

1. ULTRAVIOLET RADIATION - PHYSIOLOGICAL EFFECT  
2. BONE DENSITOMETRY

IR. PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

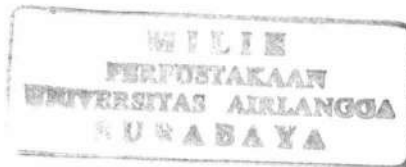
TKD 16/05

Kus  
p.

TESIS

**PENGARUH PAPARAN SINAR LAMPU GE CHROMA 50  
TERHADAP KEPADATAN TULANG TIKUS PUTIH JANTAN  
(*Rattus norvegicus*)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



Raden Wisnu Dwijaya Kusuma

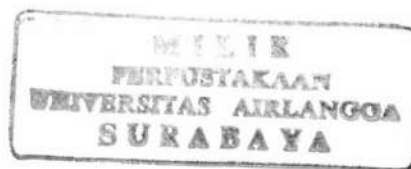
PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

2004

TESIS

**PENGARUH PAPARAN SINAR LAMPU *GE CHROMA 50*  
TERHADAP KEPADATAN TULANG TIKUS PUTIH JANTAN  
(*Rattus norvegicus*)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



Raden Wisnu Dwijaya Kusuma

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

2004

**PENGARUH PAPARAN SINAR LAMPU *GE CHROMA 50*  
TERHADAP KEPADATAN TULANG TIKUS PUTIH JANTAN  
(*Rattus norvegicus*)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Klinik  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Oleh :

Raden Wisnu Dwijaya Kusuma

NIM 090214726 M

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

2004

iii

**Lembar pengesahan**

TESIS INI TELAH DISETUJUI  
TANGGAL 18 AGUSTUS 2004

Oleh

**Pembimbing Ketua**

Prof Dr Bambang Prijambodo, dr SpOT, FICS  
NIP 130 610 102

**Pembimbing**

Dr Paulus Liben, dr MS  
NIP 130 531 788



Telah diuji pada

tanggal 18 Agustus 2004

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof Dr Djoko Roeshadi, dr SpOT, FICS

Anggota : 1. Prof Dr Bambang Prijambodo, dr SpOT, FICS

2. Dr Paulus Liben, dr, MS

3. VP Wibowo, dr, MS

4. M Cholil Munif, dr, AIF

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah Yang Maha Kuasa atas kekuasaanNya, karena hanya atas kekuasaanNya saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Prof Dr Bambang Prijambodo, dr SpOT, FICS atas semua dorongan dan motivasi yang diberikan kepada saya hingga saya terpacu untuk menyelesaikan tesis ini dengan sebaik-baiknya. Demikian juga kepada Dr Paulus Liben, dr, MS, saya sampaikan terima kasih tak terhingga dan penghargaan setinggi-tingginya atas bimbingan dan masukannya selama saya menyelesaikan tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini perkenankanlah saya menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Prof H Dr Med Puruhito, dr SpB-TKV, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister.
2. Prof Dr Djoko Roeshadi, dr SpOT, FICS, atas semua dukungannya
3. M Cholil Munif, dr, AIF, atas segala bimbingannya.
4. VP Wibowo, dr, MS, atas semua masukannya.
5. Prof Soetjipto, dr PhD dan segenap staf Laboratorium Biokimia, atas kesempatan untuk menggunakan Laboratorium Biokimia selama penelitian.
6. Ibunda Bellyatie Soejono, atas doa dan restunya yang tak pernah berhenti.
7. Deviyanti, atas kasih dan doanya yang tulus.

## RINGKASAN

### **Pengaruh Paparan Sinar Lampu *GE Chroma 50* Terhadap Kepadatan Tulang Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*)**

Raden Wisnu Dwijaya Kusuma

Vitamin D merupakan vitamin mempunyai peran yang sangat penting untuk meningkatkan kepadatan tulang melalui efeknya terhadap metabolisme kalsium dan pada maturasi osteoblas. Terdapat berbagai sumber vitamin D yang dapat dengan mudah diperoleh dari alam. Namun sebelum vitamin D dapat memberikan efeknya tersebut, vitamin D harus diaktivasi terlebih dahulu dengan sinar ultraviolet.

Sumber sinar ultraviolet utama di alam ini adalah sinar matahari. Sinar matahari merupakan sumber sinar ultraviolet yang mudah diperoleh, terutama di daerah tropis seperti di Indonesia. Namun demikian, jumlah paparan sinar matahari yang diterima oleh setiap orang sangat bervariasi tergantung letak geografis, aktifitas dan pekerjaan seseorang. Selain itu paparan sinar matahari yang berlebihan dapat mengakibatkan efek samping terhadap kesehatan.

Beberapa penelitian telah mencoba mencari alternatif pengganti sinar matahari sebagai sumber ultraviolet yang dapat diperoleh setiap saat sesuai dengan kebutuhan. Beberapa jenis lampu telah didesain untuk dapat menghasilkan sinar ultraviolet dan telah dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan hewan peliharaan akan sinar ultraviolet. Lampu *GE Chroma 50* merupakan salah satu

jenis lampu yang dapat menghasilkan ultraviolet. Lampu ini telah dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan ultraviolet pada hewan peliharaan, namun belum banyak penelitian yang mempelajari lebih jauh tentang efek lampu tersebut terhadap kepadatan tulang.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh lampu *GE Chroma 50* terhadap kepadatan tulang. Variabel kepadatan tulang yang diukur dalam penelitian ini adalah kepadatan tulang dengan alat *DBM Sonic 1200* dan kadar *alkaline phosphatase* dalam serum.

Dalam penelitian ini digunakan 24 ekor tikus putih jantan yang dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok *pretest*, kelompok *GE Chroma 50*, dan kelompok kontrol *posttest*. Kelompok *pretest* tidak dilakukan perlakuan apapun, dikorbkan pada awal perlakuan, dan berfungsi sebagai data dasar penelitian, kelompok *GE Chroma 50* mendapat paparan sinar *GE Chroma 50*, dan kelompok kontrol tidak dilakukan apapun. Pemaparan sinar *GE Chroma 50* dilakukan selama 100 hari. Pengukuran kepadatan tulang dan *alkaline phosphatase* serum dilakukan pada akhir perlakuan.

Hasil uji multivariat (Manova) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kepadatan tulang yang bermakna antara kelompok *pretest* ( $1475,88 \pm 28,69$  m/detik) dengan kelompok *GE Chroma 50* ( $1677,75 \pm 63,64$  m/detik) dan kelompok kontrol *posttest* ( $1591,5 \pm 18,35$  m/detik), juga antara kelompok *GE Chroma 50* dengan kelompok kontrol *posttest*. Hasil uji multivariat juga menunjukkan adanya perbedaan bermakna nilai variabel *alkaline phosphatase* antara kelompok *pretest* ( $98,25 \pm 4,17$   $\mu$ /dl) dengan kelompok *GE Chroma 50* ( $150 \pm 22,15$   $\mu$ /dl) dan antara kelompok *GE Chroma 50* dengan kelompok kontrol



*posttest* ( $101,25 \pm 3,49 \mu\text{dl}$ ). Namun antara kelompok *pretest* dengan kelompok kontrol *posttest* tidak terdapat perbedaan yang bermakna *alkaline phosphatase* ( $p=0,445$ ).

Dengan uji multivariat juga diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna antara perubahan kepadatan tulang antara kelompok *GE Chroma 50* ( $201,87 \pm 63,64 \text{ m/detik}$ ) dengan kelompok kontrol *posttest* ( $115,62 \pm 18,35 \text{ m/detik}$ ) dengan tingkat kemaknaan  $p=0,03$ . Selain itu juga terdapat perbedaan yang bermakna pada perubahan serum *alkaline phosphatase* kelompok *GE Chroma 50* ( $51,75 \pm 22,15 \mu\text{dl}$ ) dengan kelompok kontrol *posttest* ( $3 \pm 3,49 \mu\text{dl}$ ) dengan tingkat kemaknaan  $p=0,00$ .

Dari analisis tersebut dapat disimpulkan bahwa paparan sinar ultraviolet lampu *GE Chroma 50* dapat meningkatkan kepadatan tulang, dan paparan sinar ultraviolet lampu *GE Chroma 50* dapat meningkatkan *alkaline phosphatase* dalam serum.

## SUMMARY

### **Effect of GE Chroma 50 Lamp Exposure on the Bone Density of Male White Rat (*Rattus norvegicus*)**

Raden Wisnu Dwijaya Kusuma

The vitamin D which has effects on calcium metabolism and osteoblast maturation play a very important role in maintaining the bone density. There are many natural sources of vitamin D. Before it shows its effects, vitamin D has to be activated by the ultraviolet.

The main ultraviolet nature source is sunlight. Ultraviolet is provided from the sunlight, especially in tropical region, Indonesia for instance. However, the amount of sunlight exposures received by each person is vary in wide range depends on geographic region, personal daily activities, and occupation. Beside that, over exposures of sunlight can cause some bad effects to the health.

Previous studies have tried to discover alternatives of sunlight replacements as ultraviolet source that can be provided everytime. Several types of lamp has been developed and designed to expose ultraviolet light and have been applied on pet animal. *GE Chroma 50* is one of types of lamp that produces ultraviolet spectrum. This type of lamp had been applied to supply ultraviolet spectrum for pet animal that need ultraviolet light. However, there are still not many research studied more about the effect of the lamp to the bone density.

The objective of this research is to prove the effect of *GE Chroma 50* lamp to the bone density. The bone density variables in this research is measured by *DBM Sonic 1200* and the serum level of alkaline phosphatase as well.

Twenty four strain Wistar rats were examined, equally divided into 3 groups; sample pretest group, *GE Chroma 50* group, and posttest control group. The sample pretest group was given no exposure, sacrificed at the beginning of research, and examined as research initial data; the *GE Chroma 50* group was expose to the lamp, and the posttest control group was also given no exposure. The *GE Chroma 50* group is exposed in 100 days long. Measurement of bone density and serum level of alkaline phosphatase was conducted at the end of the research after sacrification of the rats.

Result of the multivariate test of bone density showed significant difference between pretest group ( $1475,88 \pm 28,69$  m/s) compared to *GE Chroma 50* group ( $1677,75 \pm 63,64$  m/s), and posttest control group ( $1591,5 \pm 18,35$  m/s). The test result of bone density also showed a significant difference between *GE Chroma 50* group compared to posttest control group as well. Multivariate test was also conducted to analize the difference of serum alkaline phosphatase between the groups. The result of the test showed a significant difference between pretest group ( $98,25 \pm 4,17$   $\mu$ /dl ) compared to *GE Chroma 50* group ( $150 \pm 22,15$   $\mu$ /dl); between *GE Chroma 50* compared to posttest control group ( $101,25 \pm 3,49$   $\mu$ /dl) as well. Serum alkaline phosphatase level between pretest group and posttest control group showed no significant difference ( $p=0,445$ ).

Multivariate test was also conducted to analize the difference of the change of bone density between *GE Chroma 50* group ( $201,87 \pm 63,64$  m/s )

compared to posttest control group ( $115,62 \pm 18,35$  m/s) and it was found that there was a significant difference between the groups ( $p=0,03$ ). It was also known from the test that there is a significant difference of the serum alkaline phosphatase level between GE Chroma 50 group ( $51,75 \pm 22,15$   $\mu$ /dl) compared to posttest control group ( $3 \pm 3,49$   $\mu$ /dl) in level of significance  $p=0,000$ .

At the end of research it can be concluded that the ultraviolet exposure from GE Chroma 50 lamp can increase the bone density and serum alkaline phosphatase level.



## ABSTRACT

### **Effects of GE Chroma 50's Light Exposure to the Bone Density of White Rats (*Rattus norvegicus*)**

R Wisnu Dwijaya Kusuma

Ultraviolet exposure from sunlight is very important in vitamin D metabolism. Vitamin D is one of the factors that influence bone remodeling. Unfortunately several reasons make everybody is exposed different quantity and quality of sunlight. Researches were conducted to discover alternative of ultraviolet source.

The objectives this research is to prove that the exposure of the GE Chroma 50's light can increase bone density and serum alkaline phosphatase level. The increase of bone density is measured physically by DBM sonic 1200 dan biochemically by serum alkaline phosphatase level .

This research was a experimental study using *The Separate-Sample Sample pretest-Posttest Control Group Design*. Twenty four *Rattus norvegicus* strain Wistar were examined, equally divided into 3 groups; pretest group, GE Chroma 50 group, and control posttest group. The pretest group were sacrificed at the beginning of the research, and the rest were examined for 100 days long before sacrificed at the of the research. The data were analysed using manova test.

There was a significant difference of bone density between pretest group compared to GE Chroma 50 group and posttest control group. There was also a significant difference of bone density between GE Chroma 50 group compared to posttest control group as well. It was also found a significant difference between

pretest group compared to GE Chroma 50 group; and between GE Chroma 50 compared to posttest control group as well. Serum alkaline phosphatase level between pretest group compared to posttest control group showed no significant difference. It was found that there is a significant difference of the change of bone density between the GE Chroma 50 group compared to posttest control group groups. It was also known from the test that there is a significant difference of the serum alkaline phosphatase level between GE Chroma 50 group compared to posttest control group

The ultraviolet exposure from GE Chroma 50 lamp can increase the bone density and serum alkaline phosphatase level.

**Keywords** : GE Chroma 50, ultraviolet, bone density, alkaline phosphatase, *Rattus norvegicus*.

## DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Persetujuan.....	iv
Penetapan Panitia .....	v
Ucapan Terima Kasih.....	vi
Ringkasan.....	vii
Summary.....	x
Abstrak.....	xiii
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR GAMBAR.....	xx
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxi
DAFTAR SINGKATAN.....	xxii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan umum.....	3
1.3.2 Tujuan khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5

2.1	Struktur Anatomis Tulang.....	5
2.2	Struktur Histologis Tulang.....	5
2.2.1	<i>Immature bone (woven bone)</i> .....	5
2.2.2	<i>Mature bone (lamellar bone)</i> .....	6
2.3	Sel Tulang.....	7
2.3.1	Osteoblas .....	7
2.3.2	Osteosit.....	8
2.3.3	Osteoklas.....	8
2.4	Remodeling Tulang.....	10
2.5	<i>Alkaline Phosphatase</i> .....	13
2.6	Kekuatan Tulang.....	15
2.7	Metabolisme Vitamin D.....	16
2.8	Sumber Vitamin D.....	18
2.9	Pengaruh Vitamin D terhadap Kekuatan Tulang.....	20
2.10	Sinar Ultraviolet B.....	22
2.11	Efek Paparan Sinar Ultraviolet terhadap Tubuh.....	24
2.11.1	Efek pada tingkat molekuler.....	24
2.11.2	Efek pada kulit.....	25
2.11.3	Efek pada mata.....	28
2.12	Reaksi Fotokimia pada Kulit.....	28
2.13	Matahari sebagai Sumber Sinar Ultraviolet.....	29
2.14	Sumber Sinar Ultraviolet Artifisial.....	30
2.15	Lampu <i>GE Chroma 50</i> .....	31
2.16	<i>Rattus norvegicus</i> .....	32



2.17 DBM Sonic 1200.....	32
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....</b>	<b>34</b>
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	34
3.2 Hipotesis Penelitian.....	35
<b>BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN.....</b>	<b>36</b>
4.1 Rancangan Penelitian.....	36
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	36
4.2.1 Lokasi penelitian.....	37
4.2.2 Waktu penelitian.....	37
4.3 Populasi dan Sampel .....	37
4.3.1 Populasi.....	37
4.3.2 Sampel dan besar sampel.....	37
4.4 Variabel Penelitian.....	38
4.5 Definisi Operasional.....	39
4.6 Bahan dan Instrumen Penelitian.....	40
4.6.1 Bahan Penelitian.....	40
4.6.2 Instrumen Penelitian.....	41
4.7 Prosedur Penelitian.....	41
4.8 Analisis Data.....	43
<b>BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>45</b>
5.1 Hasil Uji Statistik Deskriptif.....	45
5.2 Hasil Uji Normalitas.....	47
5.3 Efek Maturasi.....	49
5.4 Perubahan Variabel pada Tiap Kelompok (Uji Manova).....	49

BAB 6 PEMBAHASAN.....	53
6.1 Pembahasan Metode Penelitian.....	53
6.2 Pengaruh Pemaparan Sinar Lampu <i>GE Chroma 50</i> Terhadap Peningkatan Kepadatan Tulang.....	54
6.3 Pengaruh Pemaparan Sinar Lampu <i>GE Chroma 50</i> Terhadap Peningkatan <i>Alkaline Phosphatase Serum</i> .....	56
6.4 Keterbatasan penelitian.....	57
BAB 7 PENUTUP.....	59
7.1 Kesimpulan.....	59
7.2 Saran.....	59
Daftar Pustaka.....	60
Lampiran.....	65

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Profil beberapa petanda tulang.....	14
Tabel 2.2 Sumber vitamin D.....	18
Tabel 5.1 Rerata dan simpang baku berat badan awal, kepadatan tulang, dan <i>alkaline phosphatase</i> menurut kelompok .....	46
Tabel 5.2 Hasil uji distribusi data kelompok terhadap kepadatan tulang dan <i>alkaline phosphatase</i> .....	48
Tabel 5.3 Hasil uji distribusi data kelompok terhadap perubahan kepadatan tulang dan <i>alkaline phosphatase</i> .....	48
Tabel 5.4 Efek maturasi masing-masing variabel pada tiap kelompok .....	49
Tabel 5.5 Tingkat kemaknaan perbedaan antar kelompok .....	50
Tabel 5.6 Rerata dan simpang baku perubahan kepadatan dan perubahan <i>alkaline phosphatase</i> menurut kelompok .....	51
Tabel 5.7 Tabel diskriminan perubahan variabel.....	52

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1: Hubungan antara sel-sel tulang, prekursornya, dan keterkaitan dengan sitokin .....	8
Gambar 2.2: Diagram struktur tulang yang menggambarkan hubungan antara sel-sel tulang.....	9
Gambar 2.3: Remodeling tulang oleh <i>bone multicellular unit</i> .....	13
Gambar 2.4: Metabolisme vitamin D2 dan vitamin D3 .....	17
Gambar 2.5: Skema metabolisme vitamin D dan faktor-faktor yang mempengaruhinya.....	18
Gambar 2.6: Variasi penetrasi sinar ultraviolet, sinar tampak, dan sinar infra merah pada jaringan kulit .....	23
Gambar 3.1: Skema kerangka konseptual penelitian .....	34
Gambar 5.1: Diagram batang berat badan awal hewan coba menurut Kelompok.....	47
Gambar 5.2: Diagram batang kepadatan tulang menurut kelompok.....	47
Gambar 5.3 Diagram batang <i>alkaline phosphatase</i> serum menurut kelompok.....	47
Gambar 5.4 Diagram batang perubahan kepadatan tulang menurut kelompok.....	51
Gambar 5.5 Diagram batang perubahan alkaline phosphatase serum menurut kelompok.....	51

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Teknis Pengambilan Sampel.....	65
Lampiran 2. Komposisi Pakan (CP 524-2 ).....	66
Lampiran 3: Prosedur Pembiusan.....	67
Lampiran 4: Prosedur Pemeriksaan Kepadatan Tulang.....	68
Lampiran 5: Data Asli Hasil Penelitian.....	69
Lampiran 6: Dokumentasi.....	75

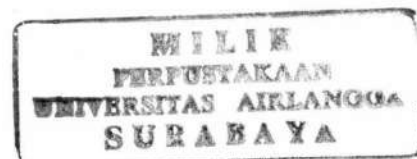
## DAFTAR SINGKATAN

1,25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	: 1,25-dihidroksikolekalsiferol/kalsitriol
7-DHK	: 7-dehidrokolesterol/provitamin D <sub>3</sub>
25-OH D <sub>3</sub>	: 25-hidroksikolekalsiferol/kalsidiol
ALP	: Alkaline phosphatase
BDGF	: Bone derived growth factor
BMC	: Bone mineral content
BMD	: Bone mineral density
BMU	: Basic multicellular unit
CFU-F	: Fibroblast colony forming unit
CFU-GM	: Granulocyte-macrophage colony forming unit
D <sub>3</sub> vitamin	: Kolekalsiferol/previtamin D <sub>3</sub>
IGF-1	: Insulin growth factor 1
IGF-2	: Insulin growth factor 2
IL-1	: Interleukin 1
IL-6	: Interleukin 6
IL11	: Interleukin 11
MDGF	: Macrophage derived growth factor
PGE <sub>1</sub>	: Prostaglandin E <sub>1</sub>
PGE <sub>2</sub>	: Prostaglandin E <sub>2</sub>
PGE <sub>3</sub>	: Prostaglandin E <sub>3</sub>
PGI <sub>1</sub>	: Prostaglandin I <sub>1</sub>
PGI <sub>2</sub>	: Prostaglandin I <sub>2</sub>
PTH	: Parathyroid hormon dan TNF- $\beta$
TGF $\alpha$	: Transforming growth factor $\alpha$
TGF $\beta$	: Transforming growth factor $\beta$
TNF- $\alpha$	: Tumor necrosis factor $\alpha$
UV	: Ultraviolet
UVA	: Ultraviolet A
UVB	: Ultraviolet B (beta)
UVC	: Ultraviolet C

**BAB 1****PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Vitamin D merupakan salah satu penting faktor yang mempengaruhi kepadatan tulang melalui efeknya pada metabolisme kalsium dan pada maturasi osteoblas. Vitamin D berperan dalam meningkatkan absorpsi kalsium di usus yang selanjutnya akan didistribusikan ke dalam tulang untuk mineralisasi tulang (Bikle, 1993). Vitamin D juga mendorong terjadinya maturasi preosteoblas menjadi osteoblas (Smith, 1998). Osteoblas yang telah matur sangat berperan dalam pembentukan matriks tulang yang selanjutnya mengalami mineralisasi. Osteoblas yang telah matur akan memproduksi *alkaline phosphatase*. Kadar *alkaline phosphatase* dalam serum merupakan salah satu indikator aktifitas osteoblas.

Sinar matahari sebagai sumber ultraviolet alami sangat penting dalam metabolisme vitamin D. Telah terbukti bahwa paparan sinar matahari di wajah dan lengan selama 5-30 menit per hari dalam 2-3 kali per minggu dapat mensuplai kira-kira 400 IU vitamin D per hari (Hollick, 1986). Pada penelitian lain, Falkenbach (2001) menyimpulkan bahwa suplementasi vitamin D melalui pemaparan terhadap sinar ultraviolet B merupakan salah satu cara pencegahan osteoporosis. Sedemikian besarnya peran sinar matahari terhadap metabolisme vitamin D hingga Glerup dan kawan-kawan (2000) menyatakan bahwa pemberian vitamin D dalam dosis yang direkomendasikan tidak cukup bagi tubuh bila tidak



disertai dengan paparan sinar matahari (yang mengandung ultraviolet B) yang cukup.

Berbagai faktor menyebabkan manusia mendapat paparan sinar matahari yang berbeda, salah satunya adalah faktor pekerjaan. Seorang petani, misalnya, yang setiap hari bekerja di sawah akan menerima paparan sinar matahari yang lebih banyak daripada petugas di rumah sakit (Vieth, 1999). Penelitian yang dilakukan di suatu rumah sakit di India menyebutkan bahwa dokter dan perawat yang bekerja di rumah sakit tersebut mendapat paparan sinar matahari paling lama selama 25 menit setiap harinya (Kochupillai, 2000).

Variabilitas paparan sinar matahari yang diterima manusia menimbulkan gagasan untuk mencari sumber sinar ultraviolet artifisial sebagai pengganti sinar ultraviolet dari matahari. Chuck dan kawan-kawan (2001) juga telah memanfaatkan sumber ultraviolet artifisial dalam penelitian dengan menggunakan sumber ultraviolet artifisial sebagai pencegahan defisiensi vitamin D. Paparan ultraviolet dari lampu juga telah dibuktikan dapat mempertahankan remodeling tulang pada *Macaca fascicularis* (Rahman, 1999).

Lampu *GE Chroma 50* telah dimanfaatkan sebagai pengganti sinar ultraviolet matahari pada hewan peliharaan. Berbagai artikel telah merekomendasikan lampu *GE Chroma 50* sebagai sumber ultraviolet pengganti sinar matahari untuk hewan-hewan reptil, seperti iguana, ular, dan kura-kura (Kaplan, 1996). Belum banyak penelitian yang dilakukan untuk mengetahui efek *GE Chroma 50*, namun Bernard (1997) dalam artikelnya yang mengutip dari disertasinya, juga telah merekomendasikan lampu ini sebagai sumber ultraviolet artifisial pengganti matahari untuk iguana. Namun demikian Power et al (1990)



telah membuktikan bahwa lampu ini dapat mengkonversi 7-dehidrokolesterol menjadi 25-OH vitamin D secara *in vitro*. Di balik hasil penelitian tersebut masih banyak pertanyaan yang belum terjawab dan perlu dicari jawabannya; bagaimana efek lampu tersebut terhadap hewan lain (misalnya tikus), bagaimana efek lampu tersebut terhadap metabolisme vitamin D *in vivo*, bagaimana efeknya terhadap kepadatan tulang, dan bagaimana efeknya terhadap *alkaline phosphatase*?

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemaparan sinar lampu *GE Chroma 50* dapat meningkatkan kepadatan tulang?
2. Apakah pemaparan sinar lampu *GE Chroma 50* dapat meningkatkan *alkaline phosphatase* dalam serum?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum

Membuktikan pemaparan sinar lampu *GE Chroma 50* dapat meningkatkan kepadatan tulang.

### 1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan pemaparan sinar lampu *GE Chroma 50* dapat meningkatkan kepadatan tulang.
2. Membuktikan pemaparan sinar lampu *GE Chroma 50* dapat meningkatkan *alkaline phosphatase* dalam serum.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Dengan tercapainya tujuan penelitian ini diharapkan akan menjadi awal dari munculnya penelitian yang lebih mendalam tentang pemanfaatan sinar ultraviolet B dari lampu *GE Chroma 50* sebagai alternatif sumber sinar ultraviolet B. Dengan berkembangnya pemanfaatan sinar ultraviolet B dari lampu di rumah tangga diharapkan akan mempermudah memperoleh paparan sinar ultraviolet B sebagai salah satu cara mencegah defisiensi vitamin D tanpa efek samping sinar matahari dan dapat mempertahankan kepadatan tulang.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Struktur Anatomis Tulang

Secara garis besar, tulang dibagi menjadi dua berdasarkan bentuknya yaitu tulang pipih dan tulang tubuler (Woolf, 1988). Sementara itu Salter mengklasifikasikan tulang berdasarkan struktur *gross* sebagai berikut:

- a. Tulang panjang, misalnya humerus, radius, ulna, femur, tibia, fibula
- b. Tulang pendek, misalnya tulang-tulang karpal, tarsal
- c. Tulang pipih, misalnya skapula

Masing-masing tulang tersebut terdiri dari tulang kompakta (*dense cortical bone*) pada bagian luar, dan pada bagian dalamnya merupakan tulang spongiosa (*trabecular bone*). Bagian luar tulang kompakta dilapisi periosteum (Salter, 1999). Tulang yang berbentuk tubuler, baik tulang panjang maupun tulang pendek, terdiri dari tiga bagian yaitu diafisis pada bagian tengah sumbu panjang, metafisis pada bagian peralihan antara diafisis dan epifisis, dan epifisis pada bagian ujung sumbu panjang (Woolf, 1988).

#### 2.2 Struktur Histologis Tulang

Secara mikroskopis, tulang dapat diklasifikasikan menjadi dua bentuk, yaitu *immature bone* dan *mature bone* (Salter, 1999).

##### 2.2.1 *Immature bone (woven bone)*

Tulang yang pertama dibentuk melalui proses *endochondral ossification* pada masa pertumbuhan embrionik merupakan tulang imatur. Tulang imatur ini

secara bertahap digantikan oleh tulang yang matur sehingga pada usia 1 tahun, pada keadaan normal, tidak terdapat lagi tulang imatur. Tulang imatur juga didapatkan dalam keadaan penyembuhan fraktur, reaksi terhadap infeksi dan pada tumor. Namun demikian, tulang imatur pada keadaan-keadaan tersebut segera digantikan oleh tulang matur (Salter, 1999). Bentuk tulang ini mengandung lebih banyak sel per unit volume dibandingkan dengan *lamellar bone*. Kandungan mineralnya bervariasi, dan sel-selnya tersusun secara random. *Woven bone*, demikian juga pada *lamellar bone*, secara struktural tersusun atas tulang trabekular (*spongy* atau *cancellous*) dan tulang kortikal (*dense* atau kompak) (Kaplan, 1994).

### 2.2.2 *Mature bone (lamellar bone)*

*Lamellar bone* mulai dibentuk pada bayi yang berusia satu bulan. Pada usia satu tahun, *lamellar bone* secara aktif menggantikan *woven bone* yang kemudian terserorpsi. *Lamellar bone* tersusun atas beberapa sistem struktural dan fungsional, yaitu *trabecular lamellae*, *outer* dan *inner circumferential lamellae*, *interstitial lamellae*, dan *osteon* dengan *concentric lamellae*. Osteon merupakan suatu bentukan silindris yang irreguler, bercabang, dan saling beranastomosis, yang didalamnya terdapat kanal neurovaskular yang dikelilingi lapisan matriks tulang (Kaplan, 1994). Berdasarkan strukturnya, tulang matur dapat diklasifikasikan menjadi :

1. *Compact bone*

Delapan puluh persen massa skeletal merupakan massa *compact bone*. Tulang ini menyusun permukaan luar dari semua jenis tulang, terutama pada bagian batang (*shaft*) dari tulang tubuler.

## 2. *Trabecular bone*

Tulang ini merupakan kerangka yang kaku yang dibentuk oleh tulang yang telah mengalami mineralisasi. Tulang ini terutama menyusun *vertebral body* dan bagian epifisis tulang panjang. Struktur trabekular pada tulang trabekular ini menyebabkan tulang ini memiliki luas permukaan yang besar. Pada tulang inilah terjadi metabolisme yang paling aktif dari seluruh kerangka sehingga *turnover* yang terjadi lebih cepat, dan asupan darah yang lebih besar daripada *compact bone* (Woolf, 1988).

## 2.3 Sel Tulang

### 2.3.1 Osteoblas

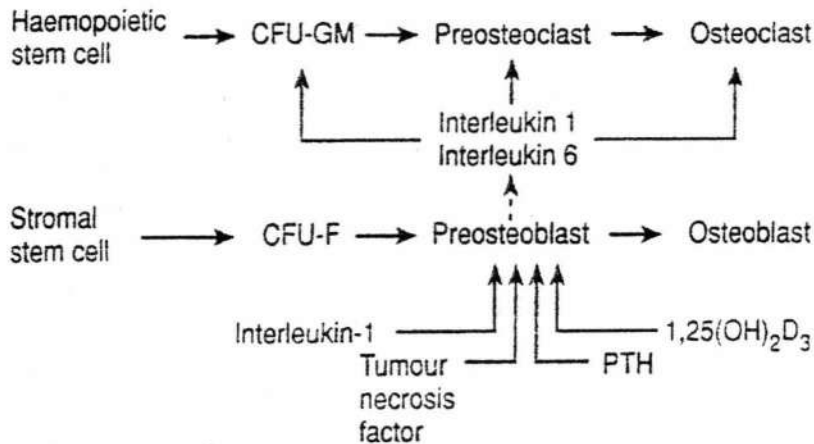
Osteoblas adalah *bone-forming cells* yang mensintesis dan mensekresi *unmineralized bone matrix* (osteoid), berperan dalam kalsifikasi tulang dan resorpsi tulang, dan meregulasi kalsium dan fosfat masuk dan keluar dari tulang. Osteoblas dapat mensintesis dan mensekresi makromolekul sebagai berikut: *type I collagen, non collagenous matrix protein, osteocalcin, osteonectin*, beberapa *matrix protein, bone specific proteoglycan, PGE<sub>1</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>, collagenase, tissue plasminogen activators*, dan *tissue plasminogen inhibitor*.

Osteoblas dipengaruhi oleh beberapa faktor, baik faktor lokal maupun faktor sistemik. Faktor-faktor lokal yang berperan dalam regulasi formasi tulang, yaitu TGF $\beta$ , BDGF, IGF-1, IGF-2, IL-1, MDGF, TGF $\alpha$ , PGE<sub>2</sub>. Faktor sistemik

yang mempengaruhi osteoblas antara lain *growth hormone*, insulin, *parathyroid hormone*, dan testosteron (Jee, 1991). Osteoblas terletak pada permukaan tulang. Pada permukaan luar membran sel osteoblas terdapat *alkaline phosphatase* (gambar 2.1) (Kaplan,1994).

### 2.3.2 Osteosit

Osteosit adalah sel tulang yang fungsi utamanya sama dengan osteoblas, yaitu berfungsi dalam pembentukan tulang. Osteosit merupakan osteoblas yang terbenam dalam matriks yang bermineral (*mineralized matrix*). Bila osteoblas dikelilingi oleh matriks tulang, yang kemudian termineralisasi, sel tersebut memiliki rasio nukleus-sitoplasma yang tinggi dan mengandung sedikit organel (Kaplan,1994).

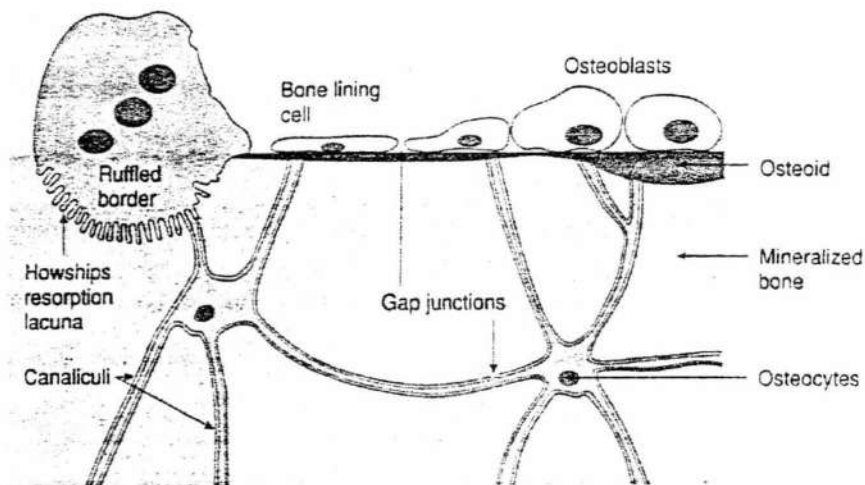


Gambar 2.1 Hubungan antara sel-sel tulang, prekursornya, dan keterkaitan dengan sitokin (Smith, 1998)

### 2.3.3 Osteoklas

Osteoklas merupakan sel resorptif utama pada tulang. Sel ini memiliki ukuran yang besar dan memiliki nukleus yang multipel (Kaplan,1994). Osteoklas memiliki bagian yang disebut dengan *ruffled border*. Dengan *ruffled border*

osteoklas dapat melekat pada permukaan tulang. Osteoklas yang kekurangan *ruffled border* tidak dapat melakukan resorpsi tulang. *Ruffled border* tersebut dikelilingi suatu *ectoplasmic zone* yang mengandung filamen yang aktif yang disebut dengan *clear zone*. (Jee, 1991). Osteoklas merupakan derivat dari sel pluripoten pada sumsum tulang yang juga merupakan prekursor monosit dan makrofag (gambar 2.1). Monosit merupakan sel mononuklear, sedangkan osteoklas dan makrofag dibentuk dari fusi monosit (Kaplan,1994). Osteoklas melakukan aktivitas resorpsinya dengan membuat suasana asam pada tulang yang menyebabkan dekalsifikasi, selanjutnya osteoklas mensekresi enzim lisosom untuk menghancurkan osteosit. Osteoklas terletak pada daerah resorpsi tulang pada cekungan yang disebut dengan lacuna dari Howship (gambar 2.2) (Kaplan,1994).



Gambar 2.2 Diagram struktur tulang yang menggambarkan hubungan antara sel-sel tulang (Smith, 1998).

Osteoklas dapat distimulasi oleh PTH, 1,25-dihidroksi vitamin D, PGE<sub>3</sub>, PGI<sub>1</sub>, IL-1, TNF- $\alpha$ , dan TNF- $\beta$  dengan cara menstimulasi diferensiasi osteoklas.

Sementara itu, osteoklas dihambat oleh calcitonin dengan cara menghambat langsung aktivitas osteoklas. Prostaglandin ( $\text{PGE}_2$  dan  $\text{PGI}_1$ ) menghambat osteoklas dengan cara yang sama tapi efeknya lebih lemah. Estrogen menghambat resorpsi tulang oleh osteoklas dengan cara menghambat sintesis IL-6 yang dapat menstimulasi resorpsi tulang (Jee, 1991).

## 2.4 Remodeling Tulang

Tulang bukan merupakan suatu organ yang statis, tapi tulang secara terus menerus mengalami remodeling. Remodeling adalah suatu proses dimana terjadi penggantian tulang imatur dan tulang yang tua melalui resorpsi yang diikuti dengan formasi tulang lamellar baru. Remodeling bertujuan untuk mempertahankan *lamellar bone* sejak saat terbentuknya. Pada remodeling tidak terjadi perubahan bentuk dan ukuran tulang. Remodeling berlangsung melalui suatu paket aktivitas seluler yang sebut dengan *basic multicellular units* (BMU). Remodeling pada dasarnya merupakan suatu mekanisme untuk menjaga keseimbangan antara formasi tulang dan resorpsi tulang (Jee, 1991, Albright, 1979).

Remodeling oleh BMU terjadi dalam suatu urutan proses sebagai berikut:  
(Ott, 2000)

### a. *Origination*

Setelah terjadinya kerusakan mikro pada tulang, atau mengalami stres mekanik, BMU akan terbentuk. Pembentukan BMU tersebut memerlukan keberadaan bermacam-macam sitokin dan *growth factor*. Setelah terbentuk, BMU akan bergerak sepanjang permukaan tulang.



*Origination* dipengaruhi oleh beban mekanik, kerusakan mikro, atau faktor dalam sumsum tulang. Beberapa hormon dan sitokin yang tampaknya mempengaruhi tahap ini antara lain PTH, 1,25-dihidroksivitamin D, IL6, IL11, estrogen, dan prostaglandin dan *growth factor*. Beberapa dari hormon dan sitokin tersebut tergantung pada estrogen yang dapat menjelaskan mengapa menopause berkaitan dengan peningkatan originasi BMU.

b. *Osteoklas recruitment*

Pre-osteoklas, yang berkaitan dengan makrofag, bergabung dan membentuk osteoklas yang multinuklear.

c. *Resorption*

Osteoklas yang matang akan meresorpsi tulang. Pada saat BMU 'berkelana', osteoklas baru secara kontinyu diaktivasi dan kemudian memulai resorpsi. Pada sebarang titik pada permukaan, resorpsi akan berakhir dalam waktu kira-kira dua minggu.

Aktivitas osteoklas dapat ditingkatkan oleh defisiensi estrogen, asidosis, kortikosteroid, dan dapat diturunkan oleh kalsitonin dan bisphosphonate.

d. *Osteoid formation*

Setelah resorpsi, osteoklas akan menghilang (mungkin melalui mekanisme *self-destruct*), dan hal ini kemungkinan menarik osteoblas. Sitokin dan *growth factor* yang terlibat dalam *origination*, dan *bone-derived growth factor* yang dilepaskan pada saat resorpsi juga menarik osteoblas. Osteoblas yang aktif kemudian akan membuat lapisan osteoid dan perlahan-lahan mengisi kembali kavitas. Penuaan akan mengakibatkan osteoblas tidak mengisi secara lengkap ruangan/kavitas yang teresorpsi. Hal ini mungkin

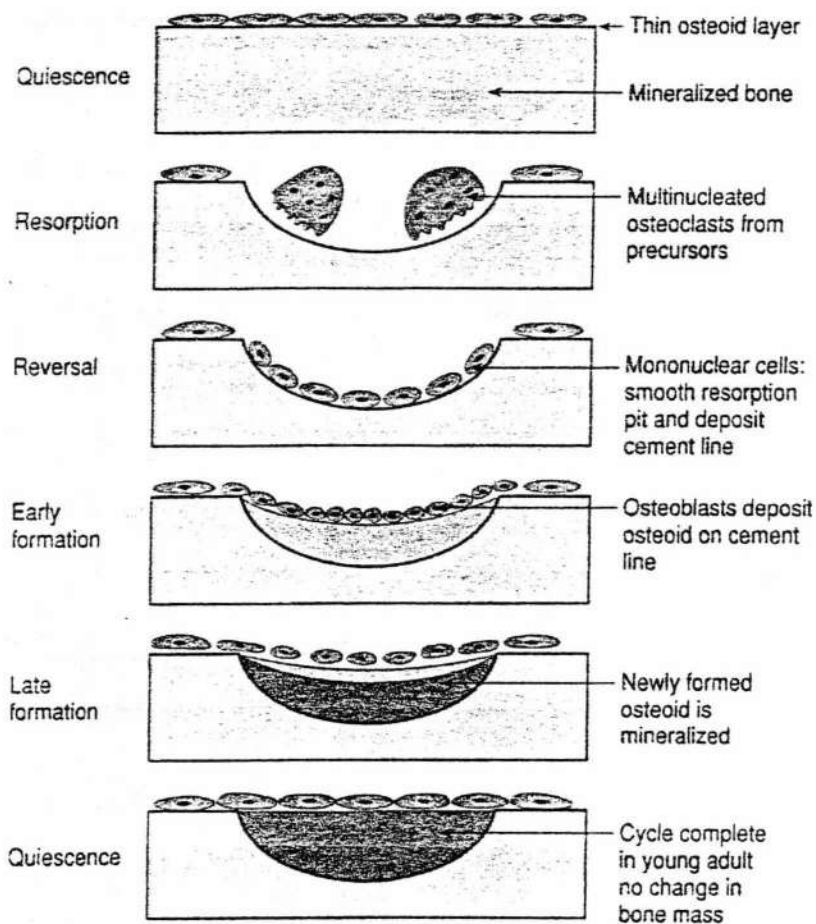
terjadi karena sedikitnya jumlah osteoblas. Aktivitas osteoblas ditingkatkan oleh *growth factor* seperti TGF  $\beta$ , dan dikurangi aktivitasnya oleh kortikosteroid, bilirubin, dan toksin (misalnya aluminium).

e. *Mineralization*

Bila osteoid mencapai ketebalan 6 mikron, maka ia akan mulai mengalami mineralisasi. Proses ini juga diatur oleh osteoblas.

f. *Mineral maturation*

Dalam jangka waktu beberapa bulan setelah kavitas diisi dengan tulang, kristal mineral didekatkan sehingga kepadatan tulang baru meningkat.



Gambar 2.3 Remodeling tulang oleh *bone multicellular unit* (Smith, 1998).

g. *Quiescence*

Osteoblas terakhir akan berubah menjadi sel yang melapisi yang ikut serta dalam pelepasan kalsium dari tulang. Beberapa dari osteoblas juga berubah menjadi osteosit yang menetap dalam tulang.

## 2.5 *Alkaline Phosphatase*

Telah dikenal petanda-petanda tulang yang dapat mengukur aktivitas *bone turnover*, pada tahap formasi tulang dan resorpsi tulang. Petanda formasi tulang antara lain osteokalsin, *alkaline phosphatase (ALP)*, *Procollagen I carboxy (PICP)*, *N-terminal (PINP) extension peptides*. Sedangkan petanda resorpsi tulang antara lain *Tartrate-resistant acid phosphatase*, *free pyridinoline*, *Deoxypyridinoline*, *Type I collagen N* (tabel 2.1). Petanda tulang dapat diperiksa dari serum/plasma maupun dari urin (Garnero, 1999). Aktifitas sel tulang telah diketahui mengalami variasi sirkadian. Aktifitas formasi tulang mencapai puncaknya pada malam hari, sedangkan aktifitas resorpsi tulang mencapai puncaknya pada dini hari menjelang pagi hari. Variasi pada aktifitas formasi tulang tersebut disebabkan oleh karena adanya variasi sirkadian pada kadar kortisol serum, namun belum diketahui apa yang menyebabkan terjadinya variasi pada aktifitas resorpsi tulang (Whipple, et al, 2002).

Alkaline phosphatase (ALP) merupakan enzim yang termasuk dalam kelompok zinc metalloprotein enzyme yang berfungsi untuk memecah gugus fosfat terminal dalam ester fosfat organik. ALP bekerja dalam suasana basa (alkalis) terutama pada pH 10. Untuk bekerja secara minimal ALP membutuhkan ion-ion Mg dan Zn (Anonymous, 2002). Paling tidak ada empat jenis alkaline

phosphatase yang berbeda tapi saling berkaitan, yaitu *intestinal*, *placental*, *placental-like*, dan hepar/tulang/ginjal (*tissue non-specific*). ALP dalam serum terutama diproduksi hepar (isoenzim ALP1) dan tulang (isoenzim ALP 2). Di hepar, ALP diproduksi oleh sel mukosa pada sistem hepatobilier. Pada tulang, ALP diproduksi oleh osteoblas (Alexander, 2003).

Tabel 2.1 Profil beberapa petanda tulang.

Petanda	Spesimen	Metode pengukuran	Kelebihan	Kekurangan
<b>Formasi tulang</b>				
1. Total alkaline phosphatase	Serum	Kolorimetrik	Praktis, mudah dilakukan	Tidak spesifik untuk tulang
2. Bone specific alkaline phosphatase	Serum	ELISA	Spesifik untuk tulang	Tempat pemeriksaan masih terbatas, mahal
3. Osteokalsin	Serum	RIA, ELISA	Spesifik untuk tulang	Tempat pemeriksaan masih terbatas, mahal
4. N-terminal (PINP) extension peptides	Serum	RIA	Spesifik untuk tulang	Tempat pemeriksaan masih terbatas, mahal
<b>Resorpsi tulang</b>				
1. Total pyridinoline	Urin	HPLC	Spesifik untuk tulang	Tempat pemeriksaan masih terbatas, mahal
2. Free Deoxypyridinoline	Serum/ urin	ELISA	Praktis, mudah dilakukan. Spesifik untuk tulang	Tempat pemeriksaan masih terbatas, mahal
3. Type I collagen N	Serum/ urin	ELISA	Praktis, mudah dilakukan, Spesifik untuk tulang	Tempat pemeriksaan masih terbatas, mahal

Sumber : Rosen et al, 1988; Garnero 1999

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; HPLC: high-preference liquid chromatography;  
RIA: radioimmunoassay

Kadar ALP dari isoform hepar dan isoform tulang dalam total ALP serum kurang lebih ekuivalen pada tubuh orang normal (Jenkins, 2001). Bila terjadi gangguan di hepar ALP akan meningkat bersamaan dengan meningkatnya enzim

hepar lainnya, yaitu  $\gamma$ -glutamil transferase atau 5-nukleotidase. Pada tulang ALP disekresi oleh osteoblas. Peningkatan ALP serum sampai 4 kali lipat di atas nilai normal biasanya tidak disebabkan karena gangguan pada tulang. Bila terjadi peningkatan seperti itu maka penyebabnya adalah penyakit Paget yang parah, luas, dan aktif. Peningkatan kadar ALP serum sampai 2-3 kali di atas nilai normal terjadi pada keadaan hipoparatiroidisme. Pada keadaan osteoporosis, kadar ALP serum adalah normal. Tapi ALP akan meningkat bila osteoporosis disertai hipoparatiroidisme atau bila baru saja mengalami fraktur, atau bila terdapat juga kelainan hepar (Woolf, 1988).

## 2.6 Kekuatan Tulang

Kekuatan tulang (*bone strength*) ditentukan oleh dua faktor, yaitu kuantitas tulang (*bone quantity*) dan kualitas tulang (*bone quality*) (NIH, 2000; Yuliati, 2002).

### 1. Kuantitas tulang

Ada beberapa parameter kekuatan tulang, antara lain massa tulang (*bone mass*), kepadatan tulang (*bone mineral density, BMD*), dan *bone mineral content* (BMC). Massa tulang adalah massa jaringan tulang, diukur dengan satuan gram. *Bone mineral content* adalah massa mineral dalam jaringan tulang, diukur dengan satuan gram. Sedangkan kepadatan tulang adalah kepadatan massa mineral per satuan volume jaringan tulang, diukur dengan satuan  $\text{g/cm}^3$  atau  $\text{mg/cm}^3$  (Resnick, 1995). Pada manusia, kuantitas tulang ditentukan oleh *peak bone mass* dan jumlah *bone loss* (NIH, 2000).

### 2. Kualitas tulang

Kualitas tulang dapat diukur melalui beberapa parameter, antara lain struktur trabekula (mikroarsitektur tulang), *turnover*, tekstur matriks tulang (*lamellar bone* dan *woven bone*), ukuran kristal, viabilitas sel tulang, dan mineralisasi (Ott,2000; NIH, 2000).

Besarnya massa tulang hanya dapat memperkirakan 40-50% besarnya kekuatan tulang. Hal tersebut menunjukkan bahwa selain massa tulang (kuantitas tulang), kualitas tulang juga merupakan aspek penting yang menentukan kekuatan tulang (Cooper, 1990). Baik kuantitas tulang maupun kualitas tulang dipengaruhi oleh suatu proses yang disebut dengan *bone remodeling* yang terjadi terus menerus sepanjang hidup (Jee, 1991).

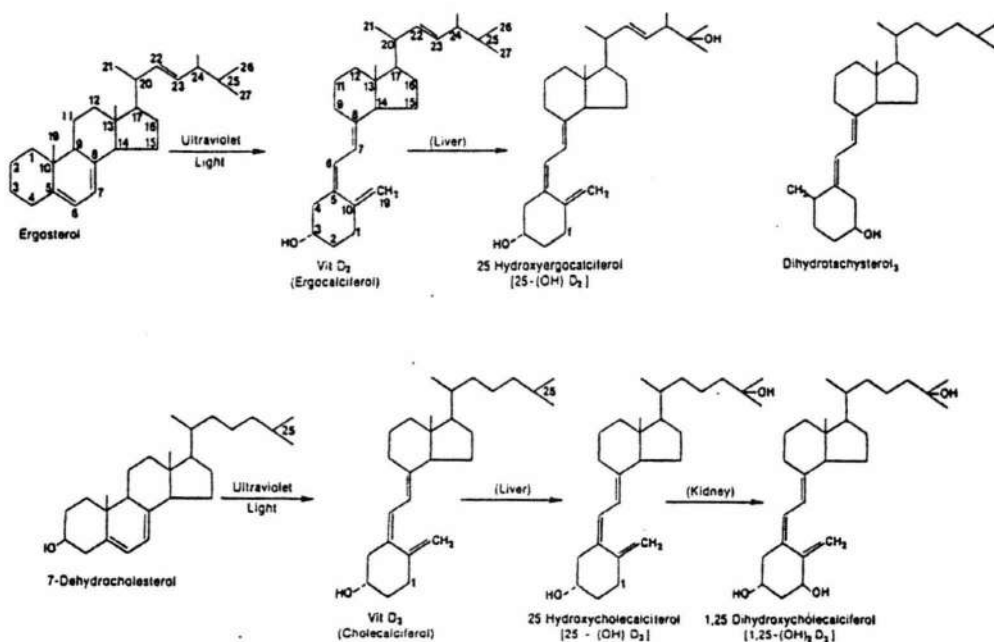
## 2.7 Metabolisme Vitamin D

Vitamin D<sub>3</sub> (kalsiferol) merupakan molekul steroid yang salah satu cincinnya terbuka (*secosteroid*). Ikatan antara C-9 dan C-10 pada cincin B terbuka dan menghasilkan suatu struktur *conjugated triene* (Aurbach, 1992).

Prekursor vitamin D<sub>2</sub> diproduksi oleh tumbuhan (disebut ergosterol), dan prekursor vitamin D<sub>3</sub> diproduksi oleh hewan (disebut 7-DHK). Prekursor vitamin D<sub>2</sub> dan D<sub>3</sub> memiliki perbedaan pada struktur cincin samping. Lanosterol adalah prekursor ergosterol dan 7-DHK. 7-DHK terdapat pada dermis dan epidermis manusia. Radiasi sinar ultraviolet B dengan panjang gelombang 230-313 nm dapat menembus kulit sampai pada bagian atas dermis yang mengakibatkan pembentukan sterol-sterol. Pigmen kulit dapat mempengaruhi efisiensi penetrasi sinar ultraviolet. Pemaparan ergosterol pada panas dan cahaya akan menghasilkan serangkaian reaksi yang serupa dengan reaksi pada 7-dehidrokolesterol. Vitamin

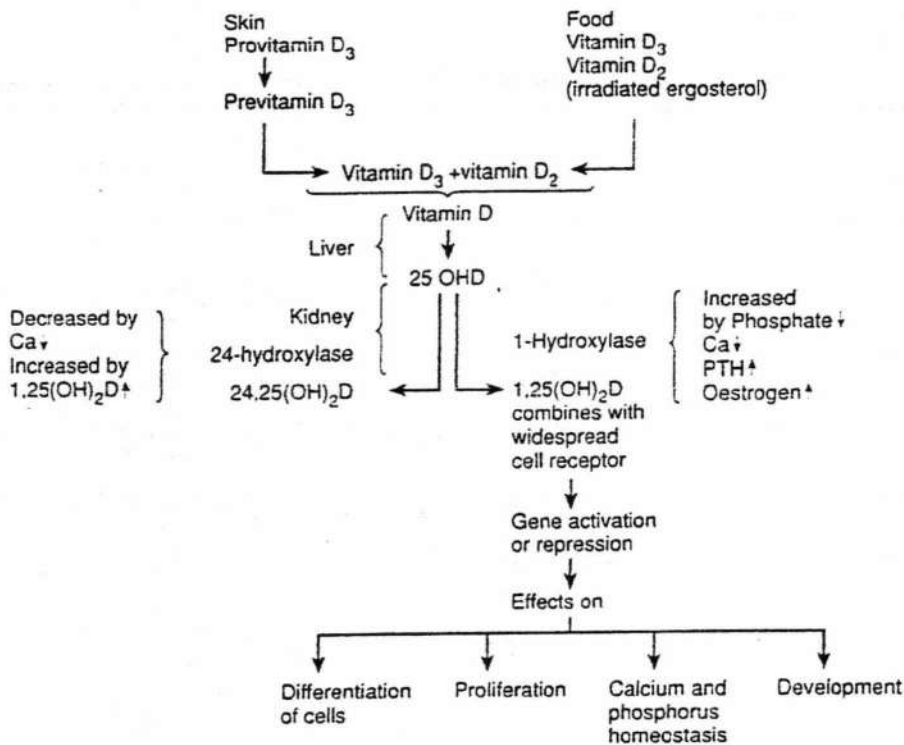
D2 maupun vitamin D3 dapat dimanfaatkan sebagai suplemen. Vitamin D2 dan vitamin D3 tampaknya memiliki sifat-sifat biologis yang identik pada manusia, dan kebutuhan vitamin D dapat dipenuhi dari sumber-sumber endogen maupun dari diet (Aurbach, 1992). Namun Trang dan kawan-kawan (1998) menyatakan bahwa asumsi vitamin D2 dan vitamin D3 memiliki nilai nutrisi yang sama perlu dikaji ulang karena dari penelitian yang dilakukannya menunjukkan bahwa vitamin D3 memiliki efikasi yang lebih besar daripada vitamin D2.

Langkah awal dari aktivasi vitamin D adalah berikatannya gugus hidroksil pada atom C-25 menghasilkan 25-hidroksi vitamin D (25-OH D3). 25-OH D3 secara *in vivo* bekerja lebih cepat daripada prekursornya, dan menunjukkan aktivitas intrinsik pada usus dan tulang secara *in vitro*. Hati merupakan tempat utama 25-hidroksilasi vitamin D pada manusia. Vitamin D 25-hidroksilase yang bekerja pada reaksi ini terdapat pada mikrosom dan mitokondria hati (Aurbach, 1992).



Gambar 2.4 Metabolisme vitamin D2 dan vitamin D3 (Albright, 1979).

25-OH D<sub>3</sub> selanjutnya bila mengalami hidroksilasi pada atom C-1 akan menghasilkan 1,25-dihidroksi vitamin D (1,25-(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>) yang merupakan metabolit vitamin D yang paling poten. Pada reaksi tersebut bekerja enzim 25-OH vitamin D 1 $\alpha$ -hidroksilase yang terdapat dalam tubulus kontortus proksimalis (Aurbach, 1992).



Gambar 2.5 Skema metabolisme vitamin D dan faktor-faktor yang mempengaruhinya (Smith, 1998)

## 2.8 Sumber Vitamin D

Vitamin D yang ada dalam tubuh manusia secara alamiah berasal dari dua sumber, yaitu secara langsung berasal dari diet, dan secara tidak langsung berasal dari hasil fotokonversi sinar ultraviolet B pada 7-DHK di kulit. Kebutuhan normal vitamin D adalah 400 unit per hari, yang pada sebagian besar negara terutama



berasal dari hasil fotokonversi oleh sinar ultraviolet (Apley, 1999). Vitamin D dapat diperoleh dari berbagai bahan makanan yang terdapat hampir di seluruh dunia seperti terlihat pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Sumber vitamin D

Bahan makanan	International Units
<i>Cod Liver Oil, 1 Tbs.</i>	1,360 IU
<i>Salmon, cooked, 3 1/2 oz</i>	360 IU
<i>Mackerel, cooked, 3 1/2 oz</i>	345 IU
<i>Sardines, canned in oil, drained, 3 1/2 oz</i>	270 IU
<i>Eel, cooked, 3 1/2 oz</i>	200 IU
<i>Milk, nonfat, reduced fat, and whole, vitamin D fortified, 1 c</i>	98 IU
<i>Margarine, fortified, 1 Tbs.</i>	60 IU
<i>Cereal grain bars, fortified w/ 10% of the DV, 1 each</i>	50 IU
<i>Pudding, 1/2 c prepared from mix and made with vitamin D fortified milk</i>	50 IU
<i>Dry cereal, Vit D fortified w/10%* of DV, 3/4 c* Other cereals may be fortified with more or less vitamin D</i>	40-50 IU
<i>Liver, beef, cooked, 3 1/2 oz</i>	30 IU
<i>Egg, 1 whole (vitamin D is present in the yolk)</i>	25 IU

Sumber : NIH, 2002

Konsumsi vitamin D melebihi 1000-5000 iu perhari dapat menyebabkan terjadinya intoksikasi (Calmeyn, 2002). Kadar vitamin D yang berlebihan akan menyebabkan penyerapan kalsium di usus, meningkatkan resorpsi tulang dan juga akan menurunkan kemampuan ginjal untuk mengkonsentrasi urine. Gejala yang tampak pada hipervitaminosis D antara lain rasa mengantuk, muntah, hipotonia generalisata (Pinto et al, 1998). Selain efek dari kelebihan vitamin D, efek karena

kadar kalsium yang berlebihann juga dapat terlihat pada hipervitaminosis D, antara lain abnormalitas irama jantung (NIH, 2002).

## 2.9 Pengaruh Vitamin D terhadap Kekuatan Tulang

Vitamin D dapat mempengaruhi kekuatan tulang melalui efeknya terhadap formasi tulang dan resorpsi tulang. Banyak teori yang berusaha menjelaskan efek vitamin D terhadap formasi tulang dan resorpsi tulang, akan tetapi hal yang perlu diingat adalah bahwa efek vitamin D terhadap resorpsi dan formasi tulang adalah tergantung pada *timing* dan dosis (Bikle, 1993). Selain itu, vitamin D juga saling berkaitan dengan hormon-hormon lain (misalnya PTH, kalsitonin) dalam mempengaruhi formasi tulang dan resorpsi tulang. Efek vitamin D pada formasi tulang terjadi melalui mekanisme:

### 1. Meningkatkan absorpsi kalsium dalam usus

Vitamin D telah diketahui memiliki pengaruh positif pada kekuatan tulang melalui efek tidak langsungnya dengan meningkatkan absorpsi kalsium dalam usus (Aurbach, 1992). Absorpsi kalsium dalam usus terjadi melalui beberapa tahap, yaitu penembusan *brush border*, perlekatan dengan *fixed cellular sites*, pergerakan intrasel, dan ekstrusi. Vitamin secara bermakna dapat meningkatkan absorpsi pada masing-masing tahap absorpsi tersebut (Bronner, 1991). Selanjutnya, kalsium yang terdapat dalam darah akan didistribusikan melalui sirkulasi hingga mencapai *bone-forming surface* (Bikle, 1993).

### 2. Efek pada oteoblas

Vitamin D memiliki efek anabolik langsung pada tulang. Pada suatu penelitian dengan menggunakan kultur *osteoblasts-like cells*, kalsiferol dapat

meningkatkan proliferasi, aktivitas *alkaline phosphatase*, dan sintesis dan sekresi osteokalsin (Aurbach, 1992) Pada penelitian lain yang menggunakan model hewan coba tikus diperoleh hasil bahwa vitamin D menstimulasi formasi tulang. Efek segera (*immediate effect*) vitamin D pada osteoblas secara langsung adalah menyebabkan peningkatan produksi matriks, yaitu dengan menstimulasi sintesis protein Gla melalui serangkaian reaksi transkripsi-translasi (Erben, 1997; Bronner, 1991). Vitamin D menyebabkan diferensiasi osteoblas, seperti halnya dapat menyebabkan diferensiasi osteoklas (Bikle, 1993). Pemberian vitamin D dosis tinggi dapat menstimulasi aktivitas osteoblas dan memberikan efek anabolik (Erben, 2002).

### 3. Efek pada lokasi remodeling

Vitamin D juga dikatakan merupakan hormon osteotrofik, seperti halnya hormon paratiroid (PTH), dan kalsitonin (Suda, 2002). Vitamin D dosis tinggi yang diberikan dalam jangka waktu pendek selain akan membentuk situs *remodeling* tulang cancellous, juga akan menstimulasi situs yang telah ada melalui efek langsung pada osteoblas yang terlibat dalam formasi tulang dan/atau melalui efek peningkatan suplai osteoblas baru dengan cara mendorong proliferasi dan diferensiasi sel-sel prekursor osteoblas di dalam sumsum tulang (Erben, 1997; Bronner, 1991). Pada penelitian dengan menggunakan model osteopenia pada tikus, pemberian vitamin D dalam dosis rendah dapat mencegah *bone loss* melalui efek *antiresorptive* (Erben, 2002).

## 2.10 Sinar Ultraviolet B

Sinar ultraviolet merupakan suatu bagian dari spektrum radiasi elektromagnetik non pengion (Alatas, 2003). Sinar ultraviolet merupakan suatu gelombang elektromagnetik karena memiliki panjang gelombang yang spesifik dalam spektrum elektromagnetik. Selain itu, radiasi yang dipancarkan melalui suatu gelombang elektromagnetik juga mengandung sekumpulan energi yang disebut dengan *photon*.

Gelombang, termasuk gelombang elektromagnetik, terdiri dari gerakan periodik (*oscillations*) yang berjalan melalui suatu medium atau melalui udara. Gelombang yang gerakannya perpendikular dengan arah propagasi-nya disebut sebagai *transverse wave*. Gelombang elektromagnetik merupakan suatu *transverse wave*. Radiasi elektromagnetik sebagai suatu gelombang dapat digambarkan dalam suatu rumus fisika :

$$v = c / \lambda \text{ atau } c = v \times \lambda$$

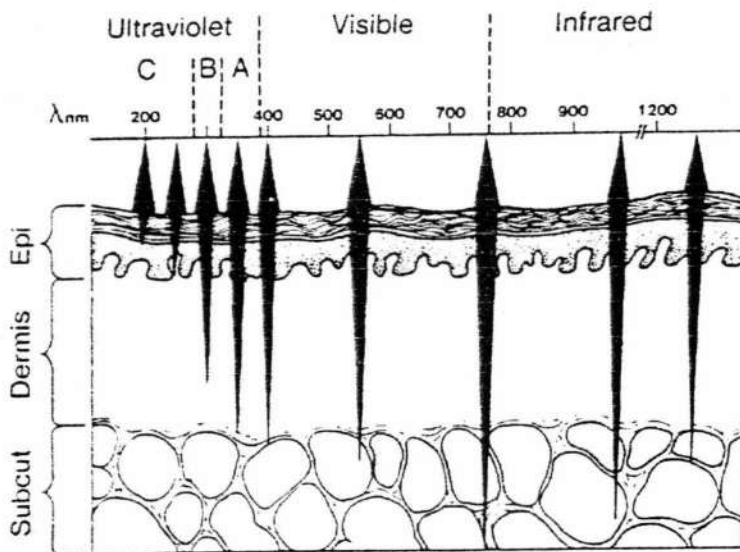
dimana  $v$  = frekuensi getaran osilasi per detik,  $c$  = kecepatan radiasi (kecepatan cahaya, yaitu  $3 \times 10^8$  meter per detik), dan  $\lambda$  = panjang gelombang dalam satuan meter (Kochevar, 1993). Berdasarkan panjang gelombangnya spektrum ultraviolet dibagi menjadi tiga: (Guenther, 2002).

- a. Ultraviolet A (UVA), merupakan ultraviolet dengan panjang gelombang panjang, antara 320-400 nm
- b. Ultraviolet B (UVB), merupakan ultraviolet dengan panjang gelombang medium, antara 290-320 nm.
- c. Ultraviolet C (UVC), merupakan ultraviolet dengan panjang gelombang pendek, antara 200-290 nm

Seperti telah dijelaskan di atas, selain gelombang elektromagnetik memiliki sifat *transverse wave*, gelombang elektromagnetik juga merupakan sekumpulan energi yang disebut sebagai *photon* atau *quanta*. Jumlah energi dalam suatu photon berbanding langsung dengan frekuensi radiasi dan berbanding terbalik dengan panjang gelombang radiasi, sebagaimana dijelaskan melalui persamaan dari Planck :

$$E = h\nu = hc/\lambda$$

dimana  $E$  = energi photon dalam satuan joule,  $h$  = konstanta Planck ( $6,625 \times 10^{-34}$  joule detik),  $\nu$  = frekuensi getaran osilasi per detik,  $c$  = kecepatan radiasi (kecepatan cahaya, yaitu  $3 \times 10^8$  meter per detik), dan  $\lambda$  = panjang gelombang dalam satuan meter. Dengan demikian, makin pendek panjang gelombang makin besar energi photon yang dihasilkan. Hampir semua reaksi fotokimia memerlukan energi photon minimal sebesar 40 kkal/mol. Jadi panjang gelombang lebih dari 750nm biasanya tidak menyebabkan reaksi fotokimia (Kochevar, 1993).



Gambar 2.6 Variasi penetrasi sinar ultraviolet, sinar tampak, dan sinar infra merah pada jaringan kulit (Kochevar, 1993).

Dibandingkan dengan spektrum ultraviolet lainnya, ultraviolet B kurang bersifat fotokimia, namun dapat menembus jaringan. Penyerapan ultraviolet B pada kulit dibatasi oleh lapisan basal epidermis. Radiasi ultraviolet B dapat menembus semua lapisan epidermis, hanya sekitar 10-15% dapat menjangkau bagian atas lapisan dermis (Alatas, 2003).

## **2.11 Efek Paparan Sinar Ultraviolet terhadap Tubuh**

Efek akibat paparan sinar ultraviolet pada tubuh sangat tergantung pada panjang gelombang yang berhubungan dengan daya tembus pada jaringan tubuh. Sinar ultraviolet A memiliki daya tembus ke dalam jaringan paling kuat, diikuti oleh ultraviolet B dan ultraviolet C memiliki daya tembus yang sangat kecil. Jumlah paparan yang diterima oleh jaringan juga tergantung pada intensitas sinar ultraviolet yang dipancarkan. Intensitas sinar ultraviolet yang dipancarkan matahari dipengaruhi beberapa faktor yang telah dijelaskan pada bagian sebelumnya. Efek paparan sinar ultraviolet pada jaringan juga bersifat kumulatif, paparan yang kronis akan memberi efek yang lebih berat dibandingkan dengan paparan yang akut (Alatas, 2003).

### **2.11.1 Efek pada tingkat molekuler**

Ikatan tunggal dan ganda molekul organik menyerap radiasi UV pada panjang gelombang 200-250 nm, dan molekul organik yang berbentuk cincin akan menyerap radiasi UV pada panjang gelombang 250-300 nm. Molekul protein mampu menyerap secara maksimum sinar UV pada panjang gelombang 280 nm dengan asam amino triptofan dan tirosin sebagai penyerap utama. Meskipun triptofan menyerap 10 kali lebih besar daripada sistein (pada panjang gelombang

254 nm), kerusakan protein lebih sering dimediasi oleh kerusakan sistein karena daya rusak terhadap sistein lebih besar.

DNA dapat menyerap sinar UV pada panjang gelombang 260 nm dengan kemampuan menyerap 10-20 kali lebih besar daripada protein. Meskipun penyerapan UVB oleh DNA pada panjang gelombang 300 nm jauh lebih kecil daripada UVC, paparan sinar matahari dapat menyebabkan kerusakan nyata pada DNA yang dapat menyebabkan kematian sel.

### **2.11.2 Efek pada kulit**

Seperti telah dijelaskan pada bagian sebelumnya, UVA memiliki daya tembus jaringan yang paling kuat dibandingkan UVB dan UVC. UVC diserap oleh stratum korneum dan lapisan stratum malphigi. UVC hanya memberi efek tidak langsung pada lapisan hidup epidermis (melanosit dan keratinosit), yang mampu menginduksi timbulnya eritema dan mampu mengubah fungsi imunitas sel langerhans sehingga mungkin terlibat dalam terjadinya kanker kulit.

Radiasi UVB dapat menembus semua lapisan epidermis, hanya sekitar 10-15 % dapat menjangkau bagian atas lapisan dermis. Efek paparan ini adalah eritema dan kanker kulit; panjang gelombang yang dapat menimbulkan efek akut paling parah berupa induksi luka bakar adalah 307 nm. Sedangkan radiasi UVA yang diserap lapisan epidermis hanya 50%, sisanya mampu menembus lapisan dermis sampai kedalaman 2 mm. Efek yang ditimbulkan adalah kanker kulit, penuaan dini dan juga pigmentasi kulit akibat peningkatan produksi pigmen melanin.

Efek akut yang terjadi dalam jangka pendek pada kulit antara lain:

1. Reaksi *sunburn* sebagai efek yang paling umum terjadi akibat pajanan sinar matahari. Perubahan yang terjadi tergantung pada jumlah radiasi, tingkat dan kualitas melanin dan ketebalan stratum korneum. Eritema atau memerahnya kulit adalah aspek visual dari respon sunburn; tertunda 2 - 4 jam setelah irradiasi, puncaknya pada 14 - 20 jam, secara normal terjadi selama 72 jam.
2. Respon umum lainnya terhadap radiasi UVB terutama pada mereka yang tidak membentuk tan (kecoklatan pada kulit) adalah hiperplasia yaitu penebalan akibat peningkatan jumlah lapisan sel stratum korneum. Ini secara nyata mereduksi penetrasi UVB ke lapisan basal yang berarti merupakan suatu sistem proteksi yang penting. Hiperplasia epidermis ini agaknya berperan penting dalam proses adaptasi terhadap pajanan UVB yang lebih tinggi.
3. Pigmentasi kulit  
Pigmentasi kulit merupakan proses adaptif sebagai konsekuensi langsung pajanan radiasi UV dengan dosis yang cukup. Peningkatan pigmentasi dapat teramati paling tidak dalam waktu 24 jam dan mencapai puncaknya pada hari ke 8. Pigmentasi tertunda ini akibat peningkatan produksi pigmen melanin dan pemindahannya pada sel keratinosit sekitar. Keratinosit yang terinduksi radiasi UVB menyebabkan peningkatan ketebalan epidermis sehingga meningkatkan pula kandungan melanin. Pajanan UVA tidak mengakibatkan peningkatan sel keratinosit yang berarti, peningkatan pigmentasi terjadi karena terstimulasinya melanogenesis secara langsung.
4. Efek imunitas  
Diketahui bahwa sinar UV dapat memodifikasi protein dan molekul organik dalam epidermis menjadi molekul terubah yang dikenali sebagai molekul



asing oleh sistem imun sehingga memacu respon imunitas pada kulit, seperti alergi matahari atau fotodermatitis. Radiasi UV mengganggu sistem imunitas seluler dengan merusak sel langerhans dan/atau menginduksi sitokin dari keratinosit dan/atau melalui makrofag yang muncul di epidermis setelah hilangnya sel langerhans. Paparan UV tidak hanya mencegah stimulasi reaksi sel T spesifik antigen, tetapi juga dapat melepaskan sel T supresor yang secara spesifik menghambat pembelahan sel T reaktif terhadap antigen spesifik. Sistem imunitas seluler tampaknya berperan penting dalam penolakan sel tumor kulit yang diinduksi oleh UV.

5. Sintesis vitamin D3 (dijelaskan pada bagian lain bab ini).

Paparan kronik radiasi UV menyebabkan gejala klinik yang dikenal sebagai efek penuaan. Terjadi terutama di bagian tubuh yang terpapar secara permanen, berhubungan dengan kekeringan kulit, keriput dan telangiectasia. Pigmentasi tidak teratur dan lentigo solar juga dijumpai. Secara histologis disebabkan oleh penipisan kulit, pengurangan ketebalan papillary dermis dan penggantian materi kolagen elastik normal dengan gumpalan elastotic yang kehilangan sifat elastisitasnya pada dermis normal. Perubahan ini biasanya berhubungan dengan kanker kulit non melanoma yaitu *Basal Cell Carcinoma* (BCC) dan *Squamous Cell Carcinoma* (SCC), dan *Cutaneous Malignant Melanoma* (CMM) sebagai efek kronik yang paling penting. CMM berasal dari sel pigmen, melanosit, merupakan jenis kanker kulit yang paling agresif, cepat bermetastasis dan mematikan. Sedangkan BCC dan SCC berasal dari keratinosit, tidak terlalu agresif tetapi tumbuh invasif. CMM umumnya terjadi di bagian

badan dan kaki terutama pada mereka yang secara berkesinambungan terpapar sinar matahari.

### **2.11.3 Efek pada mata**

Di mata, UVC dapat diserap seluruhnya oleh kornea. Radiasi UVB sebagian besar diserap kornea dan dapat mencapai lensa. UVA diserap secara kuat oleh lensa dan hanya sebagian kecil saja (< 1%) yang dapat mencapai retina. Efek akut radiasi UV pada mata adalah keratokonjungtivitis, yaitu radang akut konjungtiva dan kornea sebagai akibat reaksi fotokimia pada kornea (fotokeratitis) dan konjungtiva (fotokonjungtivitis) yang timbul beberapa jam setelah paparan UV dan umumnya hanya berlangsung selama 24 – 48 jam. Eritema pada kelopak mata dapat timbul beberapa jam setelah paparan akut UV dan biasanya berlangsung selama 8 – 72 jam tergantung lamanya paparan dan panjang gelombang UV. Paparan kronis sinar UV pada mata dapat menyebabkan terjadinya pterygium. Sedangkan paparan UV dengan panjang gelombang 290- 320 dapat menyebabkan terjadinya katarak (Alatas, 2003).

### **2.12 Reaksi Fotokimia pada Kulit**

Transmisi total ultraviolet B pada orang kulit hitam (berkulit gelap) kira-kira seperempat lebih sedikit daripada transmisi pada orang ras Kaukasian (Dillman, 1993). Energi photon dari gelombang elektromagnetik yang diabsorpsi oleh suatu molekul akan dikonversi menjadi energi kimia. Energi photon tersebut akan menyebabkan molekul tersebut tereksitasi (Kochevar, 1993). Eksitasi 7-DHK akan menyebabkan terjadinya pembukaan cincin sterol nomor dua (ikatan antara C9 dan C10) pada senyawa ini dan selanjutnya menghasilkan molekul

previtamin D3 (kolekalsiferol) (Aurbach, 1992). Reaksi ini terjadi di kulit, yaitu pada epidermis terutama pada lapisan malphigi dan lapisan basalis (Norris, 1993; MacLaughlin, 1992). Reaksi fotokonversi tersebut terjadi di dalam keratinosit (Dillman, 1993). Panjang gelombang ultraviolet yang optimal untuk reaksi tersebut adalah antara 295 dan 300 nm, dengan panjang gelombang maksimum 297 nm (Calmeyn, 2002).

### **2.13 Matahari Sebagai Sumber Sinar Ultraviolet**

Sumber ultraviolet alam adalah matahari (Alatas, 2003). Dari ketiga spektrum ultraviolet tersebut di atas, hanya ultraviolet A dan B yang dapat mencapai permukaan bumi. Karena seluruh spektrum ultraviolet C dan kira-kira 90% ultraviolet B disaring oleh lapisan ozon stratosfir maka ultraviolet C tidak dapat mencapai permukaan bumi dan hanya 10% ultraviolet B yang dapat mencapainya (Guenther, 2002). Jumlah radiasi ultraviolet yang dapat diserap tergantung pada intensitas matahari, maksimum terjadi pada pukul 11.00 – 15.00 saat matahari berada di posisi tertingginya. Intensitas matahari dipengaruhi oleh oleh ketinggian, karena berhubungan dengan ketebalan lapisan atmosfer, yang berfungsi sebagai penahan sinar ultraviolet. Refleksi sinar matahari dari salju dan tanah juga dapat meningkatkan intensitas radiasi (Alatas, 2003).

Belum diketahui secara pasti besarnya dosis sinar matahari yang setara dengan konsumsi vitamin D dalam dosis oral. Bila kulit manusia terpapar iradiasi ultraviolet dengan panjang gelombang 295 nm, lebih dari 65% 7-DHK dikonversi menjadi previtamin D3 (MacLaughlin, 1992). Kaplan dan kawan-kawan (1994) mengemukakan bahwa pemaparan sinar matahari secara langsung selama satu jam

pada seorang Kaukasian dapat menghasilkan 400 unit vitamin D<sub>3</sub>. Di lain pihak, Fitzpatrick (2000), mengatakan bahwa paparan sinar matahari selama kurang lebih 5-30 menit per hari dalam dua atau tiga kali seminggu selama musim panas pada lengan dan pada wajah (tanpa *sunscreen*) dapat memenuhi kebutuhan tubuh akan vitamin D.

Untuk sebagian besar lokasi yang terletak pada equator (42' LU dan 42' LS) cara yang paling fisiologis dan efektif untuk memenuhi kebutuhan vitamin D adalah dengan mensintesisnya secara endogen melalui fotokonversi 7-DHK dengan memanfaatkan sinar matahari. Faktor-faktor yang mempengaruhi fotokonversi :

1. *latitude* dan musim, keduanya mempengaruhi jumlah sinar ultraviolet yang mencapai kulit; pada musim dingin di wilayah dengan *latitude* lebih besar dari 42' sintesis endogen vitamin D tidak terjadi
2. pigmentasi kulit, orang kulit putih akan menyerap sinar ultraviolet enam kali lebih banyak dibandingkan orang berkulit gelap. Hal ini dapat terjadi karena kandungan *melanin epidermal* menentukan jumlah *photon* yang mencapai lapisan sel malphigi dimana terjadi sintesis vitamin D
3. cara berpakaian
4. pemakaian *sunscreen* (Fitzpatrick, 2000, Matsuoka, 1991)

#### **2.14 Sumber Sinar Ultraviolet Artifisial**

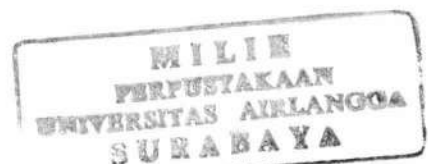
Sumber radiasi ultraviolet buatan manusia pada dasarnya terdiri dari tiga jenis yaitu incandescent, seperti lampu halogen, tungsten, lampu neon, lampu intensitas tinggi yang digunakan pada industri fotopolimerisasi, lampu germisidal

untuk sterilisasi dan lampu untuk pengelasan metal; dan laser ultraviolet seperti *excimer laser* (Alatas, 2003).

### 2.15 Lampu *GE Chroma 50*

Belum banyak literatur yang mendiskripsikan tentang profil lampu *GE Chroma 50* dan penggunaannya baik dalam penelitian maupun dalam kehidupan sehari-hari. *GE Chroma 50* merupakan jenis lampu *fluorescents full spectrum*, yaitu dapat memancarkan spektrum sinar yang visible, sinar ultraviolet A dan sinar ultraviolet B (Kaplan, 1996). Lampu *fluorescent* adalah suatu *enclosed glass envelope* yang mengandung mercury dengan elektrode pada kedua ujungnya. Aliran listrik yang mengalir melalui tube akan mengionisasi atom-atom mercury. Bila permukaan dalam tube dilapisi substansi fluoresen atau fosforesen maka akan terjadi pancaran sinar dengan panjang gelombang kira-kira 254 nm. Pancaran tersebut akan diabsorpsi oleh fosfor dan kemudian dipancarkan lagi dengan panjang gelombang yang lebih panjang (Kochevar, 1993).

Lampu *GE Chroma 50* merupakan suatu jenis lampu yang telah banyak digunakan sebagai sumber suplemen sinar ultraviolet untuk hewan-hewan peliharaan di rumah, misalnya Iguana. Lampu jenis ini dapat memancarkan sinar ultraviolet yang cukup untuk kebutuhan Iguana terhadap vitamin D bila ditempatkan pada ketinggian 46 cm di atas hewan tersebut, dan dipancarkan selama 12 jam per hari (Bernard, 1995). Lampu ini dapat diperoleh dengan cukup mudah dari distributor produk *General Electric*.



### 2.16 *Rattus norvegicus*

*Rattus norvegicus* merupakan spesies tikus yang telah banyak dimanfaatkan sebagai model hewan coba dalam berbagai penelitian karena mudah dipelihara dan cocok untuk berbagai macam penelitian (Malole et al, 1989). Beberapa sifat yang menguntungkan dari tikus ini antara lain : tikus jantan spesies ini jarang berkelahi seperti mencit jantan, dapat tinggal sendirian dalam kandang asal dapat melihat dan mendengar tikus lainnya.

Tikus ini harus ditempatkan dalam suatu kandang yang tidak padat karena pada kandang yang penuh berdesakan akan menyebabkan suhu tubuh tikus meningkat. Tikus hanya mempunyai kelenjar keringat di telapak kakinya dan bagian yang paling penting untuk mengurangi suhu tubuh adalah ekornya. Jadi pada keadaan kandang yang penuh berdesakan akan menyebabkan tikus tidak dapat mengurangi suhu tubuhnya dengan mekanisme tersebut, dan satu-satunya mekanisme perlindungan yang dapat dilakukan tikus adalah dengan mengeluarkan banyak ludah dan menutupi tubuhnya dengan ludah. Bila cara ini juga gagal maka tikus akan mati dalam beberapa menit karena hipertermi (Smith et al, 1988).

Kebutuhan makanan tikus ini dapat dipenuhi dengan pemberian makanan ayam petelur yang mudah diperoleh di toko makanan ayam. Tikus ini minum air yang cukup banyak, oleh karena itu harus selalu tersedia air minum. Tikus dewasa minum 20-45 ml air setiap harinya.

### 2.17 *DBM Sonic 1200*

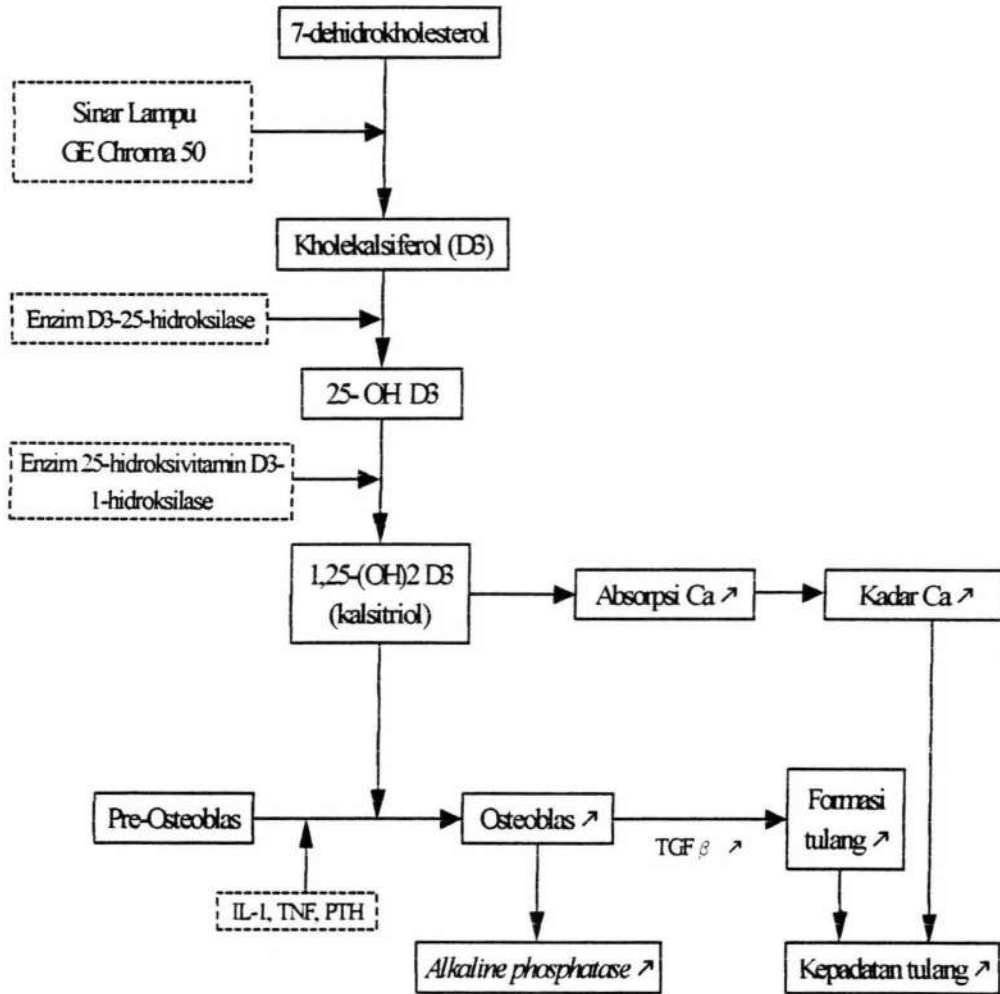
*DBM Sonic 1200* merupakan *bone profiler* yang telah digunakan dalam penelitian-penelitian yang mempelajari profil tulang, baik pada manusia maupun

pada model hewan coba (Sari, 2000; Arewus Gmbh, 2002). Alat ini digunakan untuk mengukur kepadatan tulang secara kuantitatif dengan menggunakan prinsip gelombang *ultrasound*. Makin padat suatu massa maka makin cepat gelombang *ultrasound* dirambatkan oleh massa tersebut. Kelebihan alat ini adalah praktis, mobil, dan relatif mudah dioperasikan. Namun alat ini memiliki beberapa kekurangan alat, yaitu : alat ini bukan merupakan *gold standard* untuk pemeriksaan kepadatan tulang, tidak semua pusat kesehatan/laboratorium memiliki alat ini, dan *operator dependent*.

## BAB 3

## KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

## 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 3.1. Skema kerangka konseptual penelitian

Sinar lampu *GE Chroma 50* yang mengandung ultraviolet B diharapkan dapat mengkonversi 7-dehidrokolesterol (DHK) menjadi kolekalsiferol (D3). Selanjutnya kolekalsiferol masuk ke dalam sirkulasi darah sistemik menuju hepar. Dalam sitosol sel hepar kolekalsiferol akan mengalami hidroksilasi oleh enzim



D3-25-hidroksilase menjadi 25-hidroksi D3 (25-OH D3). Setelah itu 25-OH D3 akan masuk ke dalam sirkulasi darah sistemik menuju ginjal. Dalam mitokondria ginjal 25-OH D3 akan mengalami hidroksilasi kedua oleh enzim 25-hidroksivitamin D3-1-hidroksilase menjadi 1,25-(OH)<sub>2</sub> D3. 1,25-(OH)<sub>2</sub> D3, IL-1, TNF, dan PTH akan meningkatkan maturasi pre-osteoblas menjadi osteoblas. Peningkatan osteoblas ditandai dengan peningkatan *alkaline phosphatase* dalam serum. Meningkatnya osteoblas akan meningkatkan TGF β yang akhirnya akan meningkatkan formasi tulang akan meningkat yang selanjutnya akan meningkatkan kepadatan tulang.

### 3.2 Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka dan kerangka konseptual yang telah diuraikan pada bagian sebelumnya, maka diajukan hipotesis sebagai berikut:

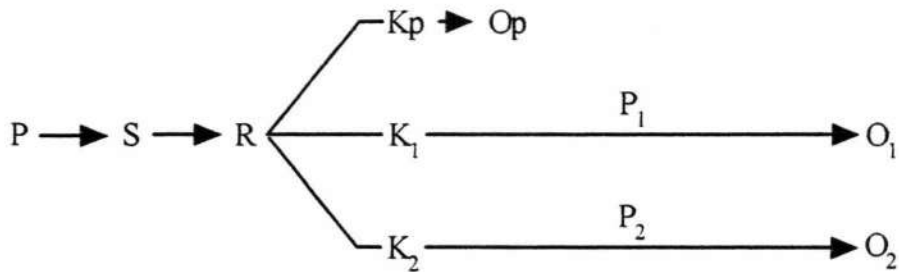
1. Paparan sinar ultraviolet lampu *GE Chroma 50* dapat meningkatkan kepadatan tulang.
2. Paparan sinar ultraviolet lampu *GE Chroma 50* dapat meningkatkan *alkaline phosphatase* dalam serum.

## BAB 4

## MATERI DAN METODE PENELITIAN

## 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini tergolong jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *The Separate-Sample Pretest-Posttest Control Group Design* (Campbell, 1963). Secara skematis rancangan tersebut dapat digambarkan sebagai berikut:



Keterangan :

P : populasi

S : sample

R : randomisasi

Kp : kelompok *pretest*

K<sub>1</sub> : kelompok perlakuan dengan pemaparan sinar *GE Chroma 50*

K<sub>2</sub> : kelompok kontrol *posttest*

Op : observasi kelompok *pretest*

P<sub>1</sub> : pemaparan sinar *GE Chroma 50*

P<sub>2</sub> : tanpa perlakuan

O<sub>1</sub> : observasi kelompok pemaparan sinar *GE Chroma 50*

O<sub>2</sub> : observasi kelompok kontrol *posttest*

## 4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

#### 4.2.1 Lokasi penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

#### 4.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam waktu 3 bulan.

### 4.3 Populasi dan Sampel

#### 4.3.1 Populasi

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih jantan galur Wistar.

Tikus yang dipilih memenuhi persyaratan sebagai berikut:

1. *Rattus norvegicus* strain Wistar
2. Umur sekitar 2 bulan
3. Berat badan sekitar 130-170 gram
4. Jenis kelamin jantan
5. Sehat, ditandai dengan gerakan yang aktif

#### 4.3.2 Sampel dan besar sampel

Sampel diambil dari populasi dengan cara *simple random sampling*. Besar sampel yang diperlukan dalam penelitian ini diperkirakan berdasarkan tingkat kemaknaan, dan *power*. Perkiraan besar sampel diperoleh dengan menggunakan rumus (Widodo, 1993):

$$n_1 = n_2 = n_3 = (Z\alpha + Z\beta)^2$$

Keterangan :

$n_1, n_2,$  dan  $n_3$ : perkiraan jumlah sampel masing-masing kelompok

$Z\alpha$  : simpang baku normal  $\alpha = 1,65$  ( $\alpha = 0,05$ )

$Z\beta$  : simpang baku normal  $\beta = 0,842$  (power = 80%)

Dari perhitungan dengan rumus di atas diperoleh perkiraan besar sampel masing-masing kelompok adalah 7. Karena penelitian ini dilakukan dalam jangka waktu yang relatif lama maka, untuk mengantisipasi kemungkinan terjadinya *drop out*, jumlah sampel masing-masing kelompok ditambah satu menjadi 8 ekor hewan coba. Jadi besar seluruh sampel adalah 24 ekor hewan coba. Sampel masing-masing kelompok ditentukan secara *simple random sampling*. Teknis pengambilan sampel dapat dilihat pada lampiran 1.

#### 4.4 Variabel Penelitian

Klasifikasi Variabel dalam penelitian ini adalah :

- a. Variabel bebas (independen)
  - Paparan sinar lampu *GE Chroma 50*
- b. Variabel tergantung (dependen)
  1. Kepadatan tulang
  2. *Alkaline phosphatase serum*
- c. Variabel kendali
  1. Jenis hewan coba
  2. Jenis kelamin hewan coba
  3. Kesehatan fisik hewan coba
  4. Waktu perlakuan
  5. Pemeliharaan dan perawatan hewan coba
- d. Variabel moderator
  1. Berat badan hewan coba

## 2. Umur hewan coba

### 4.5 Definisi operasional

#### 1. Paparan sinar lampu *GE Chroma 50*

Paparan sinar dua buah lampu *GE Chroma 50*, masing-masing dengan kekuatan 40 watt yang dipasang pada ketinggian 46 cm di atas hewan coba kelompok 1, setiap hari selama 100 hari mulai pukul 08.00 selama 12 jam dalam ruangan yang tidak terpapar sinar matahari secara langsung.

#### 2. Kepadatan tulang

Kepadatan jaringan tulang femur pada bagian metafisis yang diukur dengan alat *DBM sonic 2000* dengan satuan m/detik sesuai dengan cara yang telah ditentukan. Kepadatan tulang diukur pada akhir perlakuan.

#### 3. *Alkaline phosphatase*

*Alkaline phosphatase* diukur dari serum sampel darah yang diambil dari jantung.

#### 4. Jenis hewan coba

Jenis hewan coba adalah *Rattus norvegicus* strain *Wistar* dari UPT hewan Percobaan Universitas Gajahmada Yogyakarta.

#### 5. Jenis kelamin hewan coba

Jenis kelamin hewan coba adalah jantan. Penelitian ini menggunakan tikus jenis kelamin jantan untuk menghindari efek dari siklus estrous terhadap enzim 1-hidroksilase di ginjal (Erben, 1997; Smith, 1998).

#### 6. Kesehatan fisik hewan coba

Hewan coba dianggap dalam keadaan sehat fisik bila hewan coba menunjukkan gerakan aktif.

7. Waktu perlakuan

Perlakuan terhadap hewan coba dilakukan setiap hari selama 100 hari mulai pukul 08.00 selama 12 jam.

8. Pemeliharaan dan perawatan hewan coba

Selama penelitian, hewan coba dipelihara dan dirawat dalam kandang yang masing-masing kandang berisi 3 ekor hewan coba. Hewan coba mendapat minuman yang tersedia setiap saat. Hewan coba diberi makanan berupa pakan CP 524-2, yang diberikan dua kali sehari (pagi dan sore) dalam bentuk pelet kering sebanyak 200 gram. Bahan dasar dan komposisi pakan dapat dilihat pada lampiran 2.

9. Berat badan hewan coba

Berat badan hewan coba ditimbang dengan menggunakan timbangan *Torsion Balance CO (Torbal)* jenis PLI 2D buatan Jepang dalam satuan gram dengan ketelitian satu angka di belakang koma. Pengukuran berat badan hewan coba dilakukan pada awal bulan pertama perlakuan (BBI).

10. Umur hewan coba

Umur hewan coba adalah sekitar 2 bulan.

#### **4.6 Bahan dan Instrumen Penelitian**

##### **4.6.1 Bahan Penelitian**

1. Hewan coba : tikus putih *Rattus norvegicus* strain *Wistar*, jenis kelamin jantan, umur sekitar 2 bulan, berat 130-170 gram, dalam kondisi sehat fisik.
2. Bahan untuk Pemeriksaan
  - a. Ether anaestheticus untuk pembiusan
  - b. KY Jelly
  - c. Kapas atau tissue
  - d. *Disposable spuit*
  - e. Tabung penampung sampel darah

#### 4.6.2 Instrumen Penelitian

1. Kandang yang tertutup berukuran 30 x 40 cm yang terlindung dari cahaya matahari secara langsung.
2. Lampu *GE Chroma 50* sebanyak 2 buah dengan kekuatan masing-masing 40 watt untuk kandang hewan coba kelompok perlakuan.
3. Ultrasound DBM Sonic 1200
4. Timbangan *Torsion Balance CO (Torbal)* jenis PLI 2D.
5. Stoples untuk pembiusan
6. Jam (penghitung waktu).
7. Seperangkat alat-alat laboratorium untuk pengukuran *alkaline phosphatase serum*.

#### 4.7 Prosedur Penelitian

1. Aklimatisasi

Aklimatisasi hewan coba selama tujuh hari dalam kondisi laboratorium sebelum dilakukan perlakuan.

## 2. Pembagian kelompok hewan coba

Dilakukan randomisasi 24 ekor hewan coba, dibagi menjadi 3 kelompok hewan coba berdasarkan perlakuan yang diberikan, masing-masing terdiri atas 8 ekor hewan coba, yaitu :

### a. K<sub>p</sub> : kelompok *pretest*

Kelompok hewan coba ini tidak diberi perlakuan apapun dan diambil datanya sebagai data *pretest*, yaitu kepadatan tulang dan *alkaline phosphatase*.

### b. K<sub>1</sub> : kelompok paparan sinar lampu *GE Chroma 50*

Kelompok ini diberi paparan sinar dua buah lampu *GE Chroma 50*, masing-masing dengan kekuatan 40 watt yang dipasang pada ketinggian 46 cm di atas hewan coba kelompok ini, setiap hari selama 100 hari mulai pukul 08.00 bbwi selama 12 jam dalam ruangan yang tidak terpapar sinar matahari secara langsung.

### c. K<sub>2</sub> : kelompok kontrol *posttest*

Kelompok ini ditempatkan dalam kandang yang tidak mendapat paparan sinar matahari secara langsung setiap hari selama 100 hari mulai pukul 08.00 bbwi selama 12 jam.

## 3. Pelaksanaan perlakuan

Pada masing-masing kelompok hewan coba dilakukan perlakuan sesuai kelompok hewan coba.

## 4. Pembiusan



Pembiusan dilakukan dengan menggunakan ether anaesthetic sebelum melakukan pengukuran kepadatan tulang dan pengambilan sampel darah. Cara pembiusan dapat dilihat pada lampiran 5.

5. Pengukuran kepadatan tulang

Pengukuran kepadatan tulang dilakukan setelah tikus dalam keadaan terbius. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan alat *DBM Sonic 1200*. Prosedur pengukuran kepadatan tulang dapat dilihat pada lampiran 6.

6. Pengambilan sampel darah

Dengan menggunakan *disposable spuit* sampel darah diambil dari jantung setelah hewan coba dikorbankan dan ditampung dalam tabung penampung tanpa EDTA.

7. Pengukuran *alkaline phosphatase*

Pengukuran *alkaline phosphatase* dari sample darah dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya (Labkesda).

#### 4.8 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan *SPSS for Windows ver. 11.00*:

1. Statistik deskriptif.
2. Uji normalitas distribusi dengan *Uji Kosmogorov-Smirnov Z* ( $p > 0,05$ ).
3. Mengukur efek maturasi antara kelompok *separate sample pretest* dan kelompok kontrol *posttest* yang didapatkan dari selisih rerata kedua kelompok tersebut dengan  $p < 0,05$ .

4. Membandingkan kepadatan tulang dan *alkaline phosphatase* serum, antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol *posttest* dengan menggunakan uji manova.

## BAB 5

### ANALISIS HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Hasil Uji Statistik Deskriptif

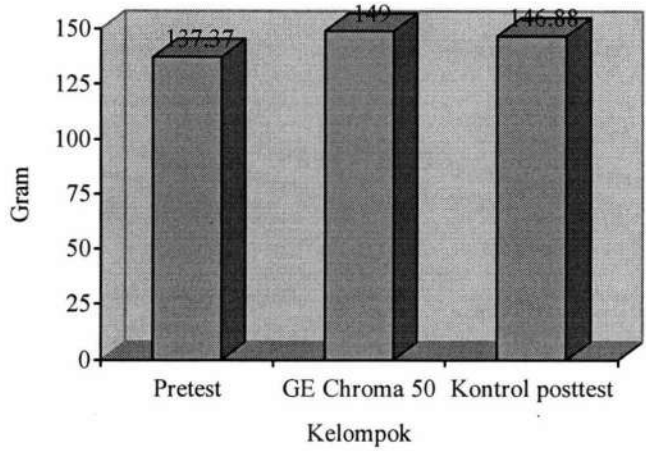
Data penelitian mencakup data variabel bebas, variabel tergantung dan variabel moderator yang diperoleh melalui pengukuran. Data tersebut dianalisis secara statistik deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan untuk menentukan perhitungan statistik yang sesuai. Data yang didapat dari hasil penelitian berupa berat badan hewan coba (gram), kepadatan tulang (m/detik), dan *alkaline phosphatase* serum ( $\mu$ /dl), yang dideskripsikan dan diuji dengan derajat signifikansi 5% dan diolah dengan program *SPSS for Windows ver. 11.00*.

Data variabel tergantung meliputi kepadatan tulang dan *alkaline phosphatase* serum. Data kepadatan tulang meliputi data kepadatan tulang kelompok *pretest* sebelum perlakuan, kepadatan tulang kelompok *GE Chroma 50* pada akhir perlakuan, dan kepadatan tulang kelompok kontrol pada akhir perlakuan. Data *alkaline phosphatase* serum meliputi data *alkaline phosphatase* serum kelompok *pretest* sebelum perlakuan, data *alkaline phosphatase* serum kelompok *GE Chroma 50* pada akhir perlakuan, dan data *alkaline phosphatase* serum kelompok kontrol pada akhir perlakuan. Variabel moderator yang juga dianalisis adalah berat badan awal hewan coba. Berat badan awal diukur untuk mengetahui apakah hewan coba memenuhi persyaratan dalam penelitian ini (lihat bab 4).

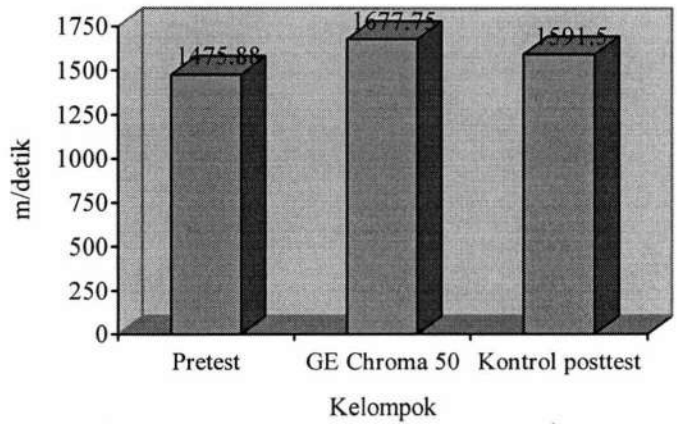
Pada tabel 5.1 diperoleh data bahwa rerata berat badan awal hewan coba pada semua kelompok perlakuan memenuhi persyaratan seperti yang disyaratkan pada bab 4; yaitu pada kelompok *pretest* 137,37 gram, pada kelompok *GE Chroma 50* 149 gram, dan pada kelompok kontrol *posttest* 146,88 gram. Rerata kepadatan tulang pada kelompok *pretest* adalah 1475,88 m/detik, pada kelompok *GE Chroma 50* adalah 1677,75 m/detik dan pada kelompok kontrol *posttest* adalah 1591,5 m/detik. Rerata kadar *alkaline phosphatase* serum pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut; pada kelompok *pretest* 98,25  $\mu$ /dl, pada kelompok *GE Chroma 50* 150  $\mu$ /dl, dan pada kelompok kontrol *posttest* adalah 101,25  $\mu$ /dl. Data mentah berat badan awal hewan coba, kepadatan tulang, dan *alkaline phosphatase* serum dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 5.1 Rerata dan simpang baku berat badan awal, kepadatan tulang, dan *alkaline phosphatase* menurut kelompok

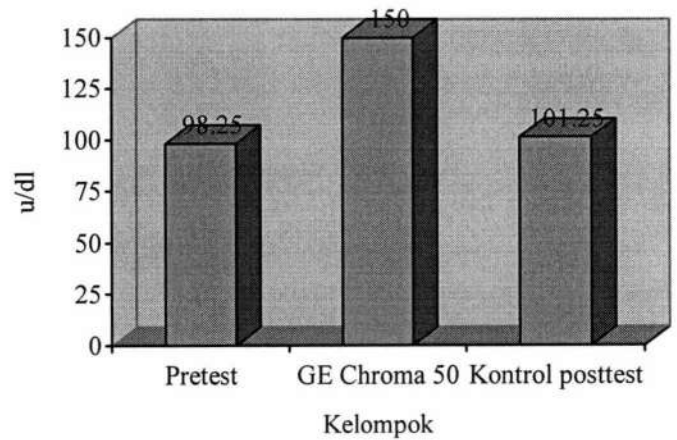
Kelompok		BB1 (gram)	Kepadatan tulang (m/detik)	<i>Alkaline phosphatase</i> ( $\mu$ /dl)
<i>Pretest</i>	Rerata	137.37	1475.88	98.25
	Simpang baku	8,12	28,69	4,17
	N	8	8	8
<i>GE Chroma 50</i>	Rerata	149	1677.75	150
	Simpang baku	10,27	63,64	22,15
	N	8	8	8
Kontrol <i>posttest</i>	Rerata	146.88	1591.5	101.25
	Simpang baku	9,83	18,35	3,49
	N	8	8	8



Gambar 5.1 Diagram batang berat badan awal hewan coba menurut kelompok



Gambar 5.2 Diagram batang kepadatan tulang menurut kelompok



Gambar 5.3 Diagram batang *alkaline phosphatase* serum menurut kelompok

## 5.2 Hasil Uji Normalitas

Sebelum melakukan analisis hasil penelitian dengan menggunakan suatu perhitungan statistik, normalitas distribusi data harus diketahui untuk menentukan perhitungan statistik yang sesuai. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan *Uji Kosmogorov-Smirnov Z*.

Hasil uji normalitas pada tabel 5.2 menunjukkan berat badan awal hewan coba, kepadatan tulang dan *alkaline phosphatase* serum pada semua kelompok berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ).

Tabel 5.2 Hasil uji distribusi data kelompok terhadap kepadatan tulang dan *alkaline phosphatase*

Kelompok	P BB1	p Kepadatan tulang	p <i>Alkaline phosphatase</i>
<i>Pretest</i>	0,759	0,459	0,581
<i>GE Chroma50</i>	0,429	0,719	0,707
Kontrol <i>posttest</i>	0,596	0,627	0,542

Uji normalitas juga dilakukan untuk mengetahui normalitas perubahan yang terjadi pada kepadatan tulang dan *alkaline phosphatase* serum. Hasil uji normalitas pada kelompok *GE Chroma 50* dan pada kelompok kontrol *Posttest* (tabel 5.3) menunjukkan bahwa perubahan yang terjadi berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ).

Tabel 5.3 Hasil uji distribusi data kelompok terhadap perubahan kepadatan tulang dan *alkaline phosphatase*

Kelompok	p Kepadatan tulang	p <i>Alkaline phosphatase</i>
<i>GE Chroma50</i>	0,719	0,707
Kontrol <i>posttest</i>	0,627	0,542

### 5.3 Efek Maturasi

Sebelum melakukan analisis perubahan kepadatan tulang, perlu diketahui besarnya maturasi yang terjadi selama perlakuan. Besarnya maturasi yang terjadi dihitung dari selisih antara nilai kepadatan tulang kelompok kontrol posttest dengan nilai kepadatan tulang kelompok *pretest*. Nilai kemaknaan maturasi pada variabel kepadatan tulang tersebut adalah  $p < 0,05$ . Pada tabel 5.4 tampak bahwa selama perlakuan, hewan coba mengalami efek maturasi pada kepadatan tulang

Tabel 5.4 Efek maturasi masing-masing variabel pada tiap kelompok

Variabel	Rerata		Maturasi	Sig
	<i>Pretest</i>	Kontrol <i>posttest</i>		
Kepadatan Tulang	1475,88	1591,50	115,63	0,00

### 5.4 Perubahan Variabel pada Tiap Kelompok (Uji Manova)

Tahap terakhir analisis data adalah menganalisis perubahan yang terjadi akibat perlakuan. Data yang terkumpul dianalisis dengan uji Manova dengan nilai kemaknaan  $p < 0,05$ .

Pada tabel 5.5 dapat dilihat tingkat kemaknaan perbedaan nilai variabel kepadatan tulang dan variabel *alkaline phosphatase* pada masing-masing kelompok pada akhir perlakuan. Tabel tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kepadatan tulang yang bermakna antara kelompok *pretest* dengan kelompok *GE Chroma 50* ( $p=0,000$ ) dan kelompok kontrol *posttest* ( $p=0,000$ ), juga antara kelompok *GE Chroma 50* dengan kelompok kontrol *posttest* ( $p=0,000$ ). Namun demikian perlu diperhatikan bahwa perbedaan kepadatan tulang antara kelompok *pretest* dengan kelompok kontrol *posttest* diakibatkan

oleh efek maturasi yang telah dijelaskan pada bagian sebelumnya. Sedangkan perbedaan antara kelompok *pretest* dengan kelompok *GE Chroma 50* diakibatkan oleh efek maturasi dan efek paparan sinar lampu *GE Chroma 50*.

Dari tabel juga tampak terdapat perbedaan bermakna nilai variabel *alkaline phosphatase* antara kelompok *pretest* dengan kelompok *GE Chroma 50* ( $p=0,000$ ) dan antara kelompok *GE Chroma 50* dengan kelompok kontrol *posttest* ( $p=0,000$ ). Namun antara kelompok *pretest* dengan kelompok kontrol *posttest* tidak terdapat perbedaan yang bermakna *alkaline phosphatase* ( $p=0,445$ ).

Tabel 5.5 Tingkat kemaknaan perbedaan antar kelompok

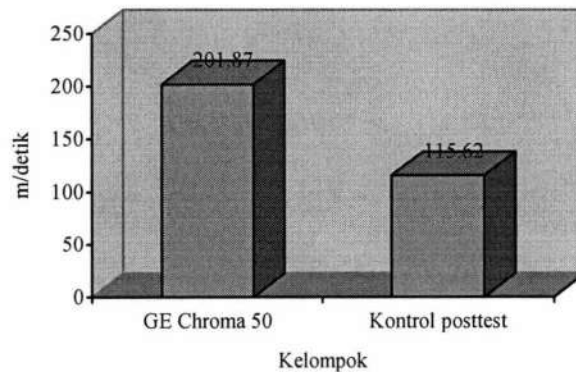
Variabel	Kelompok		Sig
Kepadatan tulang	<i>Pretest</i>	<i>GE Chroma 50</i>	0,000
		Kontrol <i>posttest</i>	0,000
	<i>GE Chroma 50</i>	Kontrol <i>posttest</i>	0,000
<i>Alkaline phosphatase</i>	<i>Pretest</i>	<i>GE Chroma 50</i>	0,000
		Kontrol <i>posttest</i>	0,445
	<i>GE Chroma 50</i>	Kontrol <i>posttest</i>	0,000

Pada tabel 5.6 dapat dilihat perubahan kepadatan tulang dan perubahan *alkaline phosphatase* serum pada kelompok *GE Chroma 50* dan kelompok kontrol *posttest*. Dari hasil perhitungan dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada perubahan kepadatan tulang antara kelompok *GE Chroma 50* ( $x=201,87$ ) dengan kelompok kontrol *posttest* ( $x=115,62$ ) dengan tingkat kemaknaan  $p=0,003$ . Pada variabel *alkaline phosphatase* juga terdapat perbedaan perubahan yang bermakna antara kelompok *GE Chroma 50* ( $x=51,75$ ) dengan kelompok kontrol *posttest* ( $x=3,00$ ) mengalami peningkatan akibat perlakuan.

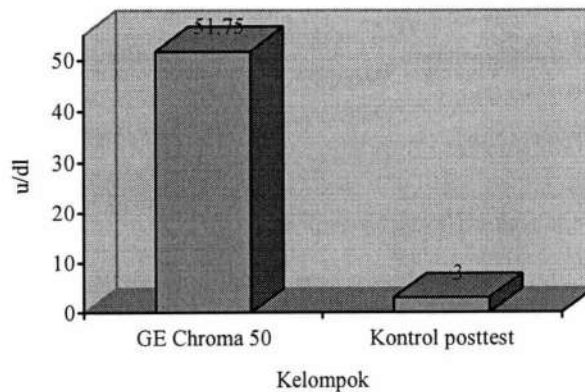


Tabel 5.6 Rerata dan simpang baku perubahan kepadatan dan perubahan *alkaline phosphatase* menurut kelompok

Variabel	Kelompok	N	Rerata	Simpang baku	Sig
Kepadatan tulang (m/detik)	<i>GE Chroma50</i>	8	201,87	63,64	0,003
	Kontrol <i>posttest</i>	8	115,62	18,35	
<i>Alkaline phosphatase</i> ( $\mu$ /dl)	<i>GE Chroma50</i>	8	51,75	22,15	0,000
	Kontrol <i>posttest</i>	8	3,00	3,49	



Gambar 5.4 Diagram batang perubahan kepadatan tulang menurut kelompok



Gambar 5.5 Diagram batang perubahan alkaline phosphatase serum menurut kelompok

Dengan uji diskriminan dapat diketahui variabel mana yang terlebih dahulu mengalami perubahan. Tabel 5.7 menunjukkan variabel *alkaline phosphatase*

mengalami perubahan terlebih dahulu (Wilk's Lambda : 0,270) sebelum kepadatan tulang mengalami perubahan (Wilk's Lambda : 0,149).

Tabel 5.7 Tabel diskriminan perubahan variabel

Variabel	Wilk's Lambda
Perubahan alkaline phosphatase	0,270
Perubahan kepadatan tulang	0,149

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pembahasan Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *The Separate-Sample Pretest-Posttest Control Group Design*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang memenuhi kriteria sebagai penelitian eksperimental murni (*true experimental*) yaitu adanya kriteria perlakuan, kelompok perlakuan, kelompok kontrol, dan randomisasi. Rancangan penelitian ini dipilih karena rancangan ini membutuhkan data pretest dari sampel darah hewan coba yang menyebabkan kematian hewan coba.

Perlakuan diberikan selama 3 bulan sesuai dengan lamanya satu siklus remodeling tulang yang meliputi proses formasi dan resorpsi tulang (Sari, 2001). Sumber sinar ultraviolet artifisial yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari dua buah lampu *GE Chroma 50* yang berkekuatan masing-masing 40 watt. Lampu *GE Chroma* memancarkan spektrum sinar tampak dan sinar ultraviolet, dimana proporsi pancaran sinar tampak lebih besar daripada pancaran sinar ultraviolet. Dengan menggunakan dua buah lampu yang berkekuatan masing-masing 40 watt diharapkan seluruh hewan coba yang berada dalam kandang memperoleh paparan sinar ultraviolet secara merata.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh paparan sinar lampu *GE Chroma 50* terhadap kepadatan tulang. Hal ini berkaitan erat dengan aktifitas metabolisme dalam tulang. Bagian tulang yang memiliki aktifitas

metabolik yang tinggi adalah pada tulang trabekular. Oleh karena itu pengukuran kepadatan tulang dilakukan pada metafisis tulang femur bagian proksimal hewan coba karena bagian tersebut memiliki proporsi tulang trabekular yang lebih tinggi dibandingkan dengan bagian lain pada femur. Selain itu, tulang femur bagian proksimal merupakan bagian tulang yang memiliki diameter terbesar yang paling aksesibel untuk diukur dengan alat *DBM Sonic 1200*. Tulang lain yang merupakan tulang trabekular adalah tulang vertebra, namun tidak aksesibel bila diukur dengan alat *DBM Sonic 1200*.

Data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis untuk mengetahui adanya perbedaan yang terjadi akibat perlakuan. Besarnya perubahan yang terjadi selama perlakuan merupakan gambaran besarnya efek yang ditimbulkan akibat perlakuan. Dengan uji diskriminan dapat diketahui efek mana yang terjadi terlebih dahulu, apakah peningkatan kepadatan tulang atau peningkatan kadar *alkaline phosphatase* serum.

## **6.2 Pengaruh Pemaparan Sinar Lampu *GE Chroma 50* Terhadap Peningkatan Kepadatan Tulang**

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mempelajari berbagai faktor yang dapat mempengaruhi kepadatan tulang. Namun belum banyak kepustakaan yang menyebutkan efek sinar ultraviolet yang berasal dari lampu, khususnya lampu *GE Chroma 50*, terhadap kepadatan tulang. Rachman (1999) telah melakukan penelitian tentang efek sinar ultraviolet dari lampu terhadap kera *Macaca fascicularis*. Dari penelitian tersebut terbukti bahwa sinar ultraviolet yang berasal dari lampu yang digunakan terbukti mampu meningkatkan aktifitas remodeling

tulang. Penelitian yang kami telah kami lakukan menggunakan lampu *GE Chroma 50* karena lampu ini relatif lebih murah dan lebih mudah diperoleh di Indonesia dibandingkan dengan lampu yang digunakan oleh Rachman.

Lampu *GE Chroma 50* merupakan jenis lampu *fluorescents full spectrum*, yang memancarkan spektrum sinar yang visible, sinar ultraviolet A dan sinar ultraviolet B (Kaplan, 1996). Pada penelitian ini, sinar ultraviolet B yang dipancarkan oleh lampu *GE Chroma 50* dimanfaatkan untuk meningkatkan kepadatan tulang melalui serangkaian proses biokimia yang terjadi di dalam tubuh hewan coba. Proses biokimia yang terlibat dalam peningkatan kepadatan tulang akibat pemaparan sinar lampu *GE Chroma 50* ini adalah metabolisme vitamin D. Namun demikian, referensi banyak menyebutkan bahwa sinar ultraviolet B memang berperan dalam metabolisme vitamin D.

Pada penelitian yang kami lakukan terbukti bahwa pemaparan sinar lampu *GE Chroma 50* meningkatkan kepadatan tulang pada hewan coba. Bernard (1995) mengatakan bahwa pemaparan sinar lampu *GE Chroma 50* selama 12 jam pada ketinggian 46 cm di atas Iguana dapat memenuhi kebutuhan sinar ultraviolet untuk metabolisme vitamin D. Teknis pemaparan tersebut kami terapkan dalam penelitian ini. Selama penelitian suhu kandang hewan coba relatif stabil dengan sirkulasi udara yang cukup, dan tidak tampak perbedaan aktifitas antara hewan coba kelompok perlakuan dan kelompok kontrol *posttest*.

Beberapa hal yang belum terukur dalam penelitian ini adalah variabel-variabel yang mewakili metabolisme vitamin D (misalnya kalsitriol) dan variabel remodeling tulang, yaitu aktifitas osteoblas. Dengan melakukan pemeriksaan kalsitriol dan aktifitas osteoblas, selain dapat membuktikan efek sinar lampu

terhadap peningkatan kepadatan tulang, juga dapat membuktikan bahwa peningkatan kepadatan tulang tersebut terjadi melalui jalur metabolisme vitamin D.

Data kepadatan tulang yang diambil dari tulang femur bagian proksimal merupakan data awal untuk mengkaji permasalahan yang belum terjawab dalam penelitian ini, yaitu; bagaimana efek sinar lampu ini terhadap kepadatan tulang vertebra, bagaimana korelasi antara kepadatan tulang femur bagian proksimal dengan kepadatan tulang vertebra. Permasalahan tersebut perlu dikaji lebih lanjut karena struktur tulang trabekular pada kedua tulang tersebut mengakibatkan kedua tulang tersebut paling banyak mengalami osteoporosis.

### **6.3 Pengaruh Pemaparan Sinar Lampu *GE Chroma 50* Terhadap Peningkatan *Alkaline Phosphatase* Serum**

Pengaruh pemaparan sinar lampu *GE Chroma 50* terhadap peningkatan *alkaline phosphatase* juga terjadi melalui metabolisme vitamin D. Kalsitriol berperan dalam maturasi pre-osteoblas menjadi osteoblas. Osteoblas memproduksi enzim *alkaline phosphatase*. Makin bertambahnya jumlah osteoblas maka *alkaline phosphatase* yang diproduksi juga akan meningkat. Peningkatan produksi *alkaline phosphatase* tersebut kami jadikan sebagai representasi jumlah osteoblas dalam penelitian ini.

*Alkaline phosphatase* telah dikenal sebagai petanda (marker) formasi tulang. Kadar ALP dari isoform hepar dan isoform tulang dalam total ALP serum kurang lebih ekuivalen pada tubuh orang normal (Jenkins, 2001). Bila terjadi gangguan di hepar ALP akan meningkat bersamaan dengan meningkatnya enzim

hepar lainnya, yaitu  $\gamma$ -glutamil transferase atau 5-nukleotidase. Pada tulang ALP disekresi oleh osteoblas. Peningkatan ALP serum sampai 4 kali lipat di atas nilai normal biasanya tidak disebabkan karena gangguan pada tulang. Bila terjadi peningkatan seperti itu maka penyebabnya adalah penyakit Paget yang parah, luas, dan aktif. Peningkatan kadar ALP serum sampai 2-3 kali di atas nilai normal terjadi pada keadaan hipoparatiroidisme. Pada keadaan osteoporosis, kadar ALP serum adalah normal. Tapi ALP akan meningkat bila osteoporosis disertai hipoparatiroidisme atau bila baru saja mengalami fraktur, atau bila terdapat juga kelainan hepar (Woolf, 1988).

Dari analisis data, terbukti bahwa pemaparan hewan coba dengan sinar lampu *GE Chroma 50* dapat meningkatkan kadar *alkaline phosphatase* dalam serum. Fakta tersebut merupakan data dasar untuk menjawab pertanyaan-pertanyaan lebih lanjut mengenai efek sinar lampu *GE Chroma 50* terhadap kadar *alkaline phosphatase* serum. Beberapa hal masih perlu dikaji lebih lanjut, antara lain; apakah peningkatan kadar tersebut berhubungan dengan lamanya pemaparan, bagaimana hubungan antara kalsitriol, jumlah osteoblas, dan kadar *alkaline phosphatase* selama pemaparan. Sejauh ini belum ada referensi yang dapat menjelaskan fenomena-fenomena tersebut.

#### **6.4 Keterbatasan Penelitian**

Hal penting yang dirasakan masih menjadi keterbatasan dalam penelitian ini adalah pengukuran variabel tergantung. Dalam penelitian ini variabel tergantung diukur dari kecepatan perambatan gelombang ultrasound dengan alat *DBM Sonic 1200* dan dengan mengukur kadar *alkaline phosphatase* dalam serum.

Meskipun *DBM Sonic 1200* dalam literatur dikatakan memiliki korelasi hasil pengukuran dengan hasil pengukuran dengan DEXA (*Dual Energy X-ray Absorptiometry*) namun pengukuran dengan *DBM Sonic 1200* memiliki beberapa kekurangan. Hasil pengukuran dengan *DBM Sonic 1200* tidak secara spesifik menunjukkan menggambarkan kepadatan tulang. Kepadatan tulang, seperti yang telah dijelaskan pada bagian sebelumnya (Bab 2), diukur dalam satuan  $\text{g/cm}^3$ , sedangkan dengan *DBM Sonic 1200* hasil pengukurannya memiliki satuan m/detik dan belum ada rumus konversi hasil *DBM Sonic 1200* dengan pengukuran lain. Idealnya, kepadatan tulang diukur dengan alat histomorfometer. Dengan histomorfometer berbagai profil kepadatan tulang dapat diukur dengan hasil yang bersifat kuantitatif. Oleh karena alat tersebut belum ada di Indonesia maka pengukuran dengan histomorfometer belum dapat dilakukan.

Dalam keadaan fisiologis alkaline phosphatase yang berada dalam serum merupakan produk dari sel tulang, namun demikian alkaline phosphatase serum juga diproduksi oleh sel hepar. Pemeriksaan biokimia yang lebih spesifik dapat menggambarkan aktivitas osteoblas adalah *bone specific alkaline phosphatase* atau osteokalsin. Keduanya merupakan petanda formasi tulang yang spesifik. Meskipun reagen untuk pemeriksaan biokimia tersebut dapat dipesan dari luar negeri, namun instrumen yang tersedia belum cukup lengkap untuk melakukan pemeriksaan biokimia tersebut.



## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

1. Paparan sinar ultraviolet lampu *GE Chroma 50* dapat meningkatkan kepadatan tulang.
2. Paparan sinar ultraviolet lampu *GE Chroma 50* dapat meningkatkan *alkaline phosphatase* dalam serum.

#### 7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan pengukuran secara histomorfometrik.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan hewan coba tikus betina.
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk membandingkan efek paparan sinar matahari dengan sinar lampu *GE Chroma 50*
4. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efek samping sinar lampu *GE Chroma 50* dibandingkan dengan efek samping sinar matahari.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alatas Z, Lusiyanti Y, 2003. Efek Kesehatan Radiasi Non Pengion pada Manusia. *Cermin Dunia Kedokteran* no. 138: 34-40.
- Albright JA, Cathrine H, Skinner W, 1979. Bone: Remodeling Dynamics. In (Albright JA, Brand RA, eds.) *The Scientific Basic of Orthopaedics*. New York: Appleton-Century-Crofts, pp 185-198.
- Albright JA, 1979. Calcium and Phosphorus Metabolism. In (Albright JA, Brand RA, eds.) *The Scientific Basic of Orthopaedics*. New York: Appleton-Century-Crofts, pp 260-265.
- Alexander S, 2003. Alkaline Phosphatases. <http://www.nottingham.ac.uk/~mqzspa/alkp.htm> Tanggal akses 24 September 2003.
- Anomymous, 2002. Alkaline Phosphatase. [http://www.drkaslow.com/html/alkaline\\_phosphatase.html](http://www.drkaslow.com/html/alkaline_phosphatase.html) Tanggal akses 24 September 2003.
- Apley G, Solomon L, 1999. *Apley's System of Orthopaedics and Fractures*. 7<sup>th</sup> ed. Oxford: Butterworth-Heinemann. Pp 107-120.
- Aurbach GD, Marx SJ, Spiegel AM, 1992. Parathyroid Hormone, Calcitonin, and the Calciferols. In (Wilson JD, Foster DW, eds.) *Williams Textbook of Endocrinology*. 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, pp 1420-1426.
- Bernard JB, 1995. Spectral Irradiance of Flourescent Lamps and Their Efficacy for Promoting Vitamin D Synthesis in Herbivorous Reptiles. Doctoral Dissertation, Michigan State University, East Lansing, MI.
- Bikle DD, 1993. Regulation of Bone Mineral Homeostasis: An Integral View. In (Favus MJ, ed.) *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 2nd Edition. New York: Lippincott-Raven, pp 76-80
- Bronner F, 1991. The Calcitropic Hormones: Parathyroid Hormone, Calcitonin, and Vitamin D. In (Bronner F, Worrel RV, eds.) *A Basic Science Primer in Orthopaedics*. Baltimore: Williams & Wilkins, pp 99-103.
- Calmeyn TJ. 2002. Vitamin D and UVB. <http://www.diethacker.com/photons/itduvb.html> Tanggal akses 17 Februari 2003.
- Campbell DT, Stanley JC, 1963. *Experimental and Quasi-Experimental Design for Research*. Chicago: Rand McNally College Publishing Co, p 55.

- Chuck A, Todd J, Diffey B, 2001. Subliminal Ultraviolet-B Irradiation for the Prevention of Vitamin D Deficiency in the Elderly: A Feasibility Study. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* ;17(4):168-71.
- Cooper C, 1990. Bone Mass Throughout Life: Bone Growth and Involution. In (Francis RM, ed.) *Osteoporosis Pathogenesis and Management*. London : Kluwer Academic Publisher, pp 1-20.
- Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA, Dallal GE, 1997. Effect of Calcium and Vitamin D Supplementation on Bone Density in Men and Women 65 Years of Age or Older. *N Engl J Med*, 337:670-6.
- Dempster DW, 1992. Bone Remodeling. In (Coe FL, Favus MJ, eds) *Disorders of Bone and Mineral Metabolism*. New York : Raven Press, pp 355-380.
- Dillman AM, 1993. Photobiology of Skin Pigmentation. In (Levine N, ed) *Pigmentation and Pigmentary Disorders* London : CRC Press, pp 62-68, 78.
- Dmitrenko O, Frederick JH, Reischl W, 1999. Previtamin D Conformations and Estimation on Their Role in the Wavelength Dependence of Previtamin D Photosynthesis in Vitro. <http://www.photobiology.com/photobiology99/contrib/olga/>. Tanggal akses 17 Februari 2003.
- Erben RG, Mosekilde L, Thomsen JS, Weber K, Stahr K, Leyshon A, Smith SY, Phipps R, 2002. Prevention of Bone Loss in Ovariectomized Rats by Combined Treatment with Risedronate and 1Alpha,25-Dihydroxyvitamin D3. *J Bone Miner Res* 17(8):1498-511.
- Erben RG, Scutt AM, Miao D, Kollenkirchen U, Haberey M., 1997. Short-term Treatment of Rats with High Dose 1,25-dihydroxyvitamin D3 Stimulates Bone Formation and Increases the Number of Osteoblast Precursor Cells in Bone Marrow. *Endocrinology*: 138(11):4629-35.
- Falkenbach A, 2001. Physical Exercise, Nutrition and Sunshine Exposure for the Prevention of Osteoporosis. *Forsch Komplementarmed Klass Naturheilkd*; 8(4):196-204.
- Fitzpatrick S, Sheard N, Clark N, Ritter M, 2000. Vitamin D-Deficient Rickets #58, a Multifactorial Disease (Nutrition Grand Rounds). *International Life Sciences Institute*, 58: 218-222.
- Garnero P, Delmas PD, 1999. Biochemical Markers of Bone Metabolism: Clinical Uses in Osteoporosis. [http://www.ectsoc.org/reviews/004\\_garn.htm](http://www.ectsoc.org/reviews/004_garn.htm) Tanggal akses 24 September 2003.
- Geusens P, Vanderscheuren D, Verstraeten A, Dequeker J, Devos P, Bouillon R, 1991. Short-term Course of 1,25(OH)2D3 Stimulates Osteoblasts but not Osteoclasts in Osteoporosis and Osteoarthritis. *Calcif Tissue Int* 49 : 168-73.

- Glerup H, Mikkelsen K, Poulsen L, Hass E, Overbeck S, et al, 2000. Commonly Recommended Daily Intake of Vitamin D is not Sufficient if Sunlight Exposure is Limited. *J Intern Med* ;247(2):260-8.
- Guenther L. 2001. Sunburn. <http://www.emedicine.com/pmr/topic182.htm>. Tanggal akses 10 Maret 2003
- Hollick MF, 1986. Vitamin D Requirements for the Elderly. *Clin Nutr* 5: 129-31.
- Jee WSS, 1991. Introduction to Skeletal Function: Structural and Metabolic Aspects. In (Bronner F, Worrel RV, eds.) *A Basic Science Primer in Orthopaedics*. Baltimore: Williams & Wilkins, pp 3-34
- Jenkins DK, 2001. Bone Alkaline Phosphatase, a Serum Bone Turnover Assay: Usefulness in Managing Postmenopausal Women Receiving Therapy to Prevent or Treat Osteoporosis. [http://www.quidel.com/Products/BoneHealth/Usefulness BAP In Managing Postmenopausal Women.pdf](http://www.quidel.com/Products/BoneHealth/Usefulness_BAP_In_Managing_Postmenopausal_Women.pdf) Tanggal akses 24 September 2003
- Jergas M, Genant HK, 1995. Quantitative Bone Mineral Analysis. In (Resnick D, ed.) *Diagnosis of Bone and Joint Disorders*, 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, pp 1856-1863.
- Kaplan FS, Hayes WC, Keaveny TM, Boskey A, Einhorn TA, et al., 1994. Form and Function of Bone. In (Simon SR, ed.) *Orthopaedic Basic Science*. Ohio: American Academy of Orthopaedic Surgeons. Pp 127-143, 164-166.
- Kaplan M, 1996. Reptile Lighting. <http://www.anapsid.org/uvtable.html>. Tanggal akses 2 April 2003.
- Kochevar IE, Pathak MA, Parrish JA, 1993. Photophysics, Photochemistry, and Photobiology. In (Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM Austen KF, eds) *Dermatology in General Medicine* 4<sup>th</sup> Ed. New York: McGraw-Hill, pp 1627-1637.
- Kochupillai N. Vitamin D Deficiency In North India. <http://www.nutritionfoundationofindia.org/ARCHIVES/APR-2K1B.HTM> Tanggal akses 2 April 2003.
- Lehmann B, Knuschke P, Meurer M, 2000. UVB-induced Conversion of 7-Dehydro- cholesterol to 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (Kalsitriol) in the Human Keratinocyte Line HaCaT. *Photochemistry and Photobiology* 72: 803.
- MacLaughlin JA, Anderson RR, Holick MF, 1992. Spectral Character of Sunlight Modulates Photosynthesis of Previtamin D<sub>3</sub> and Its Photoisomers in Human Skin. *Science* 216: pp. 1001-3.

- Malole MBM, Pramono CSR, 1989. Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium. Bogor : Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor, pp 104-112.
- Matsuoka LY, Wortsman J, Haddad JG, Kolm P, Hollis BW, 1991. Racial Pigmentation and the Cutaneous Synthesis of Vitamin D. *Arch Dermatol* 127: 536-538.
- National Institutes of Health (NIH), 2000. Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Consensus Development Conference Statement March 27-29, 2000. [http://odp.od.nih.gov/consensus/cons/111/111\\_statement.htm](http://odp.od.nih.gov/consensus/cons/111/111_statement.htm). Tanggal akses 20 Februari 2003.
- National Osteoporosis Foundation, 2002. <http://www.nof.org/welcome/index.htm> Tanggal akses 30 Maret 2003.
- Norman AW, Henry HL, 1993. Vitamin D: Metabolism and Mechanism of Action. In (Favus MJ, ed.) *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven Press, pp 63-69.
- Norris PG, Gange RW, Hawk JLM, 1993. Acute Effects of Ultraviolet Radiation on the Skin. In (Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM Austen KF, eds) *Dermatology in General Medicine* 4<sup>th</sup> Ed New York: McGraw-Hill, pp 1651.
- Ott S, 2000. Osteoporosis and Bone Physiology. <http://uwcme.org/courses/bonephys/opvitD.html> Tanggal akses 17 Februari 2003.
- Pinto RG, Essa AA, Nagdy KA, 1998. Hypervitaminosis D: Report on Three patients. *Annals of Saudi Medicine* 18(3):244-6.
- Power ML, Oftedal OT, Tardif SD, Allen ME, 1999. Vitamin D and Primates: Recurring Problems on a Familiar Theme. <http://nagonline.net/Proceedings/NAG1995/itamin%20D%20and%20Primates.pdf> Tanggal akses 24 September 2003.
- Rachman IA, 1999. Paparan Sinar Ultraviolet Beta terhadap Remodeling Tulang : Studi Eksperimen pada Macaca fascicularis yang Hipoestrogenik. Disertasi.
- Resnick D, 1995. *Diagnosis of Bone and Joint Disorders*. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia; WB Saundes Company, pp. 624-631, 633-634, 644-646.
- Rodan GA, Fleisch HA, 1996. Bisphosphonates: Mechanisms of Action. *J. Clin. Invest* 97 (12): 2692-2696.
- Rosen JR, Tenenhouse A, 1988. Biochemical Markers of Bone Turnover: A Look at laboratory Tests that Reflect Bone Status. *Postgraduate Medicine* 104 (4)

- Salter RB, 1999. Textbook of Disorders and Injuries of the Musculoskeletal System. Baltimore: The Williams and Wilkins Company, pp 11-14.
- Sari GM, 2001. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) Dibanding Estrogen Konjugasi terhadap Kepadatan Tulang Tikus Putih. Tesis di Universitas Airlangga.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S, 1988. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia, pp 36-57.
- Smith R, 1998. Bone in Health and Disease. In (Maddison PJ, Isenberg DA, Woo P, Glass DN, eds.) Oxford Textbook of Rheumatology. 2<sup>nd</sup> ed. New York : Oxford University Press, pp 421-432.
- Suda T, 2002. How is Bone Formed and Resorbed?-- Molecular Mechanisms of Bone Formation and Resorption. *Rinsho Byori* 50(3):267-72.
- Trang HM, Cole DEC, Rubin LA, Pierratos A, Siu S, et al., 1998. Evidence that Vitamin D3 Increases Serum 25-hydroxy vitamin D more Efficiently than does Vitamin D2. *Am J Clin Nutr* 68: 854-8.
- Vieth R, 1999. Vitamin D Supplementation, 25-hydroxyvitamin D Concentrations, and Safety. *Am J Clin Nutr* 69: 842-56.
- Vitamin D. 2002. <http://www.cc.nih.gov/ccc/supplements/vitd.html#sun>. Tanggal akses 2 April 2003.
- Whipple T, Sharkey N, Demers L, Williams N, 2002. Leptin and the skeleton. *Clinical Endocrinology* 57: 701-711
- Widodo JP, Poernomo H, Machfoed MH, 1993. Metode Penelitian dan Statistik Terapan. Surabaya : Airlangga University Press, pp 57-58.
- Woolf A.D., Dixon StJD, 1988. Osteoporosis: A Clinical Guide. London: Martin Dunitz, pp 1-8, 19-21.
- World Health Organization, 2000. Potential New Drug Treatment for Osteoporosis. Bulletin of the World Health Organization <http://www.who.int/docstore/bulletin/news/2000/vol.78no.1/osteoporosis.htm>. Tanggal akses 30 Maret 2003.
- Yuliati, Setyawan S, Liben P, 2002. Pemberian Tambahan Kalsium terhadap Pertumbuhan Tulang Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus strain Wistar*). *Majalah Ilmu Faal Indonesia* 1: 40-47.

## Lampiran 1

### TEKNIS PENGAMBILAN SAMPEL

1. Pengambilan Sampel dari Populasi secara *Simple Random Sampling*
  - a. Secara acak, setiap tikus diberi nomor 1 sampai 40
  - b. Ditulis angka 1 sampai 40 di atas 40 lembar kertas
  - c. Secara acak (tanpa melihat angka yang tertulis di atas kertas), diambil 24 lembar kertas.
  - d. Angka yang terdapat di atas 24 lembar kertas tersebut adalah nomor hewan coba yang akan digunakan dalam penelitian
2. Penentuan Sampel pada Kelompok Perlakuan
  - a. Ditulis huruf A, B, dan C di atas tiga lembar kertas
  - b. Ketiga lembar kertas tersebut kemudian secara acak dimasukkan ke dalam tiga buah amplop
  - c. Memasukkan 24 lembar kertas (lihat poin 1.d) ke dalam ketiga amplop (2.b) hingga masing-masing amplop terisi 8 kertas nomor hewan coba. Cara pengisian amplop adalah secara berurutan diisi dengan satu lembar kertas nomor hewan coba.
  - d. Nomor hewan coba yang terdapat pada masing-masing amplop adalah nomor hewan coba pada masing-masing kelompok perlakuan.
3. Penentuan Kelompok Perlakuan
  - a. Dari amplop A, B, dan C ditentukan kelompok perlakuan ( $K_p$ ,  $K_1$ , dan  $K_2$ )
  - b. Memasukkan tiga lembar kertas yang bertuliskan  $K_p$ ,  $K_1$ , dan  $K_2$  ke dalam amplop A, B, dan C secara acak

**Lampiran 2****KOMPOSISI PAKAN (CP 524-2 )**

Pakan dibuat dari bahan dasar jagung, dedak, tepung ikan, bungkil kedelai, bungkil kelapa, tepung daging dan tulang, pecahan gandum, bungkil kacang tanah, canola, tepung daun. Komposisi pakan adalah sebagai berikut :

Kadar air	13,0%
Protein	17,0 – 18,0%
Lemak	3,0%
Serat	6,0%
Abu	12,0%
Calcium	3,60%
Fosfor	0,60%



**Lampiran 3****PROSEDUR PEMBIUSAN**

1. Persiapan alat dan bahan
  - a. Ether anaestheticus
  - b. Stoples pembiusan
  - c. Kapas
2. Cara pembiusan
  - a. Membasahi kapas dengan ether anaestheticus secukupnya
  - b. Meletakkan kapas ether ke dalam stoples pembiusan
  - c. Meletakkan tikus ke dalam stoples selama kira-kira tiga menit atau sampai tikus terbius, yaitu ditandai dengan menutupnya kelopak mata tikus dan melemahnya gerakan

**Lampiran 4****PROSEDUR PEMERIKSAAN KEPADATAN TULANG**

1. Persiapan alat
  - a. Menghubungkan semua kabel pada tempatnya.
  - b. Menghubungkan kabel listrik ke sumber listrik.
  - c. Menyalakan alat.
2. Kalibrasi
  - a. Melakukan kalibrasi alat dengan balok kalibrasi
  - b. Mengikuti petunjuk yang terdapat pada layar monitor
3. Pengukuran ketebalan jaringan lunak
  - a. Mencukur bulu tikus pada bagian paha.
  - b. Mengoleskan jelly pada permukaan kulit
  - c. Mengukur ketebalan kulit dengan menggunakan *probe*.
4. Pengukuran kepadatan tulang
  - a. Mengoleskan jelly pada permukaan kulit yang telah dicukur pada bagian paha.
  - b. Menempatkan probe pada bagian metafisis femur distal.
  - c. Mengukur kepadatan tulang dengan menggunakan *probe*.
  - d. Pengukuran dilakukan empat kali dan diambil rata-ratanya.

**Lampiran 5****DATA ASLI HASIL PENELITIAN****Tabel 1. Data Penelitian Kelompok *Separate Pretest***

No	BB1	Kepadatan tulang	Alkaline phosphatase
1	133	1453	102
2	155	1485	96
3	137	1468	94
4	143	1512	98
5	130	1521	104
6	132	1443	94
7	134	1475	95
8	135	1450	103

**Tabel 2. Data Penelitian Kelompok *Perlakuan***

No	BB1	Kepadatan tulang	Alkaline phosphatase
1	137	1618	134
2	158	1737	132
3	147	1791	137
4	153	1672	159
5	143	1633	200
6	164	1715	140
7	135	1634	150
8	155	1622	148

**Tabel 3. Data Penelitian Kelompok *Kontrol Posttest***

No	BB1	Kepadatan tulang	Alkaline phosphatase
1	149	1615	104
2	150	1573	99
3	149	1602	100
4	142	1596	103
5	136	1590	106
6	162	1597	96
7	132	1557	98
8	155	1602	104

**Tabel 4. Rerata dan simpang baku berat badan, kepadatan tulang, dan alkali fosfatase menurut kelompok**

## Report

KELOMPOK		BERAT BADAN	KEPADATAN TULANG	ALKALI FOSFATASE
PRETEST	RERATA	137,37	1475,88	98,25
	SIM. BAKU	8,12	28,69	4,17
	N	8	8	8
ULTRA VIOLET	RERATA	149,00	1677,75	150,00
	SIM. BAKU	10,27	63,64	22,15
	N	8	8	8
KONTROL	RERATA	146,88	1591,50	101,25
	SIM. BAKU	9,83	18,35	3,49
	N	8	8	8

**Tabel 5. Rerata dan simpang baku perubahan kepadatan dan perubahan alkali fosfatase menurut kelompok**

## Report

KELOMPOK		PERUB KEPADATAN	PERUB ALKALI FOS
ULTRA VIOLET	RERATA	201,8700	51,7500
	SIM. BAKU	63,6413	22,1488
	N	8	8
KONTROL	RERATA	115,6200	3,0000
	SIM. BAKU	18,3537	3,4949
	N	8	8

**Tabel 6. NPar Tests untuk uji normalitas distribusi Kelompok pretest**

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BERAT BADAN	KEPADATAN TULANG	ALKALI FOSFATASE
N		8	8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	137,38	1475,88	98,25
	Std. Deviation	8,12	28,69	4,17
Most Extreme Differences	Absolute	,268	,162	,205
	Positive	,268	,162	,205
	Negative	-,182	-,146	-,191
Kolmogorov-Smirnov Z		,759	,459	,581
Asymp. Sig. (2-tailed)		,612	,984	,888

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = PRETEST

**Tabel 7. NPar Tests untuk uji normalitas distribusi Kelompok ultraviolet****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		BERAT BADAN	KEPADATAN TULANG	ALKALI FOSFATASE
N		8	8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	149,00	1677,75	150,00
	Std. Deviation	10,27	63,64	22,15
Most Extreme Differences	Absolute	,152	,254	,250
	Positive	,129	,254	,250
	Negative	-,152	-,174	-,208
Kolmogorov-Smirnov Z		,429	,719	,707
Asymp. Sig. (2-tailed)		,993	,680	,699

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = ULTRA VIOLET

**Tabel 8. NPar Tests untuk uji normalitas distribusi Kelompok Kontrol****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		BERAT BADAN	KEPADATAN TULANG	ALKALI FOSFATASE
N		8	8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	146,88	1591,50	101,25
	Std. Deviation	9,83	18,35	3,49
Most Extreme Differences	Absolute	,211	,222	,192
	Positive	,125	,159	,140
	Negative	-,211	-,222	-,192
Kolmogorov-Smirnov Z		,596	,627	,542
Asymp. Sig. (2-tailed)		,870	,826	,930

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = KONTROL

**Tabel 9. NPar Tests untuk uji normalitas distribusi perubahan Kelompok ultraviolet****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		PERUB KEPADATAN	PERUB ALKALI FOS
N		8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	201,8700	51,7500
	Std. Deviation	63,6413	22,1488
Most Extreme Differences	Absolute	,254	,250
	Positive	,254	,250
	Negative	-,174	-,208
Kolmogorov-Smirnov Z		,719	,707
Asymp. Sig. (2-tailed)		,680	,699

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = ULTRA VIOLET

**Tabel 10. NPar Tests untuk uji normalitas distribusi perubahan Kelompok kontrol****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		PERUB KEPADATAN	PERUB ALKALI FOS
N		8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	115,6200	3,0000
	Std. Deviation	18,3537	3,4949
Most Extreme Differences	Absolute	,222	,192
	Positive	,159	,140
	Negative	-,222	-,192
Kolmogorov-Smirnov Z		,627	,542
Asymp. Sig. (2-tailed)		,826	,930

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = KONTROL

**Tabel 11. Tabel General Linear Model****Descriptive Statistics**

KELOMPOK		Mean	Std. Deviation	N
KEPADATAN TULANG	PRETEST	1475,88	28,69	8
	ULTRA VIOLET	1677,75	63,64	8
	KONTROL	1591,50	18,35	8
	Total	1581,71	93,40	24
ALKALI FOSFATASE	PRETEST	98,25	4,17	8
	ULTRA VIOLET	150,00	22,15	8
	KONTROL	101,25	3,49	8
	Total	116,50	27,30	24

**Tabel 12. Tests of Between-Subjects Effects Variabel****Tests of Between-Subjects Effects**

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	KEPADATAN TULANG	169525,335 <sup>a</sup>	3	56508,445	36,329	,000
	ALKALI FOSFATASE	13646,249 <sup>b</sup>	3	4548,750	26,010	,000
Intercept	KEPADATAN TULANG	160405,527	1	160405,527	103,123	,000
	ALKALI FOSFATASE	2192,872	1	2192,872	12,539	,002
BB1	KEPADATAN TULANG	5360,752	1	5360,752	3,446	,078
	ALKALI FOSFATASE	143,249	1	143,249	,819	,376
KEL	KEPADATAN TULANG	103228,142	2	51614,071	33,182	,000
	ALKALI FOSFATASE	12815,734	2	6407,867	36,640	,000
Error	KEPADATAN TULANG	31109,623	20	1555,481		
	ALKALI FOSFATASE	3497,751	20	174,888		
Total	KEPADATAN TULANG	60243865.0	24			
	ALKALI FOSFATASE	342878,000	24			
Corrected Total	KEPADATAN TULANG	200634,958	23			
	ALKALI FOSFATASE	17144,000	23			

a. R Squared = ,845 (Adjusted R Squared = ,822)

b. R Squared = ,796 (Adjusted R Squared = ,765)

**Tabel 13. Estimated Marginal Means Variabel****Pairwise Comparisons**

Dependent Variable	(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. <sup>a</sup>
KEPADATAN TULANG	PRETEST	ULTRA VIOLET	-182,228	22,380	,000
		KONTROL	-99,569	21,533	,000
	ULTRA VIOLET	KONTROL	82,659	19,814	,000
ALKALI FOSFATASE	PRETEST	ULTRA VIOLET	-54,962	7,504	,000
		KONTROL	-5,625	7,220	,445
	ULTRA VIOLET	KONTROL	49,337	6,644	,000

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

**Tabel 14. Tests of Between-Subjects Effects Perubahan Variabel**

**Tests of Between-Subjects Effects**

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	PERUB KEPADATAN	35283,531 <sup>a</sup>	2	17641,766	9,107	,003
	PERUB ALKALI FOS	9644,798 <sup>b</sup>	2	4822,399	18,542	,000
Intercept	PERUB KEPADATAN	1150,192	1	1150,192	,594	,455
	PERUB ALKALI FOS	349,440	1	349,440	1,344	,267
BB1	PERUB KEPADATAN	5527,281	1	5527,281	2,853	,115
	PERUB ALKALI FOS	138,548	1	138,548	,533	,478
KEL	PERUB KEPADATAN	26589,326	1	26589,326	13,726	,003
	PERUB ALKALI FOS	9644,236	1	9644,236	37,083	,000
Error	PERUB KEPADATAN	25182,219	13	1937,094		
	PERUB ALKALI FOS	3380,952	13	260,073		
Total	PERUB KEPADATAN	463665,350	16			
	PERUB ALKALI FOS	25016,000	16			
Corrected Total	PERUB KEPADATAN	60465,750	15			
	PERUB ALKALI FOS	13025,750	15			

a. R Squared = ,584 (Adjusted R Squared = ,519)

b. R Squared = ,740 (Adjusted R Squared = ,701)

**Tabel 15. Estimated Marginal Means Perubahan Variabel**

**Pairwise Comparisons**

Dependent Variable	(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. <sup>a</sup>
PERUB KEPADATAN	ULTRA VIOLET	KONTROL	82,050	22,146	,003
PERUB ALKALI FOS	ULTRA VIOLET	KONTROL	49,415	8,115	,000

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

**Tabel 16. Hasil Uji Diskriminan**

**Variables Entered/Removed**

Step	Entered	Wilks' Lambda							
		Statistic	df1	df2	df3	Exact F			
						Statistic	df1	df2	Sig.
1	PERUB ALKALI FOS	,270	1	1	14	37,814	1	14.0	,000
2	PERUB KEPADATAN	,149	2	1	14	37,091	2	13.0	,000

At each step, the variable that minimizes the overall Wilks' Lambda is entered.



**Lampiran 6****DOKUMENTASI**

Foto 1. Kandang tikus; kelompok perlakuan.



Foto 2. Kandang tikus ; kelompok kontrol posttest

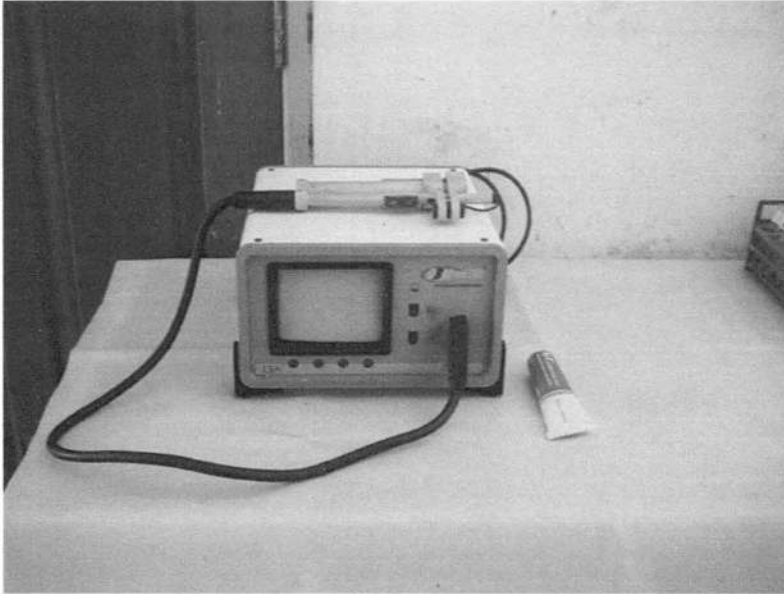


Foto 3. DBM Sonic 1200



Foto 4. Pengambilan sampel darah dari jantung.

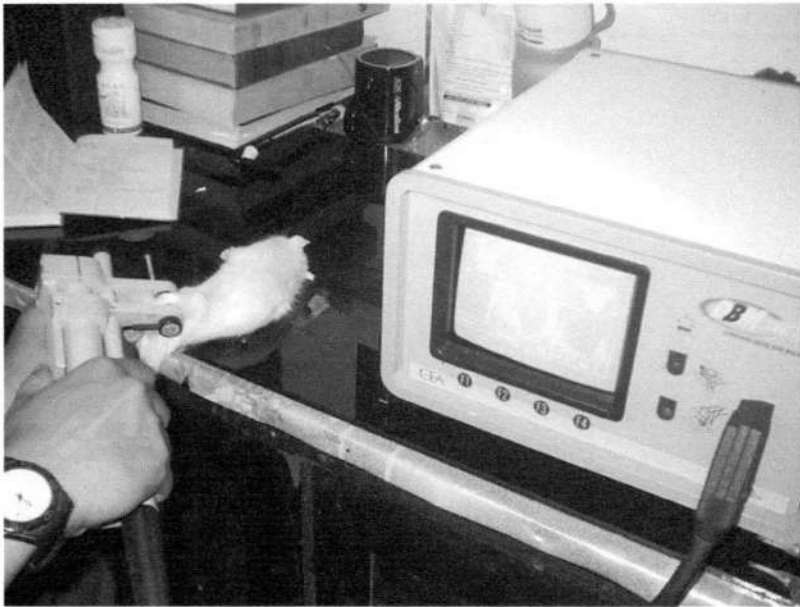


Foto 5. Pengukuran kepadatan tulang dengan alat DBM Sonic 1200

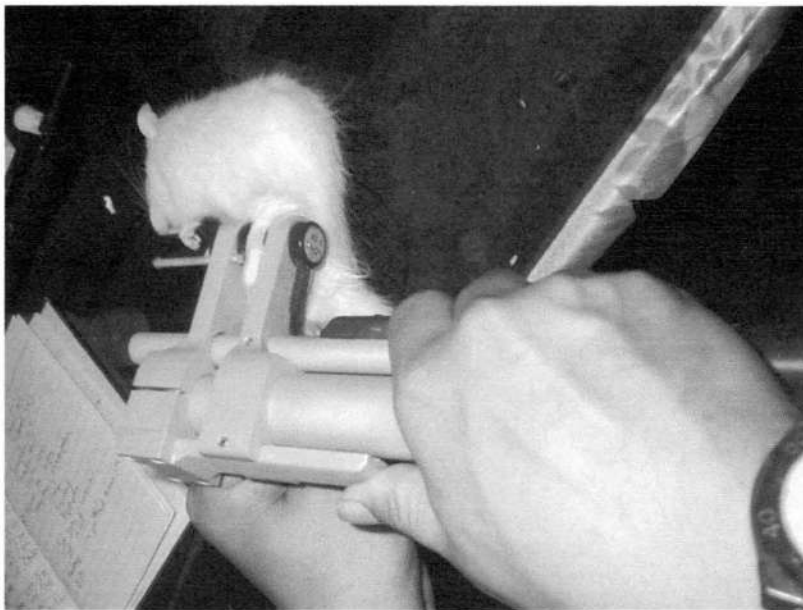


Foto 6. Pengukuran kepadatan tulang femur dengan alat DBM Sonic 1200

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

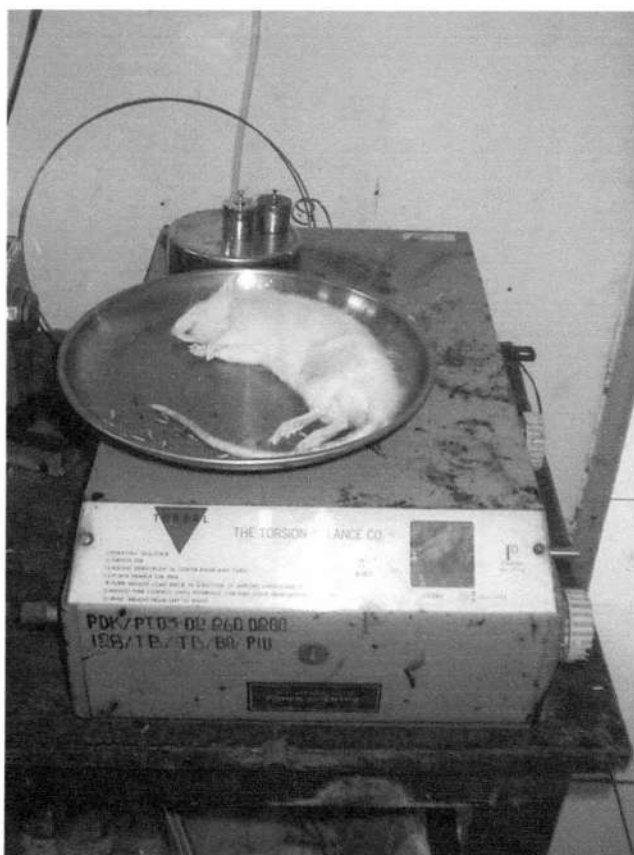


Foto 7. Penimbangan tikus dengan timbangan *Torsion Balance CO (Torbal)* jenis PLI 2D