

**PENGARUH PANHISTEREKTOMI TERHADAP RETENSI KALSIMUM DAN
FOSFOR TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIBERI
PAKAN KEDELAI SELAMA EMPAT MINGGU**

THE EFFECT OF PANHISTERECTOMY ON CALCIUM AND PHOSPHOR
RETENTION IN *SPRAGUE DAWLEY* RATS FED WITH
SOYBEAN FOR FOUR WEEKS

Hartiningsih¹, Agus Irwanto², Rosana Anita Sari², Devita Anggraini¹

¹Bagian Ilmu Bedah dan Radiologi Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
Email: hartiningsih56@yahoo.com

ABSTRACT

The objective of the current research was to study the effect of panhisterektomy on calcium and phosphor retention in *Sprague Dawley* rats fed with soybean for four weeks. Ten female *Sprague Dawley* rats, six weeks of age were randomly divided into two groups (control and panhisterektomized group) of five each. At eight weeks of age, the rats of panhisterektomized group were panhisterektomized. At 12 weeks of age, they were placed into individual metabolic cages for balance study. Every morning, from day four to eight of the balance study, the left-over feed was collected for calcium and phosphor analyses. Urine and fecal samples were also collected at the same time. The results of the research showed that calcium and phosphor retentions were significantly reduced ($P < 0.01$) in panhisterektomized group compared to the control group. Fecal calcium excretion was a significantly higher ($P < 0.01$), fecal phosphor excretion was a significantly reduced ($P < 0.01$) in panhisterektomized group compared to the control group, while urinary phosphor excretion was significantly higher ($P < 0.05$) in panhisterektomized group as compared to the control group. Based on the result, it is concluded that panhisterektomy leads to a reduction in calcium and phosphor retention, increased fecal calcium and urinary phosphor excretion.

Key words: panhisterektomy, calcium and phosphor retention

ABSTRAK

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengkaji pengaruh panhisterektomi terhadap retensi kalsium dan fosfor tikus *Sprague Dawley* yang diberi pakan kedelai selama 4 minggu. Sepuluh tikus betina *Sprague Dawley* umur 6 minggu dibagi secara acak menjadi 2 kelompok (kontrol dan panhisterektomi) masing-masing 5 tikus. Tikus dilakukan panhisterektomi pada waktu umur 8 minggu. Pada umur 12 minggu tikus dipindah dalam kandang metabolik individu untuk studi *balance*. Pada hari ke 4-8 masa studi *balance*, setiap pagi dilakukan koleksi sisa pakan, feses dan urin untuk pemeriksaan kalsium dan fosfor. Hasil penelitian menunjukkan retensi kalsium dan fosfor tikus panhisterektomi lebih rendah dan berbeda sangat signifikan ($P < 0,01$) dengan tikus kontrol, ekskresi kalsium dalam feses lebih tinggi dan berbeda sangat signifikan ($P < 0,01$) dengan tikus kontrol, ekskresi fosfor dalam feses lebih rendah ($P < 0,01$) dan ekskresi fosfor dalam urin tikus panhisterektomi lebih tinggi dan berbeda signifikan ($P < 0,05$) dengan tikus kontrol. Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa panhisterektomi menurunkan retensi kalsium dan fosfor, meningkatkan ekskresi kalsium dalam feses, dan meningkatkan fosfor dalam urin tikus *Sprague Dawley*.

Kata kunci: panhisterektomi, retensi kalsium, fosfor

PENDAHULUAN

Tulang sebagai tempat penyimpanan mayoritas kalsium (Ca) dan fosfor (P) tubuh, bersama-sama dengan ginjal dan usus beraksi mengatur *balance* Ca dan P tubuh. *Balance* Ca dan P sangat penting untuk mempertahankan massa tulang dan mencegah hilangnya massa tulang. *Balance* Ca dan P menjadi negatif atau positif tergantung pada banyak atau sedikitnya jumlah Ca dan P yang diabsorpsi melalui usus atau yang diekskresikan dalam feses dan yang diekskresikan oleh ginjal dalam urin. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Toromanoff dkk. (1997) bahwa *balance* mineral adalah selisih dari jumlah mineral yang dikonsumsi dengan jumlah mineral yang diekskresikan dalam feses dan urin, sementara menurut Scholz-Ahrens dkk. (2007) selisih dari jumlah mineral (Ca dan P) yang dikonsumsi dengan jumlah mineral (Ca dan P) yang diekskresikan dalam feses dan urin diartikan sebagai retensi Ca.

Turunnya estrogen terutama pada individu pasca menopause dapat menjadi penyebab *balance* Ca dan P negatif, serta hilangnya massa tulang (Nordin dkk., 1979; Young dkk., 1968; Young and Nordin, 1967). Hormon estrogen berperan dalam absorpsi Ca oleh usus hewan percobaan (Arjmandi dkk. 1993), dan manusia (Gennari dkk., 1990; Gallagher dkk., 1980) melalui reseptor estrogen yang terdapat dalam usus (Arjmandi dkk. 1993). Selain itu hormon estrogen juga berperan meningkatkan konservasi Ca dalam ginjal (Nordin dkk., 1992; McKane dkk., 1995) dengan meningkatkan reabsorpsi Ca melalui tubulus ginjal. Penelitian yang dilakukan secara *in vivo* menunjukkan bahwa defisiensi hormon estrogen meningkatkan pembuangan Ca melalui usus dan ginjal, memacu hiperparatiroid sekunder, dan menyebabkan hilangnya massa tulang yang dapat dikoreksi dengan terapi pengganti estrogen (Nordin dkk., 1991; Prince dkk., 1991). Berbagai penelitian untuk menghambat

hilangnya massa tulang individu tua dengan memanfaatkan kedelai sebagai terapi sulih hormon estrogen sudah banyak dilakukan. Dilaporkan oleh Omi dkk. (1994) bahwa konsumsi kedelai dapat meningkatkan efisiensi absorpsi Ca melalui usus dan meningkatkan kepadatan tulang. Hartiningsih (1996 dan 1997) juga melaporkan bahwa tikus *Sprague Dawley* panhisterektomi yang diberi pakan kedelai dengan rasio Ca:P = 1,5:1 selama 45 hari terus menerus selain dapat mempertahankan konsentrasi Ca dan P darah dalam kisaran normal, juga berpengaruh positif terhadap mineralisasi tulang. Meskipun demikian, pengaruh panhisterektomi terhadap retensi Ca dan P (konsumsi Ca dan P, ekskresi Ca dan P dalam feses dan urin) tikus *Sprague Dawley* yang mengkonsumsi pakan kedelai mengandung Ca \pm 60 mg/100 gr pakan dan P \pm 55 mg/100 gr (rasio Ca:P=1:1) selama 4 minggu belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, untuk pemenuhan kebutuhan mineral dalam kaitannya dengan pencegahan terhadap demineralisasi tulang terutama yang ditimbulkan oleh defisiensi hormon estrogen, perlu dilakukan kajian lebih lanjut tentang retensi Ca dan P pada tikus normal dan tikus panhisterektomi. Hasil penelitian ini selain diharapkan dapat bermanfaat untuk mencegah demineralisasi tulang juga dapat memberi informasi tentang kemungkinan munculnya efek patologik terutama pada ginjal sehubungan dengan pemanfaatan kedelai yang mengandung Ca:P=1:1 oleh individu pasca panhisterektomi (pasca menopause).

MATERI DAN METODE

Sepuluh tikus *Sprague Dawley* betina umur 4 minggu ditempatkan dalam kandang individu dengan suhu ruang berkisar antara 27-28°C. Pada umur 6 minggu, tikus secara acak dibagi mejadi 2 kelompok (kontrol dan panhisterektomi atau perlakuan) masing-

masing 5 tikus. Setiap tikus diberi pakan standar (mengandung protein 20%, Ca 0,6% dan P 0,55%) dan air minum aquabidestilata secara *ad libitum* Komposisi pakan (% atau gram/100 gram pakan) yang diberikan berasal dari 55% tepung jagung, 40% tepung kedelai, 1,6% molase, 2,5% CaCO₃, 0,9% vitamin mineral). Pada waktu tikus umur 8 minggu, dilakukan operasi panhisterektomi pada tikus kelompok panhisterektomi. Studi *balance* dilakukan pada waktu tikus umur 12 minggu (4 minggu pasca panhisterektomi). Selama studi *balance*, setiap tikus ditempatkan dalam kandang metabolik individu, diberi pakan 15 gram/hari dan minum aquabidestilata 120 ml/hari. Selama masa adaptasi (1-3 hari masa studi *balance*) dan hari ke 4-8 masa studi *balance*, setiap pagi, 24 jam terakhir dari pemberian pakan, dilakukan koleksi feses, urin, sisa pakan dan sisa air minum. Urin yang terkumpul, setelah diukur volumenya dan ditambahkan larutan HCl 37% sehingga mempunyai pH 1, disimpan dalam suhu -5°C. Demikian juga feses dan sisa pakan yang dikumpulkan, setelah dijemur sampai kering dan ditimbang juga disimpan dalam suhu -5°C. Untuk pemeriksaan Ca dan P dalam pakan dan feses, 3 gram sampel feses dan 6 gram sampel

pakan diabukan pada suhu 600°C sesuai metode Harris (1970). Untuk pemeriksaan Ca dan P urin juga dilakukan setelah 3 ml sampel urin dipersiapkan dengan cara penguapan pada suhu 60°C, pelarutan dengan HCl 37% dan pengenceran sesuai metoda Harris (1970). Kalsium pakan, feses, dan urin diperiksa dengan metoda o-kresophthelein-komplekson (Ray Sarker dan Chaunan, 1967). Pemeriksaan P dalam pakan, feses dan urin dilakukan dengan AAS (*Atomic adsorbensia Spectrometry*). Data hasil pemeriksaan Ca dan P dianalisis dengan uji t.

Kalsium dan P pakan yang dikonsumsi, retensi Ca dan P, ekskresi Ca dan P dalam feses dan urin dihitung berdasar metode Nordin dkk. (1976), Toromanoff dkk. (1997).

Konsumsi Ca (mg/hari) = Rata-rata konsumsi pakan setiap hari x Ca dalam pakan

Retensi Ca (mg/hari) = konsumsi Ca - (Ca feses + Ca urin)

Konsumsi P (mg/hari) = Rata-rata konsumsi pakan setiap hari x P dalam pakan

Retensi P (mg/hari) = konsumsi P - (P feses + P urin)

Tabel 1. Rerata konsumsi, retensi, ekskresi Ca dan P dalam feses dan urin (mg/hari) tikus *Sprague Dawley* yang mengkonsumsi kedelai dengan rasio Ca:P=1:1 selama 4 minggu pasca panhisterektomi

Parameter	panhisterektomi	normal/kontrol	signifikansi
Konsumsi Ca mg/hari/Kg BB	394.8±36.2	418.9±46.91	ns
Konsumsi Ca mg/hari/BB	57.42±9.15	64.02±6.87	ns
Retensi Ca (mg/hari/BB)	27.14±7.48	56.86±6.69	**
Retensi Ca (%)	46.58±6.83	88.72±1.46	**
Ekskresi Ca feses mg/hari/ BB	27.96±2.62	5.4±0.69	**
Ekskresi Ca feses (%)	49.36±7.01	8.48±0.97	**
Ekskresi Ca urin mg/hari/BB	2.34±0.50	1.78±0.62	ns
Ekskresi Ca urin (%)	4.04±0.34	2.82±1.13	ns
Konsumsi P mg/hari/Kg BB	362.52±33.23	384.71±43.05	ns
Konsumsi P mg/hari/BB	52.72±8.43	58.81±6.33	ns
Retensi P mg/hari/BB	22.93±6.29	41.18±4.01	**
Retensi P retention (%)	44.70±15.38	70.12±2.47	*
Ekskresi P feses mg/hari/ BB	0.55±0.75	7.14±2.82	**
Ekskresi P feses (%)	1.09±1.53	11.86±3.84	**
Ekskresi P urin mg/hari/BB	29.24±12	10.48±2.06	*
Ekskresi P urin (%)	54.21±16.41	18.02±4.45	**

Keterangan :

ns = nonsignifikan; * berbeda signifikan (P<0,05); ** berbeda sangat signifikan (P<0,01)

% = (y : konsumsi Ca atau P mg/hari/BB) x100%

y = Retensi Ca atau P, Ca atau P feses, Ca atau P urin (mg/hari/BB)

BB = berat badan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tikus *Sprague Dawley* panhisterektomi yang mengkonsumsi kedelai dengan rasio Ca:P=1:1 selama 4 minggu pasca panhisterektomi meningkatkan ekskresi Ca dalam feses yang berbeda sangat signifikan ($P<0,01$) dengan tikus kontrol (Tabel). Dilaporkan Scholz-Ahrens dkk. (2007) bahwa nilai absorpsi mineral (Ca dan P) adalah selisih dari jumlah mineral (Ca dan P) yang dikonsumsi dengan jumlah mineral (Ca dan P) yang diekskresikan dalam feses. Dalam penelitian ini lebih tingginya ekskresi Ca dalam feses menunjukkan penurunan absorpsi Ca dalam usus. Hal serupa terjadi pada tikus muda dan tua 3 dan 6 minggu pasca oophorectomi (Morris dkk., 1995; O'Loughlin dan Morris, 1994 dan 2003). Beberapa peneliti melaporkan bahwa ovariektomi pada tikus menurunkan ekspresi reseptor vitamin D (VDR) dalam usus (Chan dkk., 1984; Liel dkk., 1999), menurunkan absorpsi Ca dalam usus (Gennari dkk., 1990; Civitelli dkk., 1988; Nordin, 1997), dan meningkatkan ekskresi kalsium melalui feses (Nordin, 1997). Ekskresi Ca dalam feses tikus panhisterektomi yang lebih tinggi kemungkinan terkait dengan turunnya hormon estrogen dalam sirkulasi darah. Hal tersebut didasarkan hasil penelitian pada tikus dewasa yang dilakukan Goodrow dkk (2005) bahwa dalam 24 jam pasca panhisterektomi, kadar estrogen dalam darah tikus panhisterektomi lebih rendah dibanding tikus normal. Beberapa peneliti lain membuktikan bahwa terapi dengan hormon estrogen dapat meningkatkan absorpsi kalsium melalui usus halus tikus ovariektomi (O'Loughlin and Morris, 1998; Colin dkk., 1999; Kalu dkk., 1999; Arjmandi dkk., 1994). Didasarkan temuan tersebut di atas memberi gambaran ada keterkaitan antara panhisterektomi dengan turunnya absorpsi Ca dalam usus yang ditandai lebih tingginya ekskresi Ca dalam feses tikus panhisterektomi. Ekskresi Ca dalam feses tikus

panhisterektomi yang lebih tinggi, tidak diikuti peningkatan ekskresi Ca melalui urin (Tabel). Panhisterektomi juga meningkatkan ekskresi P melalui urin yang berbeda sangat signifikan ($P<0,01$), sementara ekskresi P melalui feses lebih rendah dan berbeda sangat signifikan ($P<0,01$) dengan tikus normal (Tabel). Rasio antara jumlah P yang diekskresikan dalam feses dengan yang diekskresikan dalam urin tikus normal dan panhisterektomi berturut-turut adalah 1:1,5 dan 1:54. Ekskresi P dalam urin tikus panhisterektomi yang lebih tinggi menunjukkan peran sistem homeostasis dalam mengoreksi rendahnya Ca dalam sirkulasi akibat turunnya absorpsi Ca melalui usus yang ditandai lebih tingginya ekskresi Ca dalam feses. Menurut Mihai dan Fardon (2000) untuk mempertahankan konsentrasi Ca darah dalam kisaran normal, sistem homeostasis hormon paratiroid beraksi pada ginjal untuk meningkatkan reabsorpsi Ca dan menurunkan absorpsi fosfat yang ditandai oleh turunnya ekskresi Ca dan lebih tingginya ekskresi P melalui urin. Menurut Amiel dkk (1976) rendahnya Ca darah memicu pembebasan hormon paratiroid dan menyebabkan turunnya absorpsi P oleh tubulus ginjal, sebaliknya tingginya Ca darah dapat meningkatkan absorpsi P tubulus ginjal. Hasil penelitian pada tikus yang dilakukan oleh Wen (1974) dan Kempson (1995) membuktikan bahwa reabsorpsi fosfat oleh tubulus ginjal mengalami penurunan setelah diberi hormon paratiroid. Kalsium darah juga dapat memodifikasi aksi hormon paratiroid terhadap kotransporter Na-Pi pada membran apeks tubulus ginjal. Menurut Riccardi dkk. (1998) Ca mengatur transpot P yang tergantung hormon paratiroid melalui aktivasi Ca sensing reseptor yang diekspresikan pada membran apek dan basolateral tubulus proksimal ginjal. Ba dkk (2003) juga melaporkan bahwa pemacuan terhadap reseptor hormon paratiroid tipe I yang diekskresikan dalam membran apeks dan membran basolateral tubulus proksimal ginjal dapat

menghambat absorpsi Pi dalam tubulus proksimal ginjal. Selain beraksi melalui hormon paratiroid, Ca secara langsung juga berpengaruh terhadap reabsorpsi P melalui cotranspot Na-Pi tubulus proksimal ginjal. Turunnya Ca dalam lumen tubulus (Goldfarb dkk., 1978) dan turunnya Ca ekstraseluler (Oberlethner dkk., 1979) menurunkan absorpsi P tubulus, dan sebaliknya. Berbeda dengan Ca yang pengaturan pengendaliannya terutama melalui absorpsi usus, tingginya ekskresi P dalam urin tikus panhisterektomi menunjukkan bahwa ginjal adalah pengatur utama ekskresi P.

Pada penelitian ini, lebih tingginya prosentase absorpsi P melalui usus tikus panhisterektomi yang ditandai lebih rendahnya ekskresi P dalam feses dan berbeda signifikan ($P < 0,01$) memberi gambaran bahwa absorpsi P dalam usus terjadi secara difusi pasif yang tidak tergantung pada estrogen. Sesuai dengan pernyataan Cross dkk. (1990) bahwa sebagian besar (60-80%) absorpsi P dalam usus tikus panhisterektomi terjadi melalui difusi pasif, dan menurut Lee dkk. (1980) dan Rizzoli dkk. (1977) hanya sebagian kecil jumlah P yang diabsorpsi oleh usus melalui transport aktif. Absorpsi P dalam usus melalui transpot aktif dengan media kotranspor sodium-fosfat (NaPi-IIb) diatur oleh 1,25-dihidroksivitamin D3 (Xu dkk., 2002; Peterlick, 1977; Pike dkk., 1978), hormon paratiroid (Kempson *et al.*, 1995), dan estrogen (Pike dkk., 1978) terutama terjadi ketika pakan yang dikonsumsi mengandung fosfor rendah. Didasarkan temuan tersebut menunjukkan bahwa perlakuan panhisterektomi tidak berpengaruh terhadap absorpsi P dalam usus.

Retensi Ca dan P tikus panhisterektomi lebih rendah dan berbeda signifikan ($P < 0,05$) dengan tikus normal (Tabel). Lebih rendahnya nilai retensi Ca tikus panhisterektomi nampaknya sangat dipengaruhi oleh tingginya jumlah Ca yang diekskresikan lewat feses, sementara lebih rendahnya nilai retensi P tikus

panhisterektomi sangat dipengaruhi oleh tingginya jumlah P yang diekskresikan lewat urin (Tabel). Rasio antara jumlah Ca yang diekskresikan dalam feses dengan yang diekskresikan dalam urin tikus normal adalah 3:1. Hasil yang sama juga terjadi pada tikus normal yang mengkonsumsi kasein (O'Loughlin dan Morris, 2003). Sementara rasio antara jumlah Ca yang diekskresikan dalam feses dengan yang diekskresikan dalam urin tikus panhisterektomi 11:1. Penelitian pada tikus panhisterektomi yang dilakukan oleh Morris dkk. (1995); O'Loughlin dan Morris (1993) juga menunjukkan peningkatan rasio ekskresi Ca dalam feses terhadap ekskresi Ca dalam urin (Ca feses : Ca urin = 10:1). Dari hasil penelitian ini memberi gambaran bahwa lebih tingginya ekskresi Ca dalam feses menjadi faktor penyebab lebih rendahnya retensi Ca tikus panhisterektomi, sementara lebih tingginya ekskresi P dalam urin menjadi faktor penyebab lebih rendahnya retensi P tikus panhisterektomi, dengan demikian penyimpanan Ca dalam tulang juga lebih rendah. Menurut O'Loughlin dan Morris (1994) ada keterkaitan antara *balance* atau retensi Ca dengan pengendapan mineral dalam tulang. Karena sebagian besar Ca dan P tubuh disimpan di dalam tulang, maka besarnya nilai retensi Ca dan P menunjukkan jumlah total Ca dan P yang diendapkan di dalam tulang. Dalam penelitian ini tikus panhisterektomi mempunyai nilai retensi Ca dan P lebih rendah dibanding dengan tikus normal, dengan demikian pengendapan mineral Ca dan P di dalam tulang juga lebih rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Amiel, C., Kuntziger, H., Couette, S., Coureau, C., Bergounioux, N. 1976. Evidence for a parathyroid hormone-independent calcium modulation of phosphate transport along the nephron. *J Clin Invest* 57:256-263.
- Arjmandi, B.H., Salih, M.A., Herbert, D.C., Sims, S.H., Kalu, D.N. 1993. Evidence for estrogen

- receptor-linked calcium transport in the intestine. *Bone Miner* 21:63-74.
- Arjmandi, B.H., Hollis, B.W., Kalu, D.N. 1994. In vivo effect of 17 β -estradiol on intestinal calcium absorption in rats. *Bone Miner* 26:181-189.
- Ba, J., Dennis, B., Friedman, P.A. 2003. Calcium-sensing receptor regulation of PTH-Inhibitable proximal tubule phosphate transport. *Am J Physiol* 285:F1233-F1243.
- Chan, S.D.H., Chiu, D.K.H., Atkins, D. 1984. Oophorectomy leads to selective decrease in 1,25-dihydroxycholecalciferol receptors in rat jejunal villous cells. *Clin Sci* 66:745-748.
- Civitelli, R., Agnusdei, D., Nardi, P., Zacchei, F., Avioli, L.V., Gennari, C. 1988. Effects of one-year treatment with estrogens on bone mass, intestinal calcium absorption, and 25-hydroxyvitamin D-1 alpha-hydroxylase reserve in postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 42:77-86.
- Colin, E.M., Van Den Bemd, G.J., Van Aken, M., Christakors, S., De Jonge, H.R., Deluca, H.F., Prah, J.M., Birkenhager, J.C., Buurman, C.J., Pols, H.A., Van Leeuwen, J.P. 1999. Evidence for involvement of 17 beta-estradiol in intestinal calcium absorption independent of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ level in the rat. *J Bone Miner Res* 14:57-64.
- Cross, H.S., Debiec, H., Peterlik, M. 1990. Mechanism and regulation of intestinal phosphate absorption. *Miner Electrolyte Metab* 16: 115-124.
- Gallagher, J.C. 1990. The pathogenesis of osteoporosis. *Bone Miner* 9:215-227.
- Gennari, C., Agnusdei, D., Nardi, P., Civitelli, R. 1990. Estrogen preserve a normal intestinal responsiveness to 1,25-dihydroxyvitamin D, in oophorectomized woman. *J Clin Endocrinol Metab* 71 : 1288-1293.
- Goldfarb, S., Bosanac, M., Golberg, M., Agus, Z.S. 1978. Effects of calcium on renal tubular phosphate reabsorption. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 234:F22-F28.
- Goodrow, G.J., Vitullo, Lisa, Cipolla, M.J. 2005. Effect of estrogen therapy on cerebral arteries during stroke in female rats. The north American Menopause Societ. Lippincott Williams and Wilkins.
- Harris, L.E. 1970. Nutrition Research techniques for domestic and wild animals. Vol.1 Animal Science Dept. Utah State Univ., Logan, Utah.
- Hartiningasih, Wuryastuti, H. 1996. Pengaruh variasi imbalanced Ca:P dalam pakan terhadap kadar alkaline fosfatase, Ca dan P dalam darah dan perubahan tulang pada tikus putih. *Bull. FKH-UGM XIV* 2:93-102.
- Hartiningasih. 1996. Pengaruh Variasi Imbalanced Ca:P dalam Pakan terhadap Kadar Kalsium dan Fosfat, serta Perubahan Tulang pada Tikus Panhisterektomi, DPP-UGM.
- Hartiningasih. 1997. Pengaruh diet fosfor tinggi terhadap mineralisasi tulang tikus panhisterektomi, DPP UGM.
- Kempson, S.A., Lotscher, M., Kaissling, B., Biber, J., Murer, H., Levi, M. 1995. Parathyroid hormone action on phosphate transporter mRNA and protein in rat renal proximal tubules. *Am J Physiol* 268:F784-791.
- Lee, B.D.N., Walling, M.W., Brautbar, N. 1986. Intestinal phosphate absorption : influence of vitamin D and non-vitamin D factors. *Am J Physio* 250: G369-G373.
- Liel Y., Shany, S., Smirnoff, P., Schwartz, B. 1999. Estrogen increases 1,25-dihydroxyvitamin D receptors expression and Bioresponse in the rat duodenal mucosa. *Endocrinology* 140:280-285.
- McKane, W.R., Khosla, S., Burritt, M.F., Kao, P.C., Wilson, D.M., Ory, S.J., Riggs, B.L. 1995. Mechanism of renal calcium conservation with estrogen replacement therapy in women in early postmenopause—a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 80:3458-3464.
- Mihai, R., Faradon, J.R. 2000. Parathyroid disease and calcium metabolism. *Britis Journal of Anaesthesia*. 85:29-43.

- Morris, H.A., O'Loughlin, P.D., Mason, R.A., Schulz, S.R. 1995. The effect of oophorectomy on calcium homeostasis. *Bone* 17:189S-174S.
- Nordin, B.E.C. 1997. Calcium and osteoporosis. *Nutrition* 13:664-686.
- Nordin, B.E., Horsman, A., Marshall, D.H., Simpson, M., Waterhouse, G.M. 1979. Calcium requirement and calcium therapy. *Clin Orthop* 140:216-239.
- Nordin, B.E.C., Horsman, A. Aaron. J. 1976. Diagnostic procedures in Calcium, Phosphate and Magnesium Metabolism :Clinical physiology and Diagnostic Procedures, ed Nordin, B.E.C., pp. 468-524. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Nordin, B.E., Need, A.G., Morris, H.A., Horowitz, M. Robertson, W.G. 1991. Evidence for a renal calcium leak in postmenopausal women. *J Clin endocrinol Metab* 72: 401-407.
- Oberleithner, H., Lang, F., Greger, R., Sporer, H. 1979. Influence of calcium and ionophore 23187 on tubular phosphate reabsorption. *Pfugler Arch* 379:37-41.
- Omi, N., Aoi, S., Murata, K Ezawa, I. 1994. Evaluation of the effect of soybean milk and soybean milk peptide on bone metabolism in the rat model with ovariectomized osteoporosis. *J Nutr* 10:63-68.
- O'Loughlin, P.D. Morris, H.A. 2003. Oophorectomy acutely increasing calcium excretion in adult rat *J Nutr* 133:2277-2280.
- _____. 1998. Estrogen deficiency impairs intestinal calcium absorption in rat. *J Physiol* 511:313-322.
- _____. 1994. Oophorectomy in the young rat impairs calcium balance by increasing intestinal calcium secretion. *J Nutr* 124:726-731.
- Peterlick, M. Wassermann, R.H. 1977. Effect of vitamin D₃ and 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ on intestinal transport of phosphate. *Adv Exp Med Biol* 81:323-332.
- Pike, J.W., Spanos, E., Colston, K.W., MacIntyre, I. Haussler, M.R. 1978. Influence of estrogen on renal vitamin D hydroxylases and serum 1 α ,25-(OH)₂D₃ in chicks. *Am J Physiol Endocrinol Metab Gastrointest Physiol* 235:E338-E343.
- Prince, R.L., Smith, M., Dick, I.M., Price, R.I, Webb, P.G., Henderson, N.K., Harris, M.M. 1991. Prevention of postmenopausal osteoporosis. A comparative study of exercise, calcium supplementation, and hormone-replacement therapy. *N Engl J Med* 325: 1189-1195.
- Ray Sarker, B.C., Chaunan, U.P.S. 1967. A new method for determining microquantities of calcium in biological material. *Ana Biochem* 20, 155.
- Riccardi, D., Hall, A.E., Chattopadhyay, N., Xu, J.Z, Brown, E.M., Hebert, S.C. 1998. Localization of the extracellular Ca²⁺ polyvalent cation-sensing protein in rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 274:F611-F622.
- Rizolli, R., Fleisch, H., Bonjour, J.P. 1977. Role 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on intestinal phosphate absorption in rats with a normal vitamin D supply. *J Clin Invest* 60:639-647.
- Scholz-Ahrens, K.E., Deling, G., Stampa, B., Helfenstein, A., Hahne, H.J., Acil, Y., Timm, W., Barkmann, R., Hassenpflug, J., Schrezenmeir, J., Gluer, C.C. 2007. Glucocorticosteroid-induced osteoporosis in adult primiparous Gottingen miniature pigs : effects on bone mineral and mineral metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293: E385-E395.
- Toromanoff, A., Ammann, P., Mosekilde, L., Thomsen, J.S., Riond, J. 1997. Parathyroid hormone increases bone formation and improve mineral balance in vitamin D-deficient female rats. *Endocrinology* 138 : 2449-2457.
- Wen, S.F. 1974. Microponcture studies of phosphate transport in the proximal tubule of the dog. The relationship to sodium reabsorption. *J Clin Invest* 53:143-153.

Xu, H., Bai, L., Collin, J. F., Ghishan, F.K. 2002. Age-dependent regulation of rat intestinal type IIb sodium-phosphate cotransporter by 1,25-(OH)₂ vitamin D₃. *Am J Physiol* 282:C487-C493.

Young, M.M. Jasani, C., Smith, D.A., Nordin, B.E. 1968. Some effects of ethinyl oestradiol on calcium and phosphorus metabolism in osteoporosis. *Clin Sci* 34: 411-417.

Young, M.M. and Nordin, B.E. 1967. Calcium metabolism and the menopause. *Proc R Soc Med* 60: 1137-1138.