus yang diberi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> mempunyai estrogen nyata lebih rendah ( $P<0,05$ ) dibandingkan dengan tikus tanpa suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> (Tabel 3).

Lebih tingginya kenaikan bobot badan tikus panhisterektomi dibandingkan tikus kontrol diduga menjadi penyebab tidak berbedanya estrogen tikus panhisterektomi dengan tikus kontrol. Dalam waktu 12 minggu pasca panhisterektomi, rataan bobot badan tikus panhisterektomi mengalami kenaikan ±193 g atau dua kali dibandingkan rataan kenaikan bobot badan tikus kontrol ±93 g. Hartiningsih *et al.*, (2010) juga melaporkan bahwa dalam waktu 1,5 bulan pascapanhisterektomi, estrogen



tikus panhisterektomi tidak berbeda dengan tikus kontrol yang mengkonsumsi kasein. Kenaikan bobot badan lebih tinggi pada tikus panhisterektomi dibandingkan tikus kontrol diduga menjadi penyebab tidak berbedanya estrogen tikus panhisterektomi dengan tikus kontrol. Wade (1985) dan Meli *et al.*, (2004) melaporkan terjadinya kenaikan bobot badan dan jaringan lemak/*adipose* pada hewan percobaan yang dilakukan ovariektomi maupun pada perempuan menopause terkait dengan hilangnya fungsi ovarium baik karena faktor umur atau pembedahan. Kanchuk *et al.*, (2003) juga melaporkan terjadinya kenaikan bobot badan kucing pascagonadektomi dan meningkatnya jumlah jaringan lemak tubuh. Pada perempuan pramenopause, menurut Goji (1993) lebih dari 95% estrogen 17 $\alpha$ -estradiol (E2) dan estron (E1) dalam serum diproduksi ovarium. Pada masa menopause, ovarium berhenti memproduksi estrogen. Semua estrogen

yang bersirkulasi diproduksi oleh jaringan ekstragonade seperti sel mesenkim jaringan lemak. Dari temuan tersebut diperoleh gambaran bahwa tidak berbedanya estrogen antara tikus panhisterektomi dengan tikus kontrol diduga terkait dengan peningkatan bobot badan dan peningkatan jaringan lemak, yang berperan sebagai sumber estrogen ekstragonad tikus panhisterektomi. Rendahnya konsentrasi estrogen pada tikus yang diberi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> dibandingkan dengan tikus tanpa suplemen (Tabel 3) diduga terkait dengan peran 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> dalam metabolisme estrogen. Dilaporkan Hughes *et al.*, (1997) bahwa terapi dengan 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> 10 nM selama 20 hari mengaktifasi mRNA 17 $\alpha$ -hidroksisteroid dehidrogenase, suatu isoenzim yang berperan mengkonversi estradiol aktif menjadi estron yang tidak aktif. Krishnan *et al.*, (2010) juga melaporkan bahwa 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> (kalsitriol) secara signifikan menurunkan ekspresi aromatase, suatu enzim yang mengkatalisis sintesis estrogen.

Tabel 3. Rataan estrogen darah (pg/ml) tikus *Wistar* yang mengkonsumsi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> selama 12 minggu

Kelompok	Pakan standar+ 1,25-dihidroksi- vitamin D <sub>3</sub>	Pakan standar
Panhiste- rektomi	15,51±1,29 <sup>a</sup>	16,18±1,63 <sup>b</sup>
Kontrol	16,81±3,15 <sup>a</sup>	17,61±3,09 <sup>b</sup>

Keterangan:

Angka dalam satu baris yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan beda nyata

Angka dalam satu kolom yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan beda nyata

Tabel 4. Rataan Ca urin (mg/hari) tikus *Wistar* yang mengkonsumsi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> selama 12 minggu

Kelompok	Pakan standar+ 1,25-dihidroksi- vitamin D <sub>3</sub>	Pakan standar
Panhiste rektomi	2,52±1,98 <sup>a</sup>	1,51±1,06 <sup>b</sup>
Kontrol	1,95±2,14 <sup>a</sup>	0,94±0,73 <sup>b</sup>

Keterangan:

Angka dalam satu baris yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan beda nyata

Angka dalam satu kolom yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan beda nyata

### Ekskresi Kalsium dalam Urin

Hasil analisis ekskresi Ca dalam urin tikus panhisterektomi tidak berbeda nyata dengan tikus kontrol meskipun cenderung lebih tinggi (Tabel 4). Konsentrasi hormon estrogen antara tikus panhisterektomi dengan tikus kontrol tidak berbeda, meskipun cenderung lebih rendah, diduga menjadi penyebab tidak adanya perbedaan ekskresi Ca dalam urin antara tikus panhisterektomi dengan tikus kontrol. Menurut Van Abel *et al.*, (2002) estrogen berperan langsung dalam reabsorpsi Ca dalam tubulus ginjal secara transeluler. Pemberian suplemen estrogen (17 $\beta$ -Estradiol) meningkatkan reabsorpsi Ca dalam tubulus ginjal tikus melalui pengaturan ekspresi *epithel calcium channel* (ECaCl), suatu saluran tempat masuknya Ca pada epitel tubulus ginjal yang terlibat dalam transpor Ca transeluler, kalbindin D<sub>28K</sub>, dan pompa Ca dalam tubulus ginjal, yang tidak tergantung pada 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>. Dilaporkan Van Abel *et al.*, (2002) dan Hoenderop *et al.*, (1999) bahwa turunnya estrogen menyebabkan ekskresi Ca melalui ginjal meningkat. Nordin *et al.*, (1991) dan Prince *et al.*, (1991) juga melaporkan bahwa penelitian yang dilakukan secara *in vivo* menunjukkan bahwa defisiensi hormon estrogen meningkatkan pembuangan Ca melalui ginjal yang dapat

dikoreksi dengan terapi pengganti estrogen. Dari uraian tersebut diperoleh gambaran bahwa panhisterektomi selain tidak berpengaruh terhadap konsentrasi estrogen, juga tidak berpengaruh terhadap ekskresi Ca urin, dengan demikian tidak beresiko terhadap terbentuknya urolit dalam saluran perkencingan.

Hasil analisis ekskresi Ca dalam urin tikus yang diberi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> secara nyata lebih tinggi dibandingkan dengan tikus tanpa suplemen (Tabel 4). Sairanen *et al.*, (2000) melaporkan bahwa absorpsi Ca yang lebih tinggi pada usus individu yang mengkonsumsi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> memicu peningkatan Ca darah (hiperkalsemia) dan meningkatkan ekskresi Ca dalam urin (hiperkalsiuria). Zhu *et al.*, (2008) juga melaporkan bahwa absorpsi Ca yang lebih tinggi pada usus, memicu peningkatan Ca darah, menurunkan hormon paratiroid dalam sirkulasi darah, dan meningkatkan ekskresi Ca dalam urin. Dalam penelitian ini, tikus yang diberi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> juga mempunyai konsentrasi estrogen lebih rendah dibandingkan dengan tikus tanpa suplemen (Tabel 3). Konsentrasi estrogen yang lebih rendah diduga menjadi penyebab lebih tingginya ekskresi Ca dalam urin tikus yang diberi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>. Menurut Monk dan Bushinsky (2003), urolitiasis kebanyakan sangat terkait dengan tingginya ekskresi kalsium dalam urin. Heller (1999) juga melaporkan bahwa tingginya ekskresi kalsium dalam urin dapat menjadi pemicu terbentuknya urolit dan turunnya densitas tulang. Berdasarkan uraian tersebut diperoleh gambaran bahwa suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> yang diduga menjadi faktor penyebab turunnya konsentrasi estrogen, secara tidak langsung diduga menjadi penyebab tingginya ekskresi Ca dalam urin, dan menjadi pemicu terbentuknya urolit dalam saluran perkencingan.

### SIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa panhisterektomi tidak beresiko mendorong terjadinya urolitiasis, sedangkan konsumsi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> beresiko terhadap terjadinya urolitiasis. Tidak ada keterkaitan antara panhisterektomi dengan suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> terhadap risiko urolitiasis pada tikus *Wistar*.

### SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jenis kristal atau urolit yang berada di dalam urin, dan kemungkinan terjadinya pengendapan kalsium dalam tulang atau mobilisasi kalsium dari dalam tulang pada individu yang mengkonsumsi teri tawar dan suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> dalam waktu yang lebih lama.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan sebagian hasil Penelitian Ilmu-ilmu Dasar (PID). Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (DP2M) DIKTI tahun anggaran 2006 yang telah memberi dana penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

- Bourrin S, Toromanoss A, Ammann P, Bonjour JP, Rizzoli R. 2000. Dietary protein deficiency induces osteoporosis in aged male rats. *J Bone Miner Res* 15: 1555-1563.
- Bronner F. 2003. Mechanisms of intestinal calcium absorption. *J Cell Biochem* 88: 387-393.
- Bushinsky DA, Parker WR, Asplin JR. 2000. Calcium phosphate supersaturation regulates stone formation in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int* 57: 550-560.
- Chen C, Kalu DN. 1998. Modulation of intestinal estrogen receptor by ovariectomy, estrogen and growth hormone. *JPET*. 286: 328-333.
- Coe FL, Parks JH, Asplin JR. 1992. The pathogenesis and treatment of kidney stones. *N Engl J Med* 327: 1141-1152.
- Coe FL, Evan A, Worcester E. 2005. Kidney stone disease. *J Clin Invest* 115: 2598-2608.
- Colin EM, Van Den Bemd GJ, Van Aken M, Christakors S, De Jonge HR, Deluca HF, Prah JM, Birkenhager JC, Buurman CJ, Pols HA, Van Leeuwen JP. 1999. Evidence for involvement of 17 beta-estradiol in intestinal calcium absorption independent of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> level in the rat. *J Bone Miner Res* 14: 57-64.
- Draper CR, Dick DI, Prince RL. 1999. The effect of estrogen deficiency on calcium balance in mature rats. *Calcif. Tissue Int* 64: 325-328.

- Erben RG, Bromm S, Stangassinger M. 1998. Therapeutic efficacy of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and calcium in osteopenic ovariectomized rats: Evidence for a direct anabolic effect of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on bone. *Endocrinology*. 139(10): 4319-4328.
- Goji K. 1993. Twenty-four-hour concentration profiles of gonadotropin and estradiol (E<sub>2</sub>) in prepubertal and early pubertal girls: the diurnal rise of E<sub>2</sub> is opposite the nocturnal rise of gonadotropin. *J Clin Endocrinol Metab* 77: 1629-1635.
- Harris LE. 1970. Nutrition research techniques for domestic and wild animals, Vol.1. Logan, Utah. Animal Science Dept. Utah State Univ., Pp. 3701-3702.
- Hartiningsih, Widiyono I, Anggraeni D. 2004. Respon tulang dan ginjal tikus penderita osteopati terhadap konsumsi ikan teri tawar atau kedelai: Studi penanggulangan osteodistrofia fibrosa. Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada.
- Hartiningsih, Widiyono I, Anggraeni D. 2010. Pengaruh panhisterektomi dan konsumsi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> selama 1,5 bulan terhadap retensi kalsium pada tikus Wistar. *Jurnal Veteriner* 11(1): 24-29.
- Heller HJ. 1999. The role of calcium in the prevention of kidney stones. *J Am Nutr* 18: 373S-378S.
- Hoenderop JG, Van der Kemp AW, Hartog A, Van de Graaf SF, Van Os CH, Willems PH, Bindels RJ. 1999. Molecular identification of the apical Ca<sup>2+</sup> channel in 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-responsive epithelia. *J Biol Chem*. 274: 8375-8378.
- Hoenderop JG, Muller D, Van Der Kemp AW, Hartog A, Suzuki M, Ishibashi K, Imai M, Sweep F, Willems PH, Van Os CH, Bindels RJ. 2001. Calcitriol controls the epithelial calcium channel in kidney. *J Am Soc Nephrol* 12: 1342-1349.
- Hoenderop JG, Dardenne O, Van Abel M, van der Kemp AW, Van Os CH, Arnaud R, Bindels RJ. 2002. Modulation of renal Ca<sup>2+</sup> transport protein genes by dietary Ca<sup>2+</sup> and 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-1 $\alpha$ -hydroxylase knockout mice. *FASEB J*. 16: 1398-1406.
- Holick MF. 2004. Vitamin D: Importance in the prevention of cancer, type I diabetes, heart disease and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 79: 362-371.
- Holzherr ML, Retallack RW, Gutteridge DH, Price RI, Faulkner DI, Wilson SG, Will RK, Steward GO, Stuckey BG, Prince RL, Criddle RA, Kent GN, Bhagat CI, Dhaliwal SS, Jamrozik K. 2000. Calcium absorption in postmenopausal osteoporosis: benefit of HRT plus calcitriol, but not HRT alone, in both malabsorbers and normal absorbers. *Osteoporos Int* 11: 43-51.
- Hughes SV, Robinson E, Bland R, Lewis HM, Stewart PM, Hewison M. 1997. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> regulated estrogen metabolism in cultured keratinocytes. *Endocrinology* 138 (9): 3711-3718.
- Kalu DN, Orchii PB. 1999. Calcium absorption and bone loss in ovariectomized rats fed varying level dietary calcium, *Calcif. Tissue Int* 65: 73-77.
- Kanchuk ML, Backus RC, Calvert CC, Morris JG, Rogers QR. 2007. Weight gain in gonadectomized normal and lipoprotein lipase-deficient male domestic cats result from increased food intake and not decreased energy expenditure. *J Nutr* 133: 1866-1874.
- Kip SN, Strehler EE. 2004. Vitamin D<sub>3</sub> upregulates plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase expression and potentiates apical-basal Ca<sup>2+</sup> flux in MDCK cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 286: F363-F369.
- Krishnan AV, Swami S, Peng L, Wang J, Moreno J, Feldman D. 2010. Tissue selective regulation of aromatase expression by calcitriol implications for breast cancer therapy. *Endocrinology*. 151(1): 32-42.
- McKane WR, Khosla S, Burritt MF, Kao PC, Wilson DM, Ory SJ, Riggs BL. 1995. Mechanism of renal calcium conservation with estrogen replacement therapy in women in early postmenopause - a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 3458-3464.
- Meli R, Pacilio M, Raso GM, Esposito E, Coppola A, Nasti A, Di Carlo C, Nappi C, Di Carlo R. 2004. Estrogen and raloxifene modulate leptin and its receptor in hypothalamus and adipose tissue from ovariectomized rats. *Endocrinology* 145: 3115-3121.
- Monk RD, Bushinsky DA. 2003. Kidney stones. In *Williams textbook of endocrinology*. Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, and Polonsky KS, Ed Philadelphia. WB Saunders. Pp. 1411-1425.
- Morris HA, O'Loughlin PD, Mason RA, Schulz SR. 1995. The effect of oophorectomy on calcium homeostasis. *Bone* 17: 189S-174S.

- Nordin BEC, Need AG, Morris HA, Horowitz M, Robertson WG. 1991. Evidence for a renal calcium leak in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 72: 401-407.
- Notelovitz M. 1997 Estrogen therapy and osteoporosis: principles & practice. *Am J Med Sci* 313(1): 2-12.
- O'Loughlin PD, Morris HA. 1998. Estrogen deficiency impairs intestinal calcium absorption in rat. *J Physiol.* 511: 313-322.
- O'Loughlin PD, Morris HA. 2003. Oophorectomy acutely increases calcium excretion in adult rats. *J Nutr* 133: 2277-2280.
- Pak CY, Odvina CV, Pearle MS, Sakhaee K, Peterson RD, Poindexter JR, Brinkley LJ. 2005. Effect of dietary modification on urinary stone risk factors. *Kidney Int.* 68: 2264-2273.
- Prince RL, Smith M, Dick IM, Price RI, Webb PG, Henderson NK, Harris MM. 1991. Prevention of postmenopausal osteoporosis: A comparative study of exercise, calcium supplementation, and hormone-replacement therapy. *N Engl J Med* 325: 1189-1195.
- Sairanen S, Karkkainen M, Tahtel R, Laitinen K, Makela P, Lamberg-Allardt C, Valimaki MJ. 2000. Bone mass and markers of bone and calcium metabolism in postmenopausal women treated with 1,25-dihydroxyvitamin D (Calcitriol) for four years. *Calcif Tissue Int.* 67: 122-127.
- Scholz-Ahrens KE, Deling G, Stampa B, Helfenstein A, Hahne HJ, Acil Y, Timm W, Barkmann R, Hassenpflug J, Schrezenmeir J, Gluer CC. 2007. Glucocorticosteroid-induce osteoporosis in adult primiparous Gottingen miniature pigs : effects on bone mineral and mineral metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293: E385-E395.
- Shirke SS, Jadhav SR, Jagtap AG, 2008. Methanolic extract of Cuminum cyminum inhibits ovariectomy-induced bone loss in rats. *Exp. Biol. Med.* 233: 1403-1410.
- Slepchenko BM, Bronner F. 2001. Modeling of transcellular Ca transport in rat duodenum points to coexistence of two mechanisms of apical entry. *Am J Physiol* 281: C270-C281.
- Song Y, Kato S, Fleet JC. 2003. Vitamin D Receptor (VDR) Knockout Mice Reveal VDR-Independent Regulation of Intestinal Calcium Absorption and ECaC2 and Calbindin D<sub>9k</sub> mRNA. *J Nutr* 133: 374-380.
- Song Y, Fleet, JC. 2007. Intestinal resistance to 1,25 Dihydroxyvitamin D in Mice Heterozygous for the Vitamin D Receptor Knockout Allele. *Endocrinology* 148 (3): 1396-1402.
- Tangpricha V, Koutika P, Ricke SM, Chen TC, Perez AA, Holick MF. 2003. Fortification of orange juice with vitamin D : a novel approach to enhance vitamin D nutritional health. *Am J Clin Nutr* 77: 1478-83.
- Trinchieri A. 2005. Bone mineral content in calcium renal stone formers. *Journal Urological Research* 33(4): 247-253.
- Van Abel M, Hoenderop JGJ, Dardenne O, St Arnaud R., Van Os CH, Van Leeuwen HJPTM, Bindels RJM. 2002. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-independent stimulatory effect of estrogen on the expression of EcaC1 in the kidney. *J Am Nephrol.* 13: 2102-2109.
- Van Abel M, Hoenderop JG, van der Kemp AW, van Leeuwen JP, Bindels RJ. 2003. Regulation of the epithelial Ca<sup>2+</sup> channels in small intestine as studied by quantitative mRNA detection. *Am J Physiol. Gastrointest Liver Physiol* 285: 978-985.
- Van Cromphaut SJ, Dewerchin M, Hoenderop JG, Stockmans I, Van Herck E, Kato S, Bindels RJ, Collen D, Carmeliet P, Bouillon R, Carmeliet G. 2001. Duodenal calcium absorption in vitamin D receptor-knockout mice: functional and molecular aspects. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 13324-13329.
- Van de Graaft SF, Boullart I, Hoenderop JG, Bindels RJ. 2004. Regulation of the epithelial Ca<sup>2+</sup> channels TRPV5 and TRPV6 by 1 $\alpha$ ,25 dihydroxy vitamin D<sub>3</sub> and dietary Ca<sup>2+</sup>. *J Steroid Biochem Mol Biol* 89-90: 303-308.
- Van den Heuvel EG, Schoterman MH, Muijs T. 2000. Transgalactooligosaccharides stimulate calcium absorption in postmenopausal women. *J Nutr* 130: 2938-2942.
- Vieth R, Milojevic S, Peltekova V. 2000. Improved cholecalciferol nutrition in rats is noncalcemic, suppresses parathyroid hormone and increases responsiveness to 1,25 dihydroxycholecalciferol. *J Nutr* 130: 578-584.
- Wade GN, Gray JM, Bartness TJ. 1985. Gonadal influences on adiposity. *Int J Obes* 9(1): 83-92.



- Wanfort HB, Flecknell PA. 1992. Specific surgical operations. In : *Experimental and Surgical Technique in the Rat*. 2<sup>nd</sup> ed. New York. Academic Press. Pp 203-312.
- Watanabe O, Hara H, Ayoma Y, Kasai T. 2001. Improving effect of feeding with a phosphorylated guar gum hydrlysate on calcium absorption impaired by ovariectomy in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 65: 613-618.
- Wood RJ, Fleets JC, Cashman K, Bruns ME, Deluca HF. 1998. Intestinal calcium Absorption in the Aged rats : Evidence of Intestinal resistance to 1,25(OH)<sub>2</sub> Vitamin D. *Endocrinology* 39(9): 3843-3848.
- Xu H, Uno JK, Inouye M, Xu L, Dress JB, Collin JF, Ghishan FK. 2003. Regulation of intestinal NaPi-IIb cotransporter gene expression by estrogen. *Am . Physiol Gastrointest* 285: G1317-G1324.
- Yacobus CH, Holick MF, Shao Q. 1992. Hypervitaminosis associated with drinking milk. *N Engl J Med* 326: 1173-1177.
- Zhu K, Devine A, Dick IM, Wilson SG, Prince RL. 2008. Effect of calcium and vitamin D supplementation in hip bone mineral density and calcium-relation analyties in elderly ambulatory Australian women : a five year randomized controlled trial. *J Clin Endocrin and Met* 93(3): 743-749.