

PEMBERIAN KALSIMUM LAKTAS PERORAL DAN BERENANG MENURUNKAN OSTEOCLAST DAN MENINGKATKAN OSTEOBLAST PADA TULANG RADIUS MENCIT (*MUS MUSCULUS*) PERIMENOPAUSAL

Muliani

Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

ABSTRAK

Kalsium dan olahraga renang dengan intensitas sedang dapat meningkatkan densitas tulang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kalsium peroral dan berenang terhadap penurunan *osteoclast* dan peningkatan *osteoblast* pada tulang radius mencit (*Mus musculus*) perimenopausal. Penelitian dengan *pretest and posttest control group design* ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) berusia 15-16 bulan yang dibagi menjadi 4 kelompok (tiap kelompok berjumlah 13 ekor), yaitu: kontrol, kalsium laktas, berenang dan kombinasi kalsium laktas dan berenang. Perlakuan diberikan selama 90 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna rerata jumlah *osteoblast posttest* antara kelompok kontrol dengan perlakuan ($P < 0,05$). Tidak terdapat perbedaan antara kelompok kalsium laktas dengan berenang ($P > 0,05$). Peningkatan rerata jumlah *osteoblast* pada kelompok kombinasi lebih besar daripada kelompok perlakuan lainnya. Terdapat perbedaan bermakna rerata jumlah *osteoclast posttest* antara kelompok kontrol dengan perlakuan ($P < 0,05$) namun tidak terdapat perbedaan antara kelompok kalsium laktas, berenang dan kombinasi kalsium laktas dan berenang ($P > 0,05$). Disimpulkan bahwa pemberian kalsium laktas dan berenang dapat menurunkan jumlah *osteoclast* dan meningkatkan jumlah *osteoblast* mencit namun peningkatan *osteoblast* lebih besar bila keduanya diberikan bersamaan. [*MEDICINA*. 2012;43:169-78].

Kata kunci: *osteoporosis, kalsium laktas, berenang, osteoblast, osteoclast*

ORALLY LACTATE CALCIUM AND SWIMMING DECREASE OSTEOCLAST AND INCREASE OSTEOBLAST IN RADIAL PERIMENOPAUSAL MICE (*MUS MUSCULUS*) BONE

Muliani

Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

ABSTRACT

Calcium and moderate intensity swimming exercise can increase bone density. The aim of this research is to see the effect of orally calcium consumption and swimming activity to decrease *osteoclast* and increase *osteoblast* in radial perimenopausal mice (*Mus musculus*) bone. Pretest and posttest control group design was used in this research. Research subject used 15-16 aged mice (*Mus musculus*) which divided into 4 groups (each group consisted of 13 mice), that was control, lactate calcium, swimming and lactate calcium and swimming. Treatment was given 90 days. This study showed a significant difference of the mean of the posttest *osteoblast* between control and experimental groups ($P < 0.05$). There was no significant difference between lactate calcium and swimming groups ($P > 0.05$). Enhancement of *osteoblast* mean in combination group was greater than the other experimental groups. There was a significant difference of the mean of the posttest *osteoclast* between control and experimental groups ($P < 0.05$), without significant difference between lactate calcium, swimming groups and combination of lactate calcium and swimming group ($P > 0.05$). Conclusion: either lactate calcium or swimming decreases *osteoclast* and increases *osteoblast* of the mice but the *osteoblast* enhancement will be bigger when they are given together at once. [*MEDICINA*. 2012;43:169-78].

Keywords: *osteoporosis, lactate calcium, swimming, osteoblast, osteoclast*

PENDAHULUAN

Sistem muskuloskeletal terdiri dari tulang, otot dan sendi. Ketiga unsur ini berperan penting terutama dalam pergerakan, misalnya untuk berjalan, memegang benda, dan sebagainya. Gangguan pada salah satu unsur mengakibatkan pergerakan juga terganggu.

Salah satu gangguan yang dapat terjadi adalah osteoporosis yang banyak dijumpai pada lanjut usia. Risiko osteoporosis pada wanita lanjut usia akan meningkat karena mulai terjadi penurunan kadar estrogen dalam darah. Penurunan kadar estrogen mengakibatkan pembentukan *osteoclast* lebih cepat daripada *osteoblast* sehingga resorpsi tulang lebih besar daripada pembentukan tulang.¹ Hal ini mengakibatkan penurunan densitas dan kekuatan tulang sehingga tulang rapuh dan mudah fraktur hanya dengan sedikit trauma. Tulang yang fraktur akan mengakibatkan gangguan dalam bekerja sehingga menurunkan kualitas hidup.² Prevalensi osteoporosis pada tulang radius wanita yang berusia di atas 40 tahun adalah sebesar 18,8%.³ Fraktur tulang radius adalah tanda pertama osteoporosis karena terjadi lebih awal dibandingkan fraktur panggul dan vertebra.⁴ Asupan suplemen kalsium pada wanita *postmenopause* selama lebih dari 2 tahun dapat menurunkan kehilangan massa tulang dan meningkatkan densitas tulang sebesar 1,91% pada radius bagian distal.⁵ Berenang dapat meningkatkan pembentukan tulang kortikal, struktur, densitas, dan kekuatan tulang pada tikus dengan *ovarectomy*.^{6,7}

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis ingin meneliti mengenai pemberian kalsium laktas dan aktivitas fisik dalam menurunkan osteoporosis pada perempuan *perimenopause*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kalsium peroral dan berenang terhadap penurunan *osteoclast* dan peningkatan *osteoblast* pada tulang radius mencit (*Mus musculus*) *perimenopausal*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental ("The pre- and posttest control group design"),⁸ yang menggunakan Rancangan Faktorial 2 X 2 dengan faktor I adalah kalsium laktas (+ -), dan faktor II adalah berenang (+ -). Penelitian dilaksanakan selama 6 bulan, dari bulan Juli 2011–Desember 2011, di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar. Pembuatan dan pembacaan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Besar Veteriner (BBVet), Jalan Raya Sesetan 226 Pegok, Denpasar.

Penelitian ini menggunakan mencit betina (*Mus musculus*) hidup yang berusia 15-16 bulan, dengan berat badan antara 27-33 gram yang telah memasuki fase *perimenopause* dan tidak memiliki cacat fisik. Mencit yang tidak mau makan akan dieksklusikan dari penelitian. Mencit yang mati selama proses penelitian akan termasuk dalam kriteria *drop out*.

Besar sampel ditentukan dengan rumus Pocock, yaitu:⁹

$$n = \frac{2\delta^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2} \times f(\alpha, \beta)$$

Berdasarkan rumus di atas, didapatkan jumlah sampel untuk setiap kelompok = 7. Untuk mengurangi bias akibat *drop out*, maka jumlah sampel setiap kelompok ditambah 30% = 9,1 dan dibulatkan menjadi 10. Jadi total mencit yang digunakan untuk pretest maupun posttest pada keempat kelompok perlakuan adalah 52 ekor.

Prosedur Penelitian

Sebanyak 52 ekor mencit betina berusia 15-16 bulan yang telah memasuki fase *perimenopause* yang memenuhi kriteria inklusi, dipilih secara random dari rumah peternakan mencit di Jalan Ceningan Sari 2 Pegok Denpasar dipelihara dengan makanan dan minuman standar. Mencit kemudian diadaptasikan selama 1 minggu. Populasi mencit dibagi secara random menjadi 4 kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari 13 ekor mencit betina yang masing-masing dipelihara dalam kandang sendiri yang terbuat dari plastik. Tiga ekor mencit dari kelompok I, II, III, dan IV pada grup pretes dibunuh dengan memasukkannya ke dalam toples yang mengandung *chloroform*. Tulang radius mencit kemudian diambil dan jumlah sel-sel *osteoblast* dan *osteoclast* sebanyak 12 buah diperiksa secara mikroskopis dengan pembesaran 40, 100, dan 400 kali, diamati dalam 5 lapangan pandang di Laboratorium Patologi BBVet. Denpasar. Pewarnaan dengan *hematoxyllin eosin* (HE)

akan memperlihatkan sel-sel *osteoblast* berwarna basofil, berbentuk kuboid dan berinti 1 (*mononucleus*) sedangkan sel-sel *osteoclast* berbentuk polimorf, multinukleus dan menempati *lacunae of Howship*. Pemeriksaan dilakukan dengan cara tersamar tunggal.

Sisa mencit dalam kelompok I (10 ekor) merupakan kelompok kontrol yang dibiarkan hidup bebas dalam kandangnya selama 90 hari. Sisa mencit pada kelompok II (10 ekor) diberikan perlakuan berupa larutan kalsium laktas yang dibentuk dari 1 tablet (500 mg) kalsium merk *Nellco*, lalu dihancurkan dan dilarutkan dalam 77 ml akuades serta diberikan pada mencit peronde sebanyak 0,4 ml, dibagi dalam 2 dosis (pagi dan sore) selama 90 hari. Pada kelompok yang diberikan kombinasi kalsium laktas dan berenang, larutan kalsium diberikan setelah berenang. Sisa mencit kelompok III (10 ekor) diberikan perlakuan olah raga renang 20 menit sehari, 4 kali seminggu selama 13 minggu (90 hari) dalam sebuah ember berukuran 30 x 30 cm yang diisi air bersuhu 32–34°C, dengan ketinggian air 25 cm. Sisa mencit pada kelompok IV (10 ekor) diberi minum larutan kalsium laktas dan olah raga renang dengan prosedur dan lama perlakuan sama seperti mencit pada kelompok II dan III.

Seluruh mencit grup perlakuan kelompok I, II, III, dan IV dibunuh pada hari ke-91 dengan memasukkannya ke dalam toples yang mengandung *chloroform*. Tulang radius diambil untuk pemeriksaan jumlah sel-sel *osteoblast* dan *osteoclast* dan diperiksa dengan

prosedur seperti yang telah diuraikan di atas.

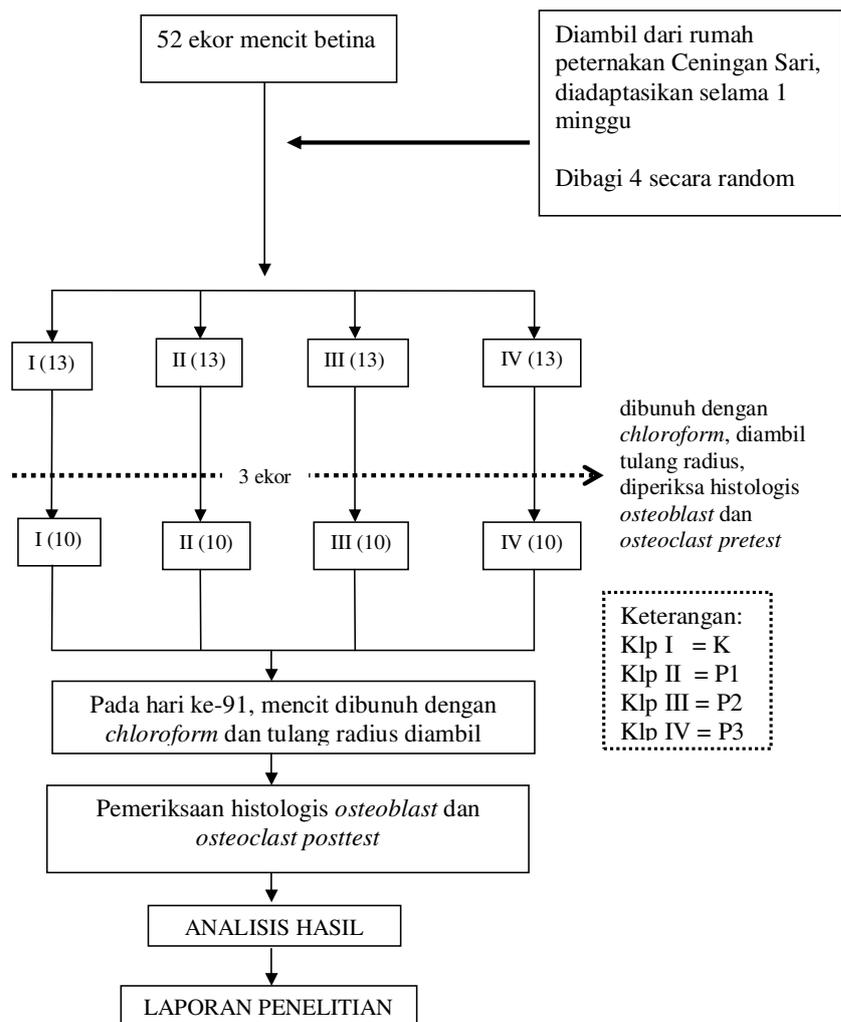
Berdasarkan atas protokol penelitian di atas, maka dapat digambarkan alur penelitian sebagai berikut (**Gambar 1**).

Data yang dikumpulkan akan dianalisis dengan analisis deskriptif, uji normalitas dengan uji Shapiro-wilk, uji homogenitas dengan Uji Levene's Test; analisis efek perlakuan dan interaksi dengan uji statistik parametrik dengan menggunakan metode *Two Way Anova* (jika data berdistribusi normal dan homogen) dan dianalisis dengan uji statistik non-parametrik Kruskal-wallis, jika data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen,

analisis perbedaan efek antar kelompok (untuk kelompok *pretest* maupun *posttest*) dengan uji statistik parametrik menggunakan *One Way Anova* (jika data berdistribusi normal dan homogen) dan dilanjutkan dengan *post hoc* (LSD).

HASIL

Hasil uji deskriptif rerata jumlah *osteoblast* sebelum perlakuan pada kelompok kontrol, kalsium laktas, berenang, dan kombinasi kalsium laktas dan berenang berturut-turut adalah sebagai berikut: 9,40 (SB 1,31); 8,73 (SB 2,20); 9,47 (SB 1,30); 10,47 (SB 0,70). Rerata jumlah



Gambar 1. Alur Penelitian.

osteoblast setelah perlakuan pada kelompok kontrol adalah 9,13 (SB 1,52), kalsium laktas 26,04 (SB 2,29), berenang 24,58 (SB 2,28), kombinasi kalsium laktas dan berenang 58,96 (SB 2,69). Hasil uji deskriptif menunjukkan rerata jumlah *osteoclast* sebelum perlakuan pada kelompok kontrol adalah 0,07 (SB 0,12), kalsium laktas 0,07 (SB 0,12), berenang 0,07 (SB 0,12), dan kombinasi kalsium laktas dan berenang 0,07 (SB 0,12). Rerata jumlah *osteoclast* setelah perlakuan pada kelompok kontrol adalah 0,06 (SB 0,10); kalsium laktas 0,00 (SB 0,00), berenang 0,00 (SB 0,00); kombinasi 0,00 (SB 0,00).

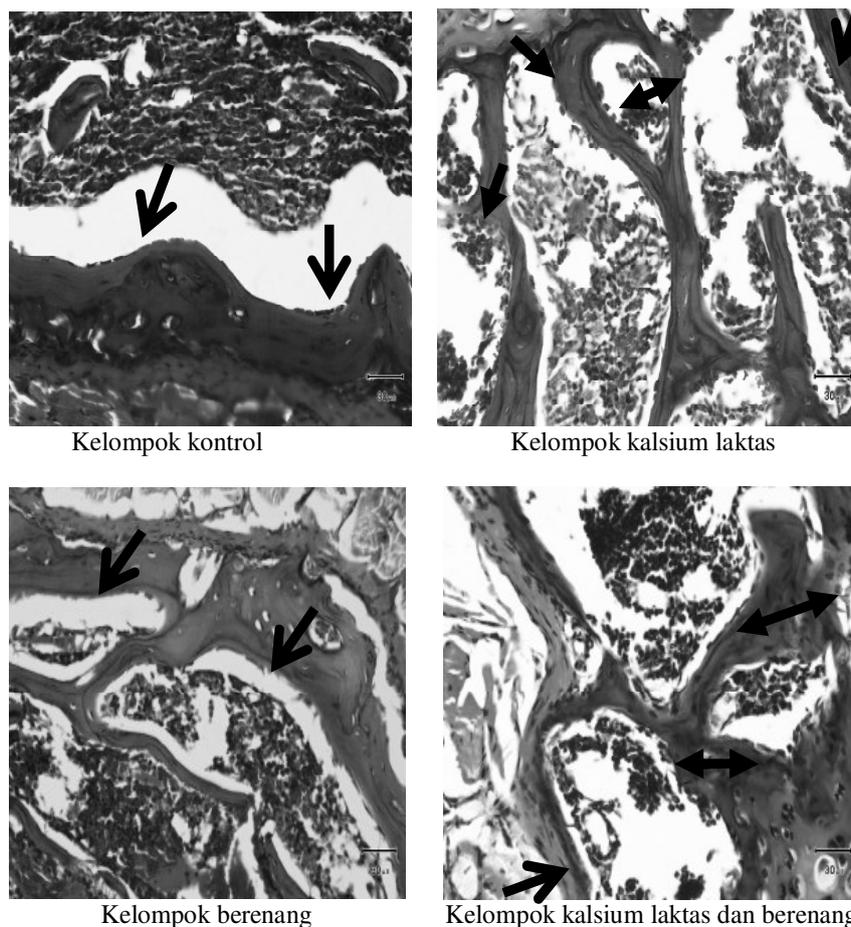
Hasil uji normalitas dengan Shapiro-wilk dan homogenitas dengan Levene's test menunjukkan data jumlah *osteoblast* sebelum dan setelah perlakuan pada semua kelompok berdistribusi normal ($P > 0,05$) dan homogen (memiliki varian yang sama) ($P > 0,05$). Normalitas data jumlah *osteoclast* sebelum dan setelah perlakuan diuji dengan Shapiro-wilk, hasilnya menunjukkan data jumlah *osteoclast* sebelum dan setelah perlakuan pada semua kelompok berdistribusi tidak normal ($P < 0,05$). Hasil uji Homogenitas data jumlah *osteoclast* sebelum dan setelah perlakuan dengan Levene's test, menunjukkan data homogen untuk *pretest* ($P > 0,05$) dan tidak homogen untuk *posttest* ($P < 0,05$).

Perbedaan rerata jumlah *osteoblast* sebelum perlakuan antara kelompok kontrol dengan eksperimen dianalisis dengan metode *One Way Anova*, hasilnya menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antar kelompok eksperimen sebelum perlakuan ($P > 0,05$),

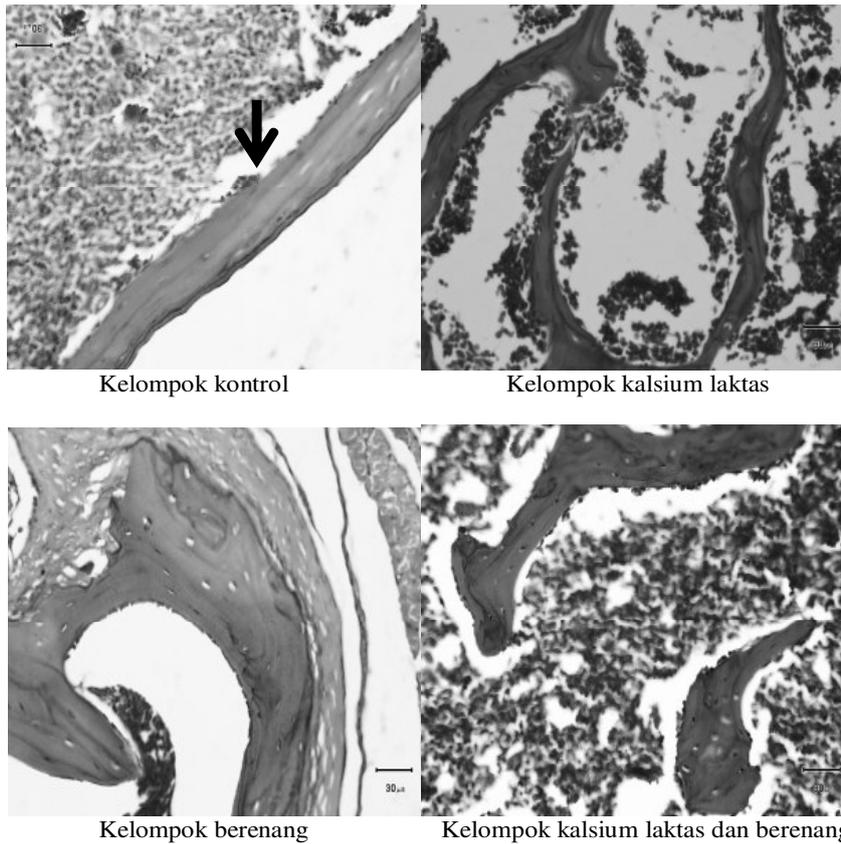
dengan nilai $F = 0,700$ dan $P = 0,578$. Perbedaan rerata jumlah *osteoblast* setelah perlakuan antara kelompok kontrol dengan eksperimen dianalisis dengan metode *One Way Anova*, hasilnya menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok eksperimen setelah perlakuan ($P < 0,05$), dengan nilai $F = 878,448$ dan $P = 0,001$. Dilakukan *Least Significant Difference-test* (LSD), untuk mengetahui kelompok yang berbeda dengan kontrol. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa kelompok perlakuan yang terdiri dari kalsium laktas, berenang, dan kombinasi kalsium laktas dan berenang, memberikan efek peningkatan

jumlah *osteoblast* yang lebih besar daripada kontrol dan perbedaan tersebut secara statistik signifikan ($P < 0,05$). Kelompok perlakuan kombinasi kalsium laktas dan berenang memiliki efek meningkatkan rerata jumlah *osteoblast* yang paling tinggi dibandingkan kelompok kalsium laktas saja dan berenang saja. Kelompok perlakuan kalsium laktas saja dan berenang saja tidak memiliki efek yang berbeda.

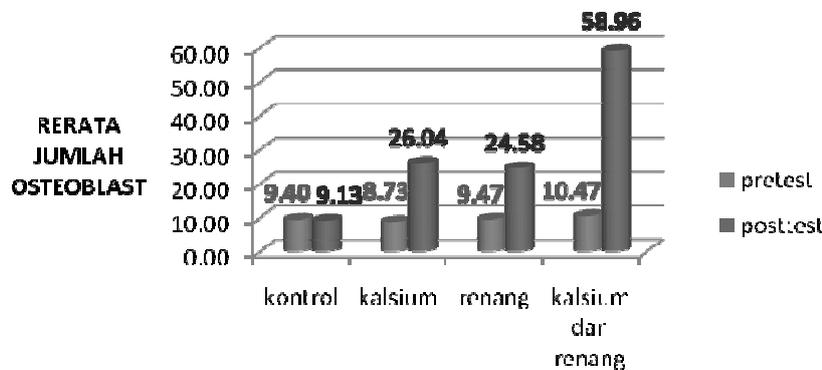
Perbedaan rerata jumlah *osteoclast* sebelum dan setelah perlakuan antara kelompok kontrol dengan eksperimen dianalisis dengan metode Kruskal-wallis, hasilnya menunjukkan bahwa



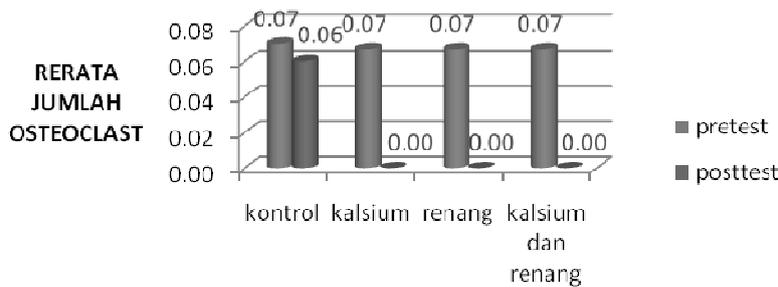
Gambar 2. Histologis *osteoblast* pada tulang radius mencit *perimenopausal* setelah perlakuan (*Posttest*). *Osteoblast* (tanda panah) kelompok perlakuan tampak lebih padat daripada kontrol (HE, 400X).



Gambar 3. Histologis *osteoclast* pada tulang radius mencit *perimenopausal* setelah perlakuan (*Posttest*). Tidak tampak *osteoclast* (tanda panah) pada kelompok perlakuan (HE, 400X).



Gambar 4. Grafik perbandingan rerata jumlah *osteoblast* *pretest* dan *posttest*.



Gambar 5. Grafik perbandingan rerata jumlah *osteoclast* *pretest* dan *posttest*.

tidak ada perbedaan antar kelompok eksperimen sebelum perlakuan ($P > 0,05$), dengan nilai $P = 1,000$ namun terdapat perbedaan bermakna antar kelompok eksperimen setelah perlakuan ($P < 0,05$), dengan nilai $P = 0,023$. Hasil uji LSD menunjukkan bahwa kelompok perlakuan yang terdiri dari kalsium laktas, berenang dan kombinasi kalsium laktas dan berenang, memberikan efek penurunan jumlah *osteoclast* dan penurunan tersebut secara statistik signifikan ($P < 0,05$). Ketiga kelompok perlakuan, tidak memiliki efek yang berbeda dalam menurunkan rerata jumlah *osteoclast*.

Gambaran histologis *osteoblast* setelah perlakuan (*posttest*) dari keempat kelompok eksperimen dapat dilihat pada gambar di bawah ini (**Gambar 2**).

Gambaran histologis *osteoclast* setelah perlakuan (*posttest*) dari keempat kelompok eksperimen dapat dilihat pada gambar di bawah ini (**Gambar 3**).

Gambaran rerata jumlah *osteoblast* sebelum perlakuan (*pretest*) dan setelah perlakuan (*posttest*) dari ketiga kelompok dapat dilihat sebagai grafik di bawah ini (**Gambar 4**).

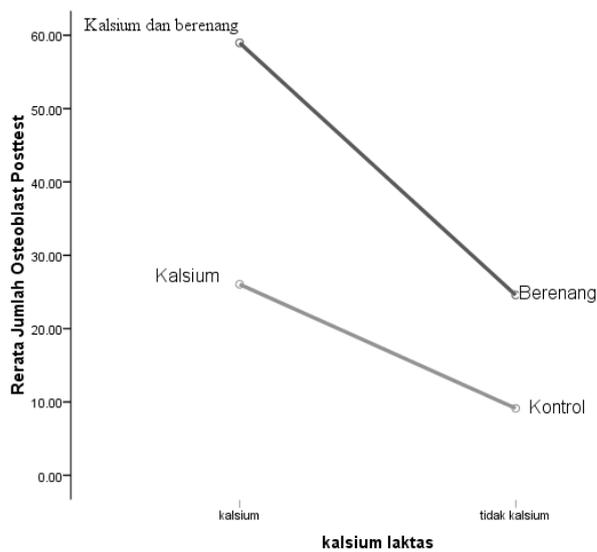
Grafik tersebut menunjukkan bahwa kombinasi kalsium laktas dan berenang memberikan efek yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kalsium laktas saja dan berenang saja.

Gambaran rerata jumlah *osteoclast* sebelum perlakuan (*Pretest*) dan setelah perlakuan (*posttest*) dari ketiga kelompok dapat dilihat sebagai grafik di bawah ini (**Gambar 5**).

Grafik tersebut menunjukkan bahwa ketiga

kelompok perlakuan tidak memberikan efek yang berbeda dalam menurunkan rerata jumlah *osteoclast*.

Hasil uji interaksi dengan *two way Anova* dapat disimpulkan dari grafik interaksi antara kalsium laktas dan berenang di bawah ini (**Gambar 6**).



Gambar 6. Grafik interaksi kalsium laktas dan berenang terhadap rerata jumlah *osteoblast*.

Berdasarkan grafik interaksi di atas, maka terdapat interaksi antara kalsium laktas dan berenang karena kedua garis tidak sejajar. Hasil uji interaksi menunjukkan peningkatan rerata jumlah *osteoblast* akan lebih besar bila kalsium laktas diberikan bersama-sama dengan berenang dibandingkan hanya diberikan kalsium laktas atau berenang.

DISKUSI

Hasil uji interaksi dengan *two way Anova* menunjukkan adanya interaksi antara kalsium laktas dan berenang. Interaksi ini berupa penguatan

efek kalsium dan berenang. Efek penguatan tersebut lebih besar daripada efek kalsium laktas saja ditambah efek berenang saja. Hal ini berarti peningkatan rerata jumlah *osteoblast* lebih besar bila kalsium laktas diberikan bersama-sama dengan berenang dibandingkan hanya

akan meningkatkan kadar kalsium ekstraseluler sehingga meningkatkan kalsium intraseluler, proliferasi dan kemotaksis *osteoblast*. Kalsium yang diberikan bersama-sama dengan berenang akan diabsorpsi lebih banyak dibandingkan bila diberikan sendiri sehingga efek kalsium meningkat. Absorpsi juga mempengaruhi densitas dan kekuatan tulang yang secara langsung mempengaruhi aktivitas fisik sehingga efek aktivitas fisik (berenang) meningkat. Semua keadaan ini mengakibatkan peningkatan jumlah *osteoblast* pada kelompok yang diberikan kombinasi kalsium laktas dan berenang lebih tinggi dibandingkan diberikan sendiri-sendiri.

Berdasarkan hasil penelitian di atas, terjadi peningkatan bermakna jumlah *osteoblast* dan penurunan jumlah *osteoclast* pada kelompok perlakuan yang diberikan kalsium laktas, berenang dan kombinasi keduanya. Peningkatan *osteoblast* yang bermakna, terbesar terdapat pada kelompok yang diberi kombinasi kalsium laktas dan berenang, sementara penurunan *osteoclast* yang bermakna tidak berbeda antar kelompok eksperimen. Hasil ini sesuai dengan beberapa penelitian seperti di bawah ini.

Efek Kalsium Terhadap Peningkatan Jumlah Osteoblast dan Penurunan Jumlah Osteoclast

Sepanjang pengetahuan penulis, belum terdapat penelitian yang menunjukkan asupan kalsium berperan dalam pembentukan *osteoblast* namun beberapa bukti menunjukkan bahwa asupan kalsium

diberikan kalsium laktas atau berenang. Keadaan tersebut terjadi karena asupan kalsium laktas saja dapat meningkatkan kalsium ekstraseluler, kalsium intraseluler dan proliferasi *osteoblast*. Berenang sendiri akan menimbulkan beban mekanik pada tulang yang menstimulasi beberapa *physical signal* sehingga *osteocyte* teraktivasi dan mentransmisikan signal tersebut menuju sel efektor (*osteoblast*) sehingga menstimulasi pembentukan tulang oleh *osteoblast*. Berenang juga meningkatkan absorpsi kalsium di usus halus terutama duodenum melalui transpor *transcellular* dan *paracellular*. Peningkatan absorpsi kalsium

berperan penting dalam kesehatan tulang, terutama untuk mencapai massa tulang puncak dan mencegah kehilangan massa tulang.

Penelitian Uusi-Rasi¹⁰ menunjukkan bahwa asupan kalsium yang tinggi berpengaruh positif terhadap tulang radius.

Penurunan signifikan *alpha helical peptide* urin (suatu penanda resorpsi tulang) yang terjadi pada kelompok kalsium laktas, menunjukkan adanya kemungkinan kalsium dan aktivitas fisik memiliki efek positif pada tulang. Kalsium laktas lebih menstimulasi aktivitas tulang dibandingkan kalsium karbonat atau sitrat pada suatu penelitian yang menggunakan tikus walaupun tikus tersebut tidak meminum susu ataupun kalsium fosfat. Efek kalsium laktas sangat bagus terutama dalam metabolisme tulang.¹¹

Absorpsi kalsium yang tinggi di duodenum, terdapat pada mencit dengan densitas tulang tinggi daripada mencit dengan densitas tulang rendah. Mencit tersebut juga memiliki ekspresi kadar *PMCA_{1b}* mRNA yang lebih tinggi dibandingkan mencit dengan densitas tulang rendah. Bukti ini menunjukkan hubungan langsung antara tingginya absorpsi kalsium di usus halus dengan tingginya densitas tulang puncak atau kekuatan tulang.¹² Peningkatan kalsium ekstraseluler menstimulasi pembentukan tulang secara signifikan, meningkatkan proliferasi dan atau kemotaksis *osteoblast*.¹³

Peningkatan kadar kalsium sampai 20 mM akan menginduksi apoptosis *osteoclast* yang melibatkan *caspase-3* dan *CaR* yang

memicu pelepasan cadangan kalsium intraseluler yang merupakan *PLC dependent* melalui jalur signaling IP3. Aktivasi IP3 akan menstimulasi *nuclear translocation of NF-B*. *Nuclear translocation of NF-B* menginduksi apoptosis *osteoclast* sehingga resorpsi tulang dihambat.¹⁴ Kalsium juga memodulasi proses *osteoclastogenesis*, resorpsi tulang oleh *osteoclast* dan apoptosis *osteoclast*.¹⁵ Sanders dkk¹⁶ mendapatkan bukti-bukti bahwa pemberian suplemen kalsium pada sore hari akan menekan peningkatan resorpsi tulang di malam hari.

Efek Berenang Terhadap Peningkatan Jumlah Osteoblast dan Penurunan Jumlah Osteoclast

Aktifitas fisik yang teratur dapat menurunkan risiko fraktur akibat osteoporosis, mempertahankan kekuatan otot-otot extremitas inferior dan punggung, melatih keseimbangan dan postur tubuh sehingga menurunkan risiko jatuh dan meningkatkan kualitas hidup.¹⁷ Penelitian Rosa¹⁸ menunjukkan bahwa latihan fisik jangka pendek pada tikus betina mengakibatkan remodeling tulang.

Aktifitas fisik menimbulkan stres mekanik pada permukaan tulang yang mendapat regangan tertinggi. Pembentukan tulang optimal bila beban mekanik bersifat dinamis dan diimbangi dengan istirahat cukup untuk mencegah desensitisasi *osteocyte*.^{17,19} Desensitisasi juga terjadi sesuai peningkatan usia sehingga lansia memerlukan rangsangan yang lebih kuat untuk meningkatkan ketahanan

tulang.¹⁹ Beban mekanik menstimulasi beberapa *physical signal* yang menginduksi aktivasi *osteocyte*, termasuk *tissue strain*, *fluid shear* dan *fluid pore pressure*.^{17,19}

Adanya *shear stress* akibat pembebanan mekanik akan meningkatkan ekspresi *nitric oxide synthase* dalam *osteocyte*, aktivitas *cyclooxygenase* sehingga menekan aktivitas *osteoclast* dan meningkatkan aktivitas *osteoblast*, mengaktifkan remodeling tulang melalui sel-sel pada *osteoblast lineage*. Rangsangan mekanik akan menurunkan *sclerostin* yang merupakan tanda utama peningkatan pembentukan tulang sebagai respons terhadap pembebanan tulang.¹⁹

Berenang lebih direkomendasikan bagi penderita osteoporosis daripada berlari karena karena meningkatkan BMD dengan injuri minimal.¹²

Da Silva dkk²⁰ menyimpulkan bahwa berenang dengan intensif berpengaruh terhadap mineralisasi remodeling tulang.

Hasil ini didukung pula oleh Robling dkk²¹ yang memberikan aktivitas fisik pada tikus dewasa selama 16 minggu. Penelitian tersebut menunjukkan peningkatan BMD dan BMC secara signifikan dan menyatakan bahwa olahraga dapat mempertahankan dan meningkatkan massa tulang bila dilakukan dalam sesi-sesi kecil dan disertai periode pemulihan di antaranya.

McVeigh dkk²² menemukan bahwa berenang 30 menit sehari, 5 kali seminggu, selama 6 minggu lebih efektif meningkatkan BMC dan BMD

daripada kedua kelompok yang lain.

Berdasarkan protokol, olahraga air lebih aman bagi lansia untuk meningkatkan kekuatan otot, kualitas tulang dan koordinasi tubuh dibandingkan *high impact loading*. Disimpulkan bahwa olahraga air dapat meningkatkan respons *osteogenic* pada *osteopenic tissue*.²³

Bergmann dkk¹⁹ menyatakan bahwa imobilisasi lama akan meningkatkan permukaan resorpsi, penanda biologi resorpsi dan penurunan pembentukan tulang. Pengobatan osteoporosis dengan obat-obatan antiresorpsi dan pemicu pembentukan tulang akan lebih efisien bila tulang mendapat regangan mekanis.

Efek Kalsium dan Berenang Terhadap Peningkatan Jumlah Osteoblast dan Penurunan Jumlah Osteoclast

Sepanjang pengetahuan penulis, belum terdapat bukti-bukti yang menunjukkan bahwa pemberian kombinasi kalsium dan berenang dapat meningkatkan *osteoblast* dan menurunkan *osteoclast*, namun Sanders dkk¹⁶ menyatakan bahwa kombinasi aktivitas fisik (*weight bearing*) dan asupan kalsium memberikan efek aditif. Diperkirakan olahraga menghasilkan efek pada daerah yang spesifik, sementara asupan kalsium yang tinggi menghasilkan efek yang lebih menyeluruh sebagai hasil tambahan terhadap manfaat olahraga.

Wanita *premenopause* muda dengan osteoporosis idiopati dan diterapi konservatif selama lebih dari 3 tahun dengan

suplemen kalsium, vitamin D dan peningkatan aktivitas fisik akan mengakibatkan peningkatan BMD tanpa fraktur.²⁴ Diet tinggi kalsium pada kelompok perenang memiliki efek remodeling lebih besar dibandingkan kelompok kontrol (bukan perenang) yang lebih banyak meminum *soft drinks*.²⁵ Berenang selama 1 jam, sebanyak 5 kali seminggu dalam 2 minggu, akan menstimulasi transpor kalsium di usus halus dan mengubah ekspresi gen-gen dalam absorpsi kalsium sedangkan imobilisasi akan menurunkan absorpsi kalsium.⁶

Aktivitas fisik intensitas sedang dapat meningkatkan BMD, kekuatan, rata-rata pembentukan tulang, absorpsi kalsium dan menurunkan kalsium urin. Absorpsi kalsium oleh usus halus merupakan satu-satunya sumber kalsium bagi pembentukan tulang. Absorpsi ini mempengaruhi densitas dan kekuatan tulang yang secara langsung mempengaruhi aktivitas fisik, karena itu efek olahraga yang menguntungkan tidak dapat terjadi tanpa peningkatan absorpsi kalsium. Kombinasi aktivitas fisik dan asupan kalsium yang adekuat dapat meningkatkan kekuatan tulang pada masa kanak-kanak. Imobilisasi akan menurunkan absorpsi kalsium dengan menurunkan kadar serum $1,25-(OH)_2D_3$.¹²

Pemeriksaan jaringan tulang pada penelitian ini dilakukan oleh 1 orang pemeriksa saja sehingga hasilnya tidak dapat dibandingkan dan dirata-ratakan. Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini secara klinis bermanfaat untuk membantu perempuan

perimenopausal dalam mencegah berlanjutnya proses osteoporosis dengan cara mengkonsumsi cukup kalsium dan berolahraga teratur.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pemberian kalsium laktas dan olah raga berenang, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian kalsium laktas, berenang dan kombinasinya meningkatkan jumlah sel *osteoblast* lebih banyak daripada kelompok yang tidak diberikan perlakuan. Kombinasi pemberian kalsium laktas dan berenang meningkatkan jumlah sel *osteoblast* lebih banyak dibandingkan hanya diberikan kalsium ataupun berenang saja. Pemberian kalsium laktas, berenang maupun kombinasinya menurunkan jumlah sel *osteoclast* secara bermakna namun efek penurunan antar ketiga kelompok perlakuan (kalsium laktas, berenang dan kombinasi kalsium laktas dan berenang) tersebut tidak berbeda.

SARAN

Saran yang dapat diberikan dalam penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aspek biologi molekuler mekanisme pengaruh kalsium, olahraga dan kombinasi kalsium dan olahraga dalam terbentuknya *osteoblast*. Penelitian ini dilakukan pada hewan coba (mencit), meskipun hasilnya signifikan namun harus dilakukan penelitian lebih lanjut sebelum digunakan pada manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kepala bagian dan staf di *Animal Laboratory Unit* Bagian Farmakologi FK Universitas Udayana yang telah memberikan tempat untuk melakukan penelitian. Terima kasih pula kepada Drh. Ketut Wirata, Bapak Wayan Sudiarka dari Laboratorium Patologi Balai Besar Veteriner (BBVet), Denpasar yang telah banyak membantu dalam pembuatan preparat, pembacaan dan pemotretan sediaan histologi tulang mencit. Ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Dr. dr. Dewa Made Sukrama, Sp.MK, M.Si., selaku Ketua Unit Penelitian dan Pengembangan beserta seluruh staf Unit Penelitian dan Pengembangan Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, yang telah memberikan bantuan finansial sehingga meringankan beban penulis dalam menyelesaikan tulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sambo AP, Umar H, Adam JMF. Causes of Secondary Osteoporosis. *The Indonesian Journal of Medical Science*. 2009;2(1):41-50.
2. Shiel. Osteoporosis. (diakses 14 Desember 2009). Diunduh dari: URL: <http://www.medicinenet.com/osteoporosis/article.htm>.
3. Shin A, Choi JY, Chung HW, Park S, Shin C, Choi YH, dkk. Prevalence and Risk Factors of Distal Radius and Calcaneus Bone Mineral Density in Korean Population. *Osteoporosis International*. 2004;15(8):639-44.
4. Oyen J, Brudvik C, Gjesdal CG, Tell GS, Lie SA, Hove LM. Osteoporosis as a risk factor for distal radial fractures: a case-control study. *J Bone Joint Surg Am*. 2011;93(4):348-56.
5. Straub DA. Calcium Supplementation in Clinical Practice: A Review of Forms, Doses, and Indications. *Nutr Clin Pract*. 2007;22(3):286-96.
6. Hart KJ, Shaw JM, Vajda E, Hegsted M, Miller SC. Swim-Trained Rats Have Greater Bone Mass, Density, Strength and Dynamics. *J Appl Physiol*. 2001;91:1663-8.
7. Teerapornpuntakit J, Dorkkam N, Wongdee K, Krishnamra N, Charoenphandhu N. Endurance swimming stimulates transepithelial calcium transport and alters the expression of genes related to calcium absorption in the intestine of rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;296:E775-86.
8. Campbell DT. *Experimental and Quasi-Experimental Design for Research*. Chicago: Rand McNally, 1968; h. 223-326.
9. Pocock SJ. *Clinical Trials A Practical Approach*. New York: John Wiley and Sons, 2008; h.123-30.
10. Uusi-Rasi K, Sievanen H, Pasanen M, Oja P, Vuori I. Associations of Calcium Intake and Physical Activity with Bone Density and Size in Premenopausal and Postmenopausal Women: A Peripheral Quantitative Computed Tomography Study. *Journal of Bone and Mineral research*. 2002;17(3):544-51.
11. Wagner G, Kindrick S, Hertzler S, DiSilvestro RA. Effects of Various Forms of Calcium on Body Weight and Bone Turnover Markers in Women Participating in a Weight Loss Program. *Journal of the American College of Nutrition*. 2007;26(5):456-61.
12. Charoenphandhu N. Physical Activity and Exercise Affect Intestinal Calcium Absorption: A Perspective Review. *J. Sports Sci. Technol*. 2007;7(1):171-81.
13. Zayzafoon M. Calcium/calmodulin signaling controls osteoblast growth and differentiation. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2006;97(1):56-70.
14. Lemaire ASH, Mentaverri R, Caudrillier A, Cournaire F, Wattel A, Kamel S, dkk. The Calcium-sensing Receptor Is Involved in Strontium Ranelate-induced Osteoclast Apoptosis. *The Journal of Biological Chemistry*. 2009;284(1):575-84.
15. Caudrillier A, Lemaire ASH, Wattel A, Cournaire F, Godin C, Petit L, dkk. Strontium ranelate decreases RANKL-induced osteoclastic differentiation in vitro: involvement of the calcium sensing receptor.

- Molecular Pharmacology Fast Forward. 2010;1-31.
16. Sanders KM, Nowson CA, Kotowicz MA, Briffa K, Devine A, Reid IR. Calcium and Bone Health: Position Statement for The Australian and New Zealand Bone and Mineral Society, Osteoporosis Australia and The Endocrine Society of Australia. *MJA*. 2009;190(6):316-20.
 17. Schwab P, Scalapino K. Exercise for Bone Health. *Curr Opin Rheumatol*. 2011;23(2):137-41.
 18. Rosa BV, Firth EC, Blair HT, Vickers MH, Morel PCH, Cockrem JF. Short-term Voluntary Exercise in the Rat Causes Bone Modeling Without Initiating a Physiological Stress Response. *American journal of physiology Regulatory integrative and comparative physiology*. 2010; 299(4):1037-43.
 19. Bergmann P, Body JJ, Boonen S, Boutsen Y, Devogelaer JP, Goemaere S, dkk. Loading and Skeletal Development and Maintenance. *Journal of Osteoporosis*. 2011:1-15.
 20. da Silva FF, de Souza RA, Pacheco MTT, Ribeiro W, da Silva MASR, Miranda H, dkk. Effects of Different Swimming Exercise Intensities on Bone Tissue Composition in Mice: A Raman Spectroscopy Study. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2011;29(4):217-25.
 21. Robling AG, Hinant FM, Burr DB, Turner CH. Shorter, More Frequent Mechanical Loading Sessions Enhance Bone Mass. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2002;34(2):196-202.
 22. McVeigh J, Kingsley S, Gray D, Loram LC. Swimming enhances bone mass acquisition in growing female rats. *Journal of Sports Science and Medicine*. 2010;9:612-9.
 23. Renno ACM, Faganello FR, de Moura FM, dos Santos NSA, Tirico RP, Bossini PS, dkk. The Effects of a Progressive Loading Exercise Program on Femoral Physical Properties and Strength of Osteopenic Rats. *Acta Ortopedica Brasileira*. 2007;15(5):1-4.
 24. Peris P, Monegal A, Martinez MA, Moll C, Pons F, Guanabens N. Bone mineral density evolution in young premenopausal women with idiopathic osteoporosis. *Clinical Rheumatology*. 2007;26(6):958-61.
 25. Derman O, Cinemre A, Kanbur N, Dogan M, Kilic M, Karaduman E. Effect of Swimming on Bone Metabolism in Adolescents. *The Turkish Journal of Pediatrics*. 2008;50:149-54.