

Suplementasi Calcitriol Efektif untuk Penanganan Nefrosis Akut dan Osteoporosis pada Tikus Dewasa

(*CALCITRIOL SUPPLEMENTATION EFFECTIVE FOR ACUTE NEPHROSIS AND OSTEOPOROSIS TREATMENTS IN ADULT RATS*)

Hartiningsih¹, Mario Afra Gracia Kristiano Tanasib²,
Rekha Fatmawati², Devita Anggraeni¹

¹Departemen Ilmu Bedah dan Radiologi

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

²Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

Jl. Fauna 2, Karangmalang, Jogjakarta, Indonesia 55281.

E-mail: hartiningsih@ugm.ac.id; devita_vet@ugm.ac.id

ABSTRAK

Pakan fosfor tinggi menyebabkan nefrosis akut dan osteoporosis. Suplemen 1,25-dihidroksivitamin D₃ efektif untuk menangani osteoporosis dan tidak merubah struktur ginjal pada tikus ovariektomi. Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji efektivitas calcitriol untuk penanganan nefrosis akut dan osteoporosis pada tikus dewasa yang diinduksi pakan fosfor tinggi. Dua puluh lima tikus Wistar betina umur 8 minggu, dibagi lima kelompok (N_k dan N, OD_k, OD, dan OD₄₀). Tikus kelompok OD_k, OD, dan OD₄₀ dilakukan induksi osteoporosis dan nefrosis akut dengan cara diberi pakan fosfor tinggi (Ca:P=0,6%:2,4%) selama delapan minggu. Sebagai kontrol terjadi nefrosis akut dan osteoporosis, delapan minggu pasca induksi, dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan kalsium dan fosfor, selanjutnya tikus N_k dan OD_k dietanasi, tulang tibia dan ginjal kanan diambil untuk pemeriksaan histopatologis. Tikus OD_k mempunyai konsentrasi kalsium dan fosfor dalam darah tidak berbeda dengan tikus N_k. Histopatologis ginjal dan epifisis tulang tibia proksimalis tikus OD_k menunjukkan terjadi nefrosis akut dan osteoporosis. Untuk penanganan nefrosis akut dan osteoporosis, tikus OD₄₀ diberi pakan standar dan *calcitriol* 40 ng, tikus N dan OD diberi pakan standar selama 5 minggu. Pada akhir perlakuan, dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan kalsium dan fosfor, kemudian tikus N, OD, dan OD₄₀ dietanasi, tulang tibia dan ginjal kanan diambil untuk pemeriksaan histopatologis. Konsentrasi kalsium dan fosfor dalam darah tikus OD tidak berbeda dengan tikus N, konsentrasi kalsium tikus OD₄₀ juga tidak berbeda namun konsentrasi fosfor tikus OD₄₀ secara signifikan lebih tinggi dibanding tikus N. Histopatologis ginjal tikus OD₄₀ menunjukkan terjadi perbaikan struktur ginjal menuju normal. Histopatologis epifisis tulang tibia proksimalis tikus OD₄₀ terlihat mempunyai lebih sedikit jaringan adiposit dalam rongga sumsum tulang dan lebih banyak spikulum trabekula. Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa suplemen calcitriol efektif untuk menangani osteoporosis dan nefrosis akut tikus dewasa.

Kata-kata kunci: calcitriol; fosfor tinggi; nefrosis akut; osteoporosis; tikus dewasa

ABSTRACT

High phosphor diet caused acute nephrosis and osteoporosis. 1,25-dihidroksivitamin D₃ supplementation doesn't changed the structure of kidney and effective for osteoporosis treatment in ovariectomized rats. The objective of the research was to study the effectivity of *calcitriol* for acute nephrosis and osteoporosis treatments in adult Wistar rats induced high phosphor diet. Twenty five female Wistar rats, at the age of 8 weeks were randomly divided into five groups (N_k, N, OD_k, OD, and OD₄₀). Rats in N_k and N groups were fed standard diet, while rats in OD_k, OD, and OD₄₀ group were fed high phosphor diet (Ca:P=0,6%:2,4%) for 8 weeks for acute nephrosis and osteoporosis induction. As control acute nephrosis and osteoporosis, after 8 weeks of induction, blood samples were taken from retro orbital plexus for calcium and phosphor analysis. N_k and OD_k rats were then euthanized, right tibia and kidney were taken for histopathological examination using hematoxylin and eosin stain. The results showed that calcium and phosphor levels of OD_k were not significantly different compared with N_k. Histopathological analysis

of the kidney and proksimal tibia epiphysis in OD_k group were showed acute nephrosis and osteoporosis. For the treatment of acute nephrosis and osteoporosis, OD₄₀ rats was given standar diet and *calcitriol* 40 ng, meanwhile, N and OD rats were only given fed with standar diet for 5 weeks. At the end of the study, blood samples were taken from retro orbital plexus for calcium and phosphor analysis. N, OD, and OD₄₀ rats were then euthanized, right tibia and kidney were taken for histopathological examination using hematoxylin and eosin stain. The results showed that calcium and phosphor levels of OD were not different compared with N. Calcium levels of OD₄₀ was not different compared with N, meanwhile phosphor levels of OD₄₀ were significantly increased compared with N. Histopathologically, kidney of OD₄₀ was showed improvement that dose to normal. Meanwhile, proximal tibial epiphysis of OD₄₀ were shown more trabecular bone speculum and less adipocyte in the bone marrow of epiphysis compared with OD. In conclusion, *calcitriol* 40ng/day supplementation in adult rats for 8 weeks was effective for acute nephrosis and osteoporosis treatments.

Key words: acute nephrosis; osteoporosis; adult rats; *calcitriol*; high phosphor diet

PENDAHULUAN

Pakan yang mengandung fosfor tinggi dapat meningkatkan kadar fosfor darah, menurunkan kadar kalsium darah, meningkatkan hormon paratiroid, menyebabkan hiperparatiroid sekunder dan meningkatkan resorpsi tulang (Hartiningih dan Wasito, 2013; Hartiningih *et al.*, 2013; Tani *et al.*, 2007; Katsumata *et al.*, 2005). Tingginya kadar hormon paratiroid juga dapat meningkatkan apoptosis osteoblas dan menurunkan pembentukan tulang (Kroll, 2000; Stanislaus, 2000; Meleti *et al.*, 2000). Beberapa peneliti melaporkan bahwa lebih tingginya aktivitas resorpsi tulang oleh osteoklas dibanding dengan pembentukan tulang oleh osteoblas, memberi gambaran terjadi osteoporosis (Hartiningih dan Anggraeni, 2016; Hartiningih dan Anggraeni, 2015; Karsdal *et al.*, 2007; Seeman *et al.*, 2006; Martin dan Sims, 2005). Tikus dewasa yang diberi pakan fosfor tinggi (Ca:P=1:6) selama 12 minggu menyebabkan hiperplasia kelenjar paratiroid, nefrokalsinosis, dan nefrosis akut (Hartiningih *et al.*, 2013).

Suplemen 1,25-dihidroksivitamin D₃ dapat menurunkan sekresi hormon paratiroid (Seamans dan Casman, 2009; Ramagnoli *et al.*, 2008; Shiizaki *et al.*, 2008), bekerja sebagai antiresorpsi tulang dengan menghambat proliferasi kelenjar paratiroid secara langsung (Gallagher *et al.*, 2001), dan meningkatkan proliferasi preosteoblas menjadi osteoblas, memicu osteoblas untuk meningkatkan pembentukan tulang (Chang *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2006; Anderson *et al.*, 2006). Hormon paratiroid sebagai sistem homeostasis Ca mempertahankan kalsium darah dalam kisaran normal dengan bekerja pada tulang melalui proses pengendapan dan resorpsi atau pengambilan kalsium dari tulang (Taichman, 2005; Hoenderop *et al.*, 2005; Hoenderop *et al.*,

2002; Hurwitz, 1996), dan bekerja pada ginjal melalui peningkatan aktivitas filtrasi pada golmerulus dan aktivitas reabsorpsi pada tubulus untuk reabsorpsi Ca dan meningkatkan ekskresi fosfor (Silva, 2018; Mihai dan Fardon, 2000). Suplemen *calcitriol* 20 ng selama delapan minggu pada tikus ovariektomi menurunkan resorpsi tulang dan meningkatkan pembentukan tulang, menurunkan aktivitas kelenjar paratiroid dan sekresi hormon paratiroid yang ditandai ekskresi Ca urin cenderung lebih tinggi namun tidak mengubah struktur ginjal (Hartiningih *et al.*, 2017; Hartiningih dan Anggraeni, 2016). Tikus ovariektomi osteoporosis yang diberi suplemen *calcitriol* 40ng selama enam minggu menurunkan resorpsi tulang dan meningkatkan pembentukan tulang metafisis tulang femur proksimalis (Hartiningih dan Anggraeni, 2018). Efektivitas suplemen *calcitriol* 40 ng untuk menangani nefrosis akut dan osteoporosis pada tikus dewasa yang diinduksi pakan fosfor tinggi, masih perlu dikaji lebih lanjut. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengkaji efektivitas *calcitriol* untuk penanganan nefrosis akut dan osteoporosis tikus Wistar dewasa pascakonsumsi pakan fosfor tinggi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk menangani nefrosis akut dan osteoporosis pada individu dewasa pascakonsumsi fosfor tinggi.

METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini digunakan 25 tikus Wistar betina dewasa umur delapan minggu, ditempatkan dalam kandang individu dengan suhu ruang berkisar 22-25°C. Tikus dibagi menjadi lima kelompok (N_k, N, OD_k, OD, dan OD₄₀). Tikus dewasa kelompok kontrol normal N_k dan N diberi pakan standar yang mempunyai

kandungan protein 20%, Ca 0,6%, P 0,4% dengan komposisi pakan (g/100 g pakan) terdiri dari 56,5% jagung, 38,5% kedelai, 0,9% CaCO₃, 3% molase, 0,2% NaH₂PO₄ dan 0,9% vitamin dan mineral (Hartiningih *et al.*, 2013) selama delapan minggu dan air minum aquabidestilata diberikan secara *ad libitum*.

Tahap Induksi Nefrosis Akut dan Osteoporosis

Tikus kelompok OD_k, OD, dan OD₄₀ dilakukan induksi nefrosis akut dan osteoporosis dengan cara memberi pakan fosfor tinggi yang mempunyai kandungan protein 20%, Ca 0,6%, P 2,4% dengan komposisi pakan (g/100 g pakan) terdiri dari 49,0% jagung, 40,0% kedelai, 0,9% CaCO₃, 3% molase, 6,2% NaH₂PO₄ dan 0,9% vitamin dan mineral (Hartiningih *et al.*, 2013) selama delapan minggu dan air minum aquabidestilata diberikan secara *ad libitum*.

Tahap Penanganan Nefrosis Akut dan Osteoporosis

Lima minggu pascakonsumsi fosfor tinggi, sebagai kontrol terjadi nefrosis akut dan osteoporosis, tikus N_k dan OD_k dianestesi dengan campuran xylazine 2% dan ketamin 10%, dilakukan pengambilan darah melalui pleksus retroorbitalis untuk pemeriksaan kalsium dan fosfor. Tikus percobaan kemudian dikorbankan nyawanya dengan dietanasi menggunakan campuran xylazine 2% dan ketamin 10%, tulang tibia dan ginjal kanan diambil dan difiksasi dalam formalin 10% untuk pemeriksaan histopatologis.

Untuk penanganan nefrosis akut dan osteoporosis, tikus OD₄₀ diberi pakan standar dan *calcitriol* 40ng/tikus/hari secara oral, tikus N dan OD diberi pakan standar selama lima minggu. Pada akhir perlakuan, tikus dianestesi dengan campuran xylazine 2% dan ketamin 10%, tulang tibia dan ginjal kanan diambil dan difiksasi dalam formalin 10% untuk pemeriksaan histopatologis. Hasil pemeriksaan histopatologis tulang dan ginjal dianalisis secara diskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Konsentrasi kalsium dan fosfor dalam darah tikus OD_k, tikus yang diinduksi nefrosis akut dan osteoporosis dengan diberi fosfor tinggi selama delapan minggu tidak berbeda dengan tikus N_k, tikus kontrol normal (Tabel 1), namun

gambaran histopatologis kelenjar paratiroid terlihat dalam keadaan aktif (Gambar tidak ditampilkan). Hal tersebut memberi gambaran bahwa konsumsi pakan mengandung fosfor tinggi memicu aktivitas kelenjar paratiroid untuk meningkatkan sekresi hormon paratiroid.

Beberapa peneliti melaporkan bahwa asupan fosfor tinggi secara langsung meningkatkan proliferasi sel paratiroid, dan meningkatkan sintesis hormon paratiroid (Martin *et al.*, 2005; Katsumata *et al.*, 2004; Roussanne *et al.*, 2001). Hartiningih *et al.* (2013) melaporkan bahwa tikus dewasa yang diberi pakan fosfor tinggi (Ca:P=1:6) selama 12 minggu menyebabkan hiperplasia kelenjar paratiroid.

Pada pemeriksaan histopatologis ginjal tikus OD_k menunjukkan terjadi nefrosis akut yang ditandai ada endapan protein dalam glomerulus dan atrofi tubulus proksimalis sesuai yang dilaporkan Hasnisa *et al.* (2014). Perubahan struktur ginjal tikus OD_k memberi gambaran bahwa untuk mempertahankan kalsium darah dalam kisaran normal, hormon paratiroid bekerja pada ginjal untuk

Tabel 1. Rataan kalsium dan fosfor darah (mg/dL) tikus Wistar yang diinduksi nefrosis dan osteoporosis dengan diberi fosfor tinggi selama delapan minggu

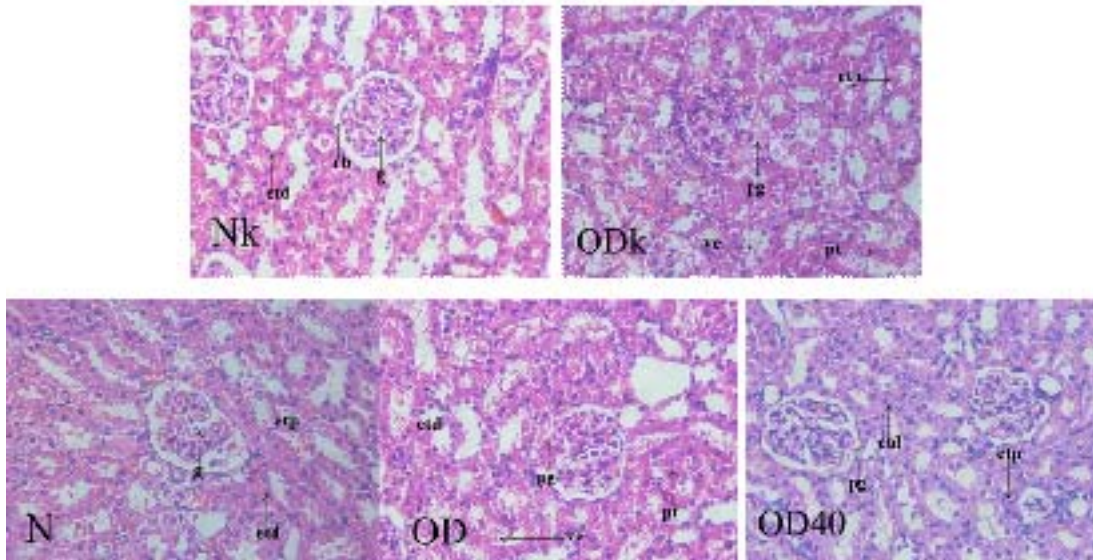
Parameter	Kalsium	Fosfor
Kelompok N _k	2,60±0,10 ^a	4,13±0,76 ^b
Kelompok OD _k	2,61±0,04 ^a	4,40±0,85 ^b

Keterangan: Angka dalam satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda signifikan

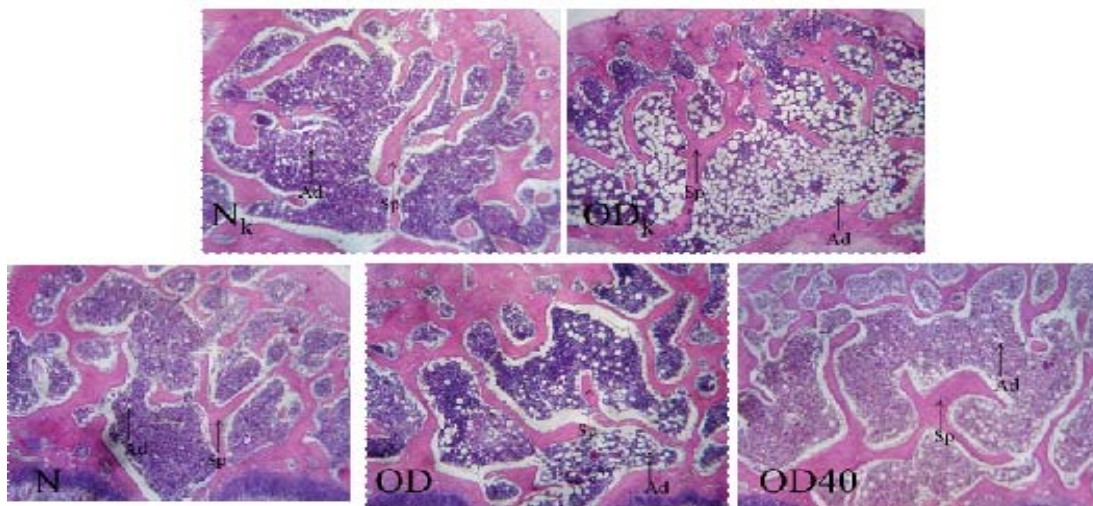
Tabel 2. Rataan kalsium (mg/dL) dan fosfor darah (mg/dL) tikus pada penanganan osteoporosis selama lima minggu

Parameter	Kalsium	Fosfor
Kelompok N	2,65±0,04 ^b	3,87±0,96 ^a
Kelompok OD	2,56±0,02 ^b	3,87±0,60 ^a
Kelompok OD ₄₀	2,58±0,07 ^b	4,40±0,48 ^c

Keterangan : Angka dalam satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda signifikan, dan yang diikuti huruf berbeda menunjukkan berbeda signifikan (P<0,05)



Gambar 1 Pada gambar Nk dan N. Histopatologis ginjal tikus N_k dan N mempunyai struktur normal. Ruang Bowman's yang mengelilingi glomerulus terlihat jelas (rb), sel epitel tubulus berbentuk kuboid (etd), dan glomerulus normal (g); pada gambar Odk, histopatologis ginjal tikus OD_k. Glomerulus terlihat endapan protein (pg), atrofi tubulus proksimalis (etp), tubulus terlihat endapan protein (pt); Pada gambar OD, histopatologis ginjal tikus OD terlihat sedikit endapan protein dalam glomerulus (pg) dan lumen tubulus (pt), penurunan atrofi epitel tubulus proksimalis (etd) dan penurunan vakuolisasi epitel tubulus proksimalis (ve). Pada gambar OD₄₀. Histopatologis ginjal tikus OD₄₀ terlihat endapan protein dalam lumen tubulus (pg), glomerulus atrofi (ga) dan hipertrofi (gh) (Hematoksilin dan eosin, 100 kali).



Gambar 2 Nk dan N adalah histopatologis epifisis tulang tibia proksimalis tikus N_k dan N mempunyai struktur normal, terlihat sedikit jaringan adiposit dalam rongga sumsum tulang (Ad), spikulum trabekula normal (Sp); Gambar ODk adalah histopatologis epifisis tulang tibia proksimalis tikus OD_k, tikus normal yang diberi pakan fosfor tinggi (Ca:P=0,6%:2,4%) terlihat pelebaran rongga sumsum tulang dan dominasi jaringan adiposit dalam rongga sumsum tulang (Ad), sedikit spikulum trabekula (Sp); Gambar OD adalah histopatologis epifisis tulang tibia proksimalis tikus OD, tikus osteoporosis yang diberi pakan standar, terlihat rongga sumsum tulang mendekati normal dan sedikit jaringan adiposit dalam rongga sumsum tulang (Ad), spikulum trabekula mendekati normal (Sp); Gambar OD₄₀ adalah histopatologis epifisis tulang tibia proksimalis tikus OD₄₀, tikus osteoporosis yang diberi pakan standar dan calcitriol OD₄₀, terlihat rongga sumsum tulang normal dan sedikit jaringan adiposit dalam rongga sumsum tulang (Ad), spikulum trabekula normal (Sp) (Hematoksilin-eosin, 100x).

meningkatkan aktivitas filtrasi pada glomerulus dan aktivitas reabsorpsi pada tubulus. Dalam penelitian ini, endapan protein yang terlihat di dalam ruang Bowman's dan tubulus proksimalis pada tikus OD_k adalah sesuai laporan Bawazier (2009) bahwa konsumsi pakan fosfor tinggi meningkatkan aktivitas filtrasi glomeruli, meningkatkan tekanan kapiler glomerulus dan perubahan permeabilitas glomerulus, menyebabkan lolosnya protein dan sel darah sehingga terakumulasi di dalam glomerulus dan tubulus. Dilaporkan oleh Silva (2008) bahwa tingginya aktivitas filtrasi glomeruli dapat menjadi pemicu hipertrofi glomerulus. Beberapa peneliti melaporkan bahwa hipertrofi glomerulus memicu kerusakan glomerulus (Fries *et al.*, 1989; Yoshida *et al.*, 1989; Meyer dan Renner, 1988) dan menyebabkan nefrosis (Miller *et al.*, 1990). Menurut Robertone (1998), kerusakan pada glomerulus dapat menurunkan aliran darah dan menurunkan pengiriman oksigen sehingga menyebabkan atrofi pada tubulus.

Histopatologis ginjal tikus dewasa kontrol normal N_k dan N (Gambar 1:N_k dan Gambar 1:N) tidak ditemukan perubahan, ruang Bowman's yang mengelilingi glomerulus terlihat jelas, kapsul Bowman's mempunyai epitel bentuk pipih, dan sel epitel tubulus proksimalis berbentuk kuboid tinggi dengan lumen lebih sempit, sel epitel tubulus distalis berbentuk kuboid pendek dengan lumen lebih luas sesuai yang digambarkan Hartiningsih *et al.* (2017), Teoh *et al.* (2010) dan Brzoska *et al.* (2003).

Histopatologis epifisis tulang tibia proksimalis tikus normal N_k dan N juga terlihat normal (Gambar 2: N_k dan Gambar 2: N) sesuai yang digambarkan Hartiningsih dan Anggraeni (2017; 2016; 2016 dan 2015) bahwa bagian epifisis proksimalis dan distalis tulang panjang tersusun dari tulang trabekula, dan celah yang menghubungkan antar trabekula diisi oleh sumsum tulang. Dilaporkan Rosen *et al.* (2009) bahwa rongga sumsum tulang ditempati jaringan hematopoietik, jaringan tulang dan jaringan adiposit secara bersama-sama. Muruganandan *et al.* (2009), Pittenger *et al.* (1999), Aubin dan Liu (1996) melaporkan bahwa osteoblas dan adiposit keduanya berasal dari prekursor sel stem mesenkimal sehingga jika ada perubahan laju diferensiasi, daya hidup atau eliminasi dari salah satu garis keturunan osteoblas atau adiposit akan memicu perubahan rasio antara osteoblas dengan adiposit. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, jaringan

adiposit digunakan sebagai petanda keberadaan osteoklas dan aktivitas resorpsi tulang. Sebagai penanda keberadaan osteoblas digunakan spikulum trabekula sesuai laporan Shiraishi *et al.* (2000) bahwa rekrutmen, diferensiasi osteoblas dan pembentukan tulang oleh osteoblas ditandai dengan jumlah dan tebal spikulum trabekula.

Histopatologis epifisis tulang tibia proksimalis tikus OD_k menunjukkan terjadi osteoporosis yang ditandai dominasi jaringan adiposit dalam rongga sumsum tulang, pelebaran rongga sumsum tulang, penurunan tebal dan jumlah spikulum trabekula (Gambar 2: OD_k) sesuai yang digambarkan Hartiningsih dan Anggraeni (2016). Dominasi jaringan adiposit dalam rongga sumsum tulang tikus OD_k memberi gambaran meningkatnya aktivitas resorpsi tulang. Beberapa peneliti lain melaporkan bahwa sel stroma dalam sumsum tulang perempuan pascamenopause penderita osteoporosis lebih cenderung mengalami diferensiasi menjadi adiposit dari pada osteoblas (Sekiya *et al.*, 2004; Rodriguez *et al.*, 2000). Menurut Verma *et al.* (2002), Manolagas (2002), dan Justesen *et al.* (2001) meningkatnya apoptosis osteoblas dan lebih tingginya konversi sel stroma menjadi adiposit dibanding menjadi osteoblas

Menurunkan pembentukan tulang dan menurunkan spikulum trabekula. Beberapa peneliti melaporkan bahwa osteoporosis terjadi akibat lebih tingginya aktivitas resorpsi dibanding dengan pembentukan tulang (Karsdal *et al.*, 2007; Seeman *et al.*, 2006; Martin dan Sims, 2005; Teitelbaum dan Ross, 2003; Goltzman, 2002). Meningkatnya aktivitas resorpsi tulang yang ditandai dominasi jaringan adiposit rongga sumsum tulang dan turunnya pembentukan tulang yang ditandai sedikit spikulum trabekula dan pelebaran rongga sumsum tulang memberi gambaran terjadi osteoporosis. Dari uraian tersebut, memberi gambaran bahwa tikus dewasa yang diberi pakan fosfor tinggi (mengandung 0,6% kalsium dan 2,4% fosfor) selama delapan minggu meningkatkan aktivitas hormon paratiroid, menyebabkan nefrosis akut dan osteoporosis.

Dalam waktu lima minggu pascainduksi nefrosis akut dan osteoporosis, konsentrasi kalsium dan fosfor dalam darah tikus OD, tikus dewasa yang diberi pakan standar juga tidak berbeda dengan tikus N (Tabel 2). Konsentrasi fosfor dalam darah tikus OD yang tidak berbeda dengan tikus N diduga terkait dengan jumlah

fosfor yang dikonsumsi. Dilaporkan oleh Tani *et al.* (2007) bahwa absorpsi fosfor melalui intestinal paralel dengan jumlah fosfor yang dikonsumsi. Penggantian pakan dari pakan fosfor tinggi dengan pakan standar diduga menyebabkan aktivitas kelenjar paratiroid kembali normal. Histopatologis kelenjar paratiroid tikus OD juga terlihat ada perubahan aktivitas menuju normal (Gambar tidak ditampilkan). Turunnya aktivitas hormon paratiroid selain menurunkan aktivitas filtrasi pada glomerulus dan aktivitas reabsorpsi pada tubulus juga menurunkan aktivitas resorpsi tulang. Histopatologis ginjal tikus OD selain terlihat adanya sedikit endapan protein dalam glomerulus dan tubulus proksimalis, juga ada penurunan atrofi dan vakuolisasi epitel tubulus proksimalis (Gambar 1: OD). Histopatologis ginjal tikus OD menunjukkan bahwa perubahan struktur ginjal bersifat reversibel, sel epitel tubulus segera terjadi regenerasi ketika penyebab utama perubahan struktur ginjal dihilangkan.

Histopatologis epifisis tulang tibia proksimalis tikus OD terlihat mempunyai lebih sedikit jaringan adiposit dalam rongga sumsum tulang dan lebih banyak spikulum trabekula (Gambar 3: OD) dibanding tikus OD_k. Lebih sedikitnya jaringan adiposit dalam rongga sumsum tulang memberi gambaran bahwa konsumsi pakan standar yang diduga menyebabkan turunnya sekresi hormon paratiroid, menurunkan resorpsi tulang yang ditandai lebih sedikit jaringan adiposit dalam rongga sumsum tulang, dan memicu osteoblastogenesis, meningkatkan aktivitas pembentukan tulang oleh osteoblas yang ditandai lebih banyak spikulum trabekula.

Dalam waktu lima minggu pascainduksi nefrosis akut dan osteoporosis, konsentrasi kalsium dalam darah tikus dewasa yang diberi pakan standar dan suplemen calcitriol, tikus OD₄₀ tidak berbeda dengan tikus N namun konsentrasi fosfor tikus OD₄₀ yang lebih tinggi signifikan dibanding dengan tikus N dan tikus OD (Tabel 3). Hal tersebut diduga disebabkan lebih tingginya 1,25-dihidroksivitamin D₃. Wood *et al.* (1998) melaporkan bahwa tikus *Wistar* yang mengkonsumsi vitamin D lebih tinggi, meningkatkan 1,25-dihidroksivitamin D₃ plasma dan meningkatkan absorpsi Ca intestinal. Dilaporkan Zhu *et al.* (2008) bahwa lebih tingginya Ca yang diabsorpsi oleh intestinal, memicu peningkatan Ca darah, dan

menurunkan hormon paratiroid dalam sirkulasi. Suplemen calcitriol pada tikus OD₄₀ juga menurunkan aktivitas kelenjar paratiroid (Gambar tidak ditampilkan). Seamans dan Casman (2009), Ramagnoli *et al.*, (2008) dan Shiizaki *et al.*, (2008) melaporkan bahwa suplemen 1,25-dihidroksivitamin D₃ menurunkan sekresi hormon paratiroid. Didasarkan temuan tersebut memberi gambaran bahwa suplemen calcitriol pada tikus OD₄₀ diduga meningkatkan konsentrasi 1,25-dihidroksivitamin D₃, menurunkan aktivitas kelenjar paratiroid dan sekresi hormon paratiroid dan menurunkan fosfor dalam urin. Namun demikian, dalam penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan terhadap status 1,25-dihidroksivitamin D₃, hormon paratiroid dan ekskresi fosfor dalam urin. Histopatologis ginjal OD₄₀ (Gambar 2:B1 dan Gambar 2:B2) terlihat sedikit endapan protein dalam glomerulus, dan tidak terlihat ada atrofi dan vakuolisasi epitel tubulus yang memberi gambaran regenerasi epitel tubulus tikus OD₄₀ lebih cepat dibanding tikus OD.

Histopatologis epifisis tulang tibia proksimalis tikus OD₄₀ terlihat mempunyai lebih banyak spikulum trabekula (Gambar 3:OD₄₀) dibanding tikus OD (Gambar 3: OD). Dilaporkan oleh Chang *et al.* (2013) dan Anderson *et al.* (2006) bahwa suplementasi 1,25-dihidroksivitamin D₃ meningkatkan proliferasi preosteoblas menjadi osteoblas. Menurut Zhou *et al.* (2006) 1,25-dihidroksivitamin D₃ bekerja langsung pada osteoblas untuk meningkatkan pembentukan tulang. Chang *et al.* (2013) juga melaporkan bahwa suplementasi 1,25-dihidroksivitamin D₃ meningkatkan *marker* pembentukan tulang osteoklasin dan alkaline fosfatase, meningkatkan densitas mineral tulang femur dan volume trabekula tulang femur meskipun lebih rendah dibanding tikus yang diberi estradiol. Dari uraian tersebut memberi gambaran bahwa suplementasi *calcitriol* 40ng/tikus memicu pembentukan tulang yang ditandai lebih banyak spikulum trabekula.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa suplemen *calcitriol* 40 ng/hari/tikus selama lima minggu efektif untuk menangani nefrosis akut dan osteoporosis epifisis tulang tibia tikus dewasa.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efektivitas calcitriol untuk penanganan osteoporosis dan nefrosis akut pada tikus ovariektomi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada yang telah memberi dana penelitian Insentif Penelitian Dosen tahun 2016, dan kepada Dr. Drh Bambang Sutrisno, dosen Departemen Patologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM, untuk pemeriksaan histopatologi ginjal dan kelenjar paratiroid.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson GL, Chlebowski RT, Rossouw E. 2006. Prior hormone therapy and breast cancer risk in the women's health initiative randomized trial of estrogen plus progestin. *Maturitas* 55: 103-115.
- Aubin JE, Liu F. 1996. The osteoblast lineage. In: Bilezikian J, Raisz L, Rodan G, editors. *Principles of Bone Biology*. San Diego, CA: Academic Press. Hlm. 51-68.
- Bawazier LA. 2009. Ginjal Hipertensi: Proteinuria. Dalam: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi L, Simadibrata KM, Setiati S. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi V. Jakarta. Interna Publishing. Hlm. 519-523.
- Brzoska MM, Moniuszko-Jakoniuk J, Pilat-Marcinkiewicz B, Sawicki B. 2003. Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol. *Alcohol & Alcoholism* 38(1): 2-10.
- Chang KL, Hu YC, Hsieh BS, Cheng HL, Hsu HW, Huang LW, and Su SJ. 2013. Combined effect of soy isoflavones and vitamin D3 on bone loss in ovariectomized rats. *Nutrition* 29: 250-257.
- Fries JWU, Sandstrom DJ, Meyer TW, Rennke HG. 1989; Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulated progressive glomerulosclerosis in the rats. *Blab Invest* 60: 205-217.
- Gallagher JC, Fower SE, Detter JR, Sherman SS. 2001. Combination treatment with estrogen and calcitriol in the prevention of age-related bone loss. *The Endocrine Society* 86(8): 3618-3628.
- Goltzman D. 2002. Discoveries, drugs and skeletal disorders. *Nat Rev Drug Discov* 1: 784-796.
- Hartiningsih, Nitisuwirjo S, Wuryastuty H. 2013. Respon tulang, ginjal dan kelenjar paratiroid tikus wistar yang mengkonsumsi pakan mengandung fosfor tinggi bervariasi. *JSV* 31(1): 110-120.
- Hartiningsih, Anggraeni D, Widiyono I, Wuryastuty H. 2015. Respon tulang femur tikus ovariohisterektomi yang mengkonsumsi kasein dan disuplementasi calcitriol selama 30 minggu. *Jurnal Veteriner* 16(1): 68-77.
- Hartiningsih, Anggraeni D. 2015. Suplementasi calcitriol menurunkan risiko osteoporosis tikus ovariektomi. *Jurnal Sain Veteriner* 33(2): 143-148.
- Hartiningsih, Anggraeni D, Sudarminto. 2016. Efektivitas diet teri tawar dan suplementasi kalsitriol untuk mencegah osteoporosis pada tikus ovariektomi. *Jurnal Kedokteran Hewan* 10(1): 19-23.
- Hartiningsih, Anggraeni D. 2016. Ekspresi Tartrate-resistant acid phosphatase 5b pada epifisis tulang femur tikus ovariektomi yang mengkonsumsi kombinasi Calcitriol dan Raloxifene. *Jurnal Veteriner* 17: 1-10.
- Hartiningsih, Puspitasari AD, Putri ND, Arifah N, Pawestri A, Anggraeni D. 2017. Kombinasi calcitriol dan ethynil ethyl estradiol meningkatkan ekskresi kalsium urin dan risiko urolitiasis pada tikus ovariektomi. *Jurnal Veteriner* 18(2): 239-246.
- Hartiningsih and Anggraeni D. 2017. The efectivitiveness of the combinations of calcitriol and ethynil ethyl estradiol to decrease osteoporosis and endometrial cancer risk in ovariectomized rats. *Jurnal Kedokteran Hewan* 11(2): 50-56.
- Hartiningsih, Anggraeni D. 2018. Respon tulang femur tikus osteoporosis yang mengkonsumsi calcitriol. *Jurnal Sain Veteriner* 36(1): 1-10.

- Hasnisa, Juswono UP, Wardoyo AYP. 2014. Pengaruh Paparan Asap Kendaraan Bermotor Terhadap Gambaran Histologi Organ Ginjal Mencit (*Mus musculus*). *Journal Physics Student* 2(1): 573-576.
- 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^{2+} transport protein genes by dietary Ca^{2+} and 1,25-dihydroxyvitamin D_3 in 25-hydroxyvitamin D_3 -1 α -hydroxylase knockout mice. *FASEB J* 16: 1398–1406.
- Hoenderop JG. 2005. Calcium absorption across epithelia. *Physiol Rev* 85: 373-422.
- Hurwitz S. 1996. Homeostatic control of plasma calcium concentration. *Biochem Mol Biol* 31: 91-100.
- Justessen J, Stenderus K, Ebbesen EN, Mosekilde L, Steinche T, Kassem M. 2001. Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis. *Biogerontology* 2(3): 165-171.
- Karsdal MA, Martin TJ, Bollerslev J, Christiansen C, Henriksen K. 2007. Are nonresorbing osteoclasts sources of bone anabolic activity? *J Bone Miner Res* 22: 487-494.
- Katsumata S, Masuyama R, Koshihara M, Matsuzaki H, Uehara M, Suzuki K. 2004. Effect of high phosphorus diet on phosphorus metabolism in parathyroidectomized rats. *Journal BioFactors* 22(1-4): 33-37.
- Katsumata S, Masuyama R, Uehara M, Suzuki K. 2005. High-phosphorus diet stimulates receptor activator of nuclear factor- κ B ligand mRNA expression by increasing parathyroid hormone secretion in rats. *British Journal of Nutrition* 94: 666-674.
- Kroll MH. 2000. Parathyroid hormone temporal effects on bone formation and resorption. *Bull Math Biol* 62(1): 163-188.
- Manolagas SC, Kousteni S, Jilka RL. 2002. Sex steroids and bone. *Recent Prog Horm Res* 57: 385-409.
- Martin TJ, Sims NA. 2005. Osteoclast derived activity in the coupling of bone formation to resorption. *Trend Mol Med* 11: 76-81.
- Martin DR, Ritter CS, Slatopolsky E, Brown AJ. 2005. Acute regulation of parathyroid hormone by dietary phosphate. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289: E729-E734.
- Meleti Z, Shapiro IM, Adam CS. 2000. Inorganic Phosphate induces apoptosis of osteoblast-like cells in culture. *Bone* 7: 359-366.
- Meyer TW, Rennke HG. 1988. Increased single nephron protein excretion after renal ablation in nephritic rats. *Am J Physiol* 255: F1243-1248.
- Mihai R, Faradon JR. 2000. Parathyroid disease and calcium metabolism. *British Journal of Anaesthesia* 85: 29-43.
- Miller PL, Scholey JW, Rennke HG, Meyer TW. 1990. Glomerular hypertrophy aggravates epithelial cell injury in nephritic rats. *J Clin Invest* 85: 1119-1126
- Muruganandan S, Roman AA, Sinal CJ. 2009. Adipocyte differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells: Cross talk with the osteoblastogenic program. *Journal Cellular and Molecular Life Sciences* 66(2): 236-253.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman, MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cell. *Science* 284: 143-147.
- Romagnoli E, Mascia ML, Cipriani C, Fassino V, Mazzei F, D'Erasmo E, Carnevale, V, Scillitani A, Minisola S., 2008. Short and long-term variations in serum calciotropic hormones after a single very large dose of ergocalciferol (vitamin D2) or cholecalciferol (vitamin D3) in the elderly. *J Clin Endocrinol & Metab* 93: 3015-3020.
- Robertone JL. 1998. Chemically induced glomerular injury: A review of basic mechanisms and specific xenobiotics. *Toxicologic Pathology* 26(1): 64-72.
- Rodriguez JP, Garat S, Gajardo H, Pino AM, Seitz G. 1999. Abnormal osteogenesis in osteoporotic patients is reflected by altered mesenchymal stem cells dynamics. *J Cell Biochem* 75: 414–423.

- Rosen CJ, Bouxsein ML. 2006. Mechanisms of disease : is osteoporosis he obesity of bone ? *Nature clinical Practice rheumatology* 2: 35-43.
- Rous. 2001. Human parathyroid cell proliferation in response to calcium, NPS R-467, calcitriol and phosphate. *Eur J Clin Invest* 31: 610-616.
- Seamans KM, Cashman KD. 2009. Existing and potentially novel functional marker of vitamin D status : a systematic review. *Am J Clin Nutr* 89: 1997S-2008S.
- Seeman E, Vellas B, Benhamou C, Aquino JP, Semler J, Kaufman JM, Hoszowski K, Varela AR, Fiore C, Brixen K, Reginster JY, Boonen S. 2006. Strontium ranelate reduce the risk of vertebral and nonvertebral fractures in women eighty years of age and older. *J Bone Miner Res* 21: 1113-1120.
- Sekiya L, Larson BL, Vuoristo JT, Cui JG, Proskop DJ. 2004. Adipogenic differentiation of human adult stem cells from bone marrow stroma (MSCs). *J Bone Miner Res* 19(2): 256-264.
- Shiizaki K, Hatamura I, Negi S, Nakazawa E, Tozawa R, Izawa S, Akizawa T, Kusano E. 2008. Cellular changes following direct vitamin D injection into the uraemia-induced hyperplastic parathyroid gland. *NDT Plus* 1 (suppl 3): iii42-iii48.
- Shiraishi A, Takeda S, Masaki T, Higuchi Y, Uchiyama Y, Kubodera N, Sato K, Ikeda K, Nakamura T, Matsumoto T, Ogata E. 2000. Alfacalcidol inhibits bone resorption and stimulates formation in an ovariectomized rat model of osteoporosis: distinct actions from estrogen. *J bone Miner Res* 15: 235-244.
- Silva PTD, Oloris SCS, Avanzo JL, Fukumasu H, Silva da TC, Hernandez-Blazquez FJ, Dagli MLZ. 2008. Compensatory kidney hypertrophy/hyperplasia after nephrectomy in mice : alterations of connexin 43 (Cx43) phosphorylated isoforms. *Braz J Vet Pathol* 1(1): 3-9.
- Stanislaus D. 2000. In Vivo regulation of apoptosis in metaphyseal trabecular bone of young rats by synthetic human parathyroid hormone (1-34) fragment. *Bone* 27: 209-218.
- Taichman RS. 2005. Blood and bone: Two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem cell niche. *Blood* 105: 2631-2639.
- Tani Y, Sato T, Yamanaka-Okumura H, Yamamoto H, Arai H, Sawaka N, Genjida K, Taketani Y, and Takeda E., 2007. Effects of prolong high phosphorus diet on phosphorus and calcium balance in rats. *J Clin Biochem Nutr* 40(3): 221-228.
- Teitelbaum SL, Ross FP. 2003. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet* 4: 638-649.
- Teoh SL, Latief AA. 2010. Histological changes in the kidney of experimental diabetic rats fed with *Momordica charantia* (bitter melon) extract. *Romanian Journal of morphology and embryology* 5(1): 91-95.
- Verma S, Rajaratnam JH, Denton J, Hoyland JA, Byers RJ. 2002. Adipocytic proportion of bone marrow is inversely related to bone formation in osteoporosis. *J Clin Pathol* 55: 693-698.
- 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)₂ Vitamin D. *Endocrinology* 39(9): 3843-3848.
- Yoshida Y, Fogo A, Ichikawa I. 1989. Glomerular hemodynamic changes vs hypertrophy in experimental glomerular sclerosis. *Kidney Int* 35: 654-660.
- Zhou YS, Liu YS, Tan JG. 2006. Is 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ an ideal substitute for dexamethasone for inducing osteogenic differentiation of human adipose tissue-derived stromal cells *in vitro*? *Chin Med J (Engl)* 119: 1278-1286.
- 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.