

**PENGARUH DIET FOSFOR TINGGI TERHADAP DENSITAS  
TULANG TIKUS ( *Rattus norvegicus albinus* )**

Hartiningsih<sup>1</sup>, Hastari Wuryastuti<sup>2</sup>

**Abstrak**

Fraktur tulang yang banyak ditangani di bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada tidak hanya disebabkan oleh faktor eksternal tetapi kemungkinan juga disebabkan oleh faktor internal seperti osteoporosis. Sampai sekarang osteoporosis masih tetap menjadi masalah baik pada hewan maupun kesehatan masyarakat. Penelitian ini dimaksudkan untuk mempelajari pengaruh diet fosfor tinggi yang diberikan pada tikus selama 3 bulan berturut-turut terhadap densitas tulang berdasar pemeriksaan histopatologi dan radiografi. Sepuluh ekor tikus (*Rattus norvegicus albinus*) betina umur 40 hari secara acak dibagi dalam 2 kelompok (A dan B) masing-masing 5 ekor. Imbangan kalsium dan fosfor dalam pakan yang diberikan pada tikus kelompok A adalah 1,5 : 1 (pakan 1/kontrol), sedangkan kelompok B 1,5 : 9 (pakan 2). Pada akhir perlakuan darah diambil melalui jantung untuk analisis kalsium dan fosfat anorganik darah. Pemeriksaan radiografi dilakukan setelah organ dalam dikeluarkan. Tulang femur kiri difiksasi dalam formalin 10%, untuk dibuat preparat histopatologik. Dari hasil pemeriksaan tersebut di atas disimpulkan bahwa pakan yang mengandung imbangan Ca : P = 1,5 : 9 menyebabkan ostodistrofia fibrosa, penurunan densitas tulang femur, penurunan kadar kalsium darah dan peningkatan kadar fosfat organik darah.

Kata kunci : osteoporosis, diet fosfor tinggi, *Rattus norvegicus*, histopatologik, radiografi

**THE EFFECT OF HIGH PHOSPHORUS INTAKE ON BONE  
DENSITY IN RATS (*Rattus norvegicus albinus*)**

**Abstract**

A large number of bones fracture were observed in the Surgery Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, Gajah Mada University, not only caused by the external factors but probably also by internal factors such as osteoporosis. Up to now, osteoporosis was not only a problem to the animal, but also a public health problem. The objective of the research was to study the effects of high phosphorus in the diet which continuously fed to the rats for 3 months to the bone density, histopatologically and through radiographic examination. Ten female rats, 40 days of age were randomly divided into two groups (A and B) of five each. The rats were given diet contained ratio of calcium and phosphorus of 1.5:1 and 1.5:9, respectively. At the end of the experiment, the blood samples were taken directly from heart for calcium and phosphate analysis. Radiographic examination was conducted after the internal organ were taken out. The left femur was fixed in 10% formaldehyde for histopatological examination. From the result can be concluded that the diet containing Ca : P = 1.5 : 9 caused osteodystrophia fibrosa, decrease of bone density, decrease of blood calcium and increase of blood inorganic phosphate.

Key words : osteoporosis, high phosphorous diet, *Rattus norvegicus*, histopatologic, radiographic

1. Bagian Ilmu Bedah FKH-UGM
2. Bagian Ilmu Penyakit Dalam FKH-UGM

**Pendahuluan**

Fraktur tulang yang banyak di tangani di bagian Ilmu Bedah, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada tidak hanya terjadi di bagian metafisis tulang panjang, tetapi beberapa kasus juga terjadi di bagian diafisis. Banyaknya kejadian fraktur pada bagian metafisis karena unsur tulang yang menyusunnya sebagian besar berbentuk trabekula, sedangkan yang berupa korteks hanya terdapat dipermukaan tulang paling luar sebagai lapisan yang sangat tipis. Sebaliknya diafisis tulang panjang sebagian besar tersusun dari tulang korteks, sedangkan trabekula hanya terdapat di antara sumsum tulang dan berfungsi sebagai dinding pembatas sumsum tulang (Banks,1981; Jee, 1983). Karena tulang panjang mempunyai struktur seperti tersebut di atas maka fraktur tulang terutama yang terjadi di bagian diafisis, kemungkinan tidak hanya di sebabkan oleh faktor eksternal seperti terkena benturan (tertabrak kendaraan), tetapi juga didukung oleh faktor internal misalnya rapuh tulang atau osteoporosis.

Salah satu faktor yang diduga dapat menjadi penyebab rapuh tulang adalah kesalahan dalam pemberian pakan, karena dari kebanyakan penderita fraktur tulang ternyata sering diberi pakan yang banyak mengandung fosfor tinggi seperti daging, hati, dan produk instan seperti *dog food*. Penelitian yang dilakukan Hartiningsih & Wuryastuti (1995) pada tikus (*Rattus norvegicus albinus*) umur 40 hari yang diberi pakan mengandung fosfor enam kali dari jumlah kalsium selama 2 bulan terus menerus menyebabkan hiperfosfemia dan hipokalsemia, serta osteodistrofia fibrosa. Osteodistrofia fibrosa ditandai dengan peningkatan aktivitas resorpsi tulang oleh osteoklas di bagian epifisis, metafisis dan diafisis, sebagian besar sel tulang yang diresorpsi terutama di bagian epifisis dan metafisis diganti dengan jaringan fibroblas.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh diet fosfor tinggi yang diberikan dalam waktu yang lebih lama (tiga bulan terus menerus) terhadap perubahan

kepadatan tulang panjang terutama pada bagian diafisis. Dengan mengetahui status nutrisi dan efek yang ditimbulkannya maka jika terjadi fraktur tulang di samping perlu dilakukan penanganan terhadap fraktur, untuk mempercepat kesembuhannya kemungkinan juga perlu di lakukan perbaikan pakan.

**Materi dan Metode**

Sepuluh ekor tikus (*Rattus norvegicus albinus*) betina umur 40 hari secara acak dibagi dalam 2 kelompok ( A dan B ) masing-masing 5 ekor. Setiap tikus ditempatkan dalam kandang individu. Setelah diadaptasikan terhadap pakan dan lingkungan selama ± 2 minggu, tikus diberi perlakuan pakan, sebanyak 10% dari berat badan selama 3 bulan. Perbandingan kalsium dan fosfor dalam pakan yang diberikan pada tikus kelompok A adalah 1,5 : (pakan 1/kontrol), sedangkan kelompok B 1,5 : 9 (pakan 2).

Pada akhir perlakuan darah diambil melalui jantung untuk analisis kalsium dan fosfat anorganik darah. Pemeriksaan radiografi dilakukan setelah organ dalam dikeluarkan. Tulang femur kiri difiksasi dalam formalin 10%, kemudian dibuat preparat histologik dengan pengecatan hematoxilin dan eosin ( H dan E ). Pembuatan preparat histopatologik tulang dilakukan setelah tulang didekalsifikasi dengan metode yang dikembangkan oleh Wasito (1990). Kadar kalsium dianalisis dengan titrasi, sedangkan fosfat anorganik darah dianalisis secara fotometrik.

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan kadar kalsium dan fosfat anorganik darah dianalisis dengan uji t, sedangkan gambaran histopatologik dan radiografi dianalisis secara diskriptif.

**Hasil dan Pembahasan**

Dari hasil analisis terhadap kadar kalsium dan fosfat anorganik dalam darah ternyata pakan yang mengandung fosfor 6 kali dari jumlah kalsium berpengaruh terhadap kadar kalsium dan fosfat dalam darah (Tabel 1).

Tabel 1. Kadar kalsium dan fosfat anorganik dalam darah tikus yang diberi pakan dengan imbangan Ca : P bervariasi selama 3 bulan.

Imbangan Ca : P	Kadar Ca mg/dl	Kadar fosfat mg/dl
1,5 : 1 ( pakan 1 )	11,918 ± 0,615a	7,318 ± 0,535a
1,5 : 9 ( pakan 2 )	8,169 ± 2,159c	43,720 ± 21,199b

Keterangan : dalam kolom yang sama angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata.



Pengaruh turunnya kadar kalsium dan meningkatnya kadar fosfat anorganik dalam darah akibat pakan yang mengandung Ca : P = 1,5 : 9 sangat berbeda nyata ( $P < 0,01$ ) dengan pakan yang mengandung Ca : P = 1,5 : 1 (Tabel 1). Penelitian yang dilakukan Hartiningsih & Wuryastuti (1995) pada tikus yang diberi pakan mengandung Ca : P = 1,5 : 9 selama 2 bulan terus menerus juga menyebabkan hiperfosfatemia dan hipo-kalsemia. Sesuai dengan pernyataan Jubb dkk., (1985) dan Coles (1986), bahwa pakan yang mengandung kalsium cukup tetapi kandungan fosfornya relatif tinggi dapat menyebabkan hiperfosfatemia. Hal ini terjadi karena kelebihan fosfor dalam pakan akan mengikat kalsium sehingga terbentuk garam yang tidak larut, sementara absorpsi fosfor oleh usus juga dapat terus berlangsung (Fowler, 1986). Hiperfosfatemia dapat menekan kalsium ion (Jubb dkk., 1985; Palmer, 1993) dan menekan pembentukan 1,25-dihidroksikolekalsiferol (1,25-DHCC) dalam ginjal (Polzin dkk., 1989). Karena menurut Cunningham (1992) 1,25-DHCC bertanggung jawab mengatur transport kalsium keluar dari lumen usus maka turunnya 1,25-DHCC mengakibatkan penyerapan kalsium dari usus juga menurun.

Turunnya kadar kalsium darah di bawah batas terendah dari kisaran normal menurut Banks (1981); Bullock & Rosendahl (1984); Coles (1986); Martin dkk., (1985) dan Smith dkk. (1983) akan merangsang kelenjar paratiroid untuk meningkatkan produksi hormon paratiroid (PTH). Pada penelitian ini, hasil pemeriksaan histopatologik kelenjar paratiroid kelompok tikus yang dalam pakannya mengandung Ca : P = 1,5 : 1 sel prinsipal terlihat kompak dan tidak bervakuola (Gambar 1), sedangkan yang di dalam pakannya mengandung Ca : P = 1,5 : 9 sel prinsipal yang bervakuola jumlahnya sangat banyak (Gambar 2). Hal ini menunjukkan ada peningkatan aktivitas kelenjar paratiroid untuk menghasilkan dan mensekresikan PTH. Sesuai dengan pernyataan Capen (1988) dan Capen (1993) bahwa sel prinsipal yang aktif memproduksi dan mensekresikan hormon paratiroid akan mengalami hipertrofi dan akhirnya hiperplasi, sitoplasmanya bertambah luas, terlihat kurang eosinofilik dan bervakuola, rongga perivaskuler menyempit dan dalam jaringan intersisial juga terdapat sedikit sel lemak.

Sesuai dengan pernyataan Anderson (1996) dan Barger-Lux & Heaney (1993) bahwa rendahnya kalsium dalam darah tidak hanya

meningkatkan kadar PTH darah tetapi secara tidak langsung juga berpengaruh pada tulang melalui aksi PTH untuk meningkatkan resorpsi tulang. Anderson (1996) juga menyatakan bahwa tingginya kadar PTH dalam darah akan meningkatkan resorpsi tulang dan menurunkan massa tulang, sehingga menyebabkan aktivitas pembentukan tulang baru oleh osteoblas tidak dapat menggantikan jumlah tulang yang diserap oleh osteoklas. Akibat aksi PTH pada tulang dapat dilihat dari gambaran histopatologik tulang. Hasil pemeriksaan histopatologik tulang kelompok tikus yang dalam pakannya mengandung Ca : P = 1,5 : 1 (pakan kontrol) di bagian epifisis dan metafisis tidak terlihat adanya osteoblas maupun osteoklas (Gambar 3), sedangkan kelompok tikus yang didalam pakannya mengandung Ca : P = 1,5 : 9 selama tiga bulan berpengaruh pada peningkatan jumlah osteoklas yang sangat dominan terdapat di bagian epifisis, metafisis dan diafisis. Osteoblas dan trabekula tulang tidak terlihat, hampir semua sel tulang di bagian epifisis, metafisis dan diafisis, serta sumsum tulang digantikan oleh jaringan menseskim dan fibroblas, rongga sumsum tulang melebar, dinding permukaan tulang menjadi lebih porus (Gambar 4).

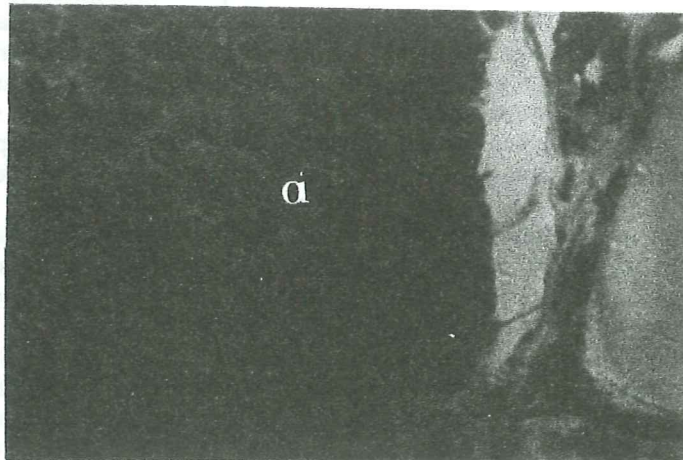
Perubahan tulang pada Gambar 4 menunjukkan bahwa kelompok tikus yang diberi pakan mengandung Ca : P = 1,5 : 9 selama tiga bulan menyebabkan defisiensi Ca berat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Capen (1993) bahwa dalam keadaan defisiensi kalsium berat, PTH menstimulasi sel osteoprogenitor yang terdapat dalam kapsul tulang untuk berdiferensiasi membentuk osteoklas baru, sementara pembentukan osteoblas baru dihambat. Hormon paratiroid juga berpengaruh dalam meningkatkan jumlah inti setiap osteoklas yang kemudian diikuti oleh meningkatnya jumlah sel osteoklas (Palmer, 1993).

Terjadinya hipokalsemia berat juga ditandai dengan osteoklas yang aktif meresorpsi tulang korteks akibatnya terjadi erosi tulang korteks dibagian periosteum dan endosteum tulang panjang, bagian korteks menjadi lebih tipis dan berporus (Doige, 1988; Jubb dkk., 1985). Doige (1998) menyatakan bahwa bersamaan dengan meningkatnya resorpsi tulang di bagian korteks dan trabekula, jaringan fibroblas juga mengalami proliferasi. Karena terjadi defisiensi kalsium berat maka adanya aktivitas resorpsi tulang tidak diikuti dengan pembentukan tulang baru tetapi tulang yang

diresorpsi diganti dengan jaringan fibroblas. Menurut Palmer (1993) adanya resorpsi tulang oleh osteoklas secara berlebihan yang kemudian diikuti dengan pembentukan tulang dari jaringan fibro-osseus adalah sifat khusus penyakit metabolik tulang yang disebut osteodistrofi fibrosa.

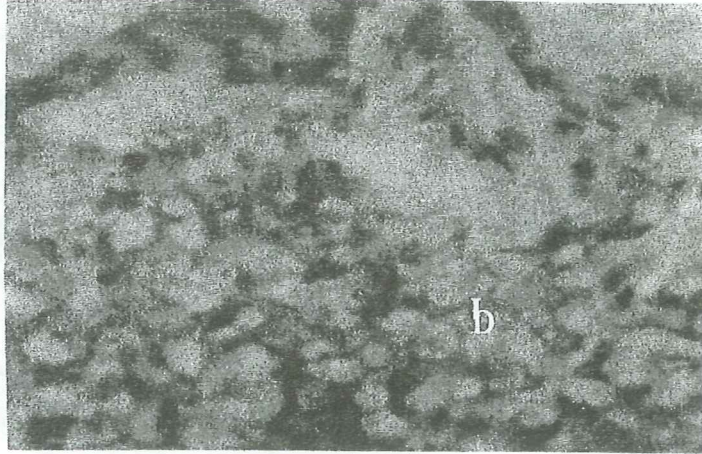
Gambaran radiografi tulang kelompok tikus yang dalam pakannya mengandung  $Ca : P = 1,5 : 1$  menunjukkan bahwa densitas tulang femur di bagian epifisis, metafisis, dan diafisis terlihat normal (Gambar 5), sedangkan kelompok tikus yang dalam pakannya mengandung  $Ca : P = 1,5 : 9$  menunjukkan bahwa densitas tulang femur di bagian epifisis, metafisis, dan diafisis terlihat menurun, disamping itu di bagian korteks diafisis juga

relatif lebih tipis (Gambar 6). Hal ini sesuai dengan pernyataan Avioli (1976) Bullock & Rosendahl (1984), dan Jubb dkk. (1985) bahwa gambaran radiografi tulang penderita osteoporosis yang sudah melanjut (osteodistrofia fibrosa), terlihat radiolusen, densitas tulangnya menurun. Gambaran tersebut terutama terlihat dari trabekula, sedangkan yang tersusun dari korteks terlihat relatif lebih tipis, lebih porus dan terputus-putus. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pakan yang mengandung fosfor 6 kali dari jumlah kalsium menyebabkan osteodistrofia fibrosa, densitas tulang femur menurun, penurunan kadar kalsium dan peningkatan kadar fosfat anorganik dalam darah.

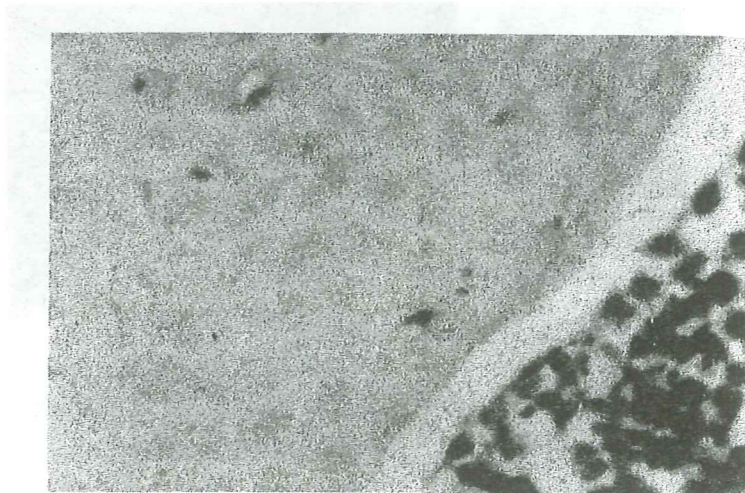


Gambar 1. Kelenjar paratiroid tikus yang di dalam pakannya mengandung  $Ca : p = 1,5 : 1$  (pakan I/kontrol), (a) sel-sel prinsipal terlihat kompak, tidak ada vakuola (H dan E, 400X).

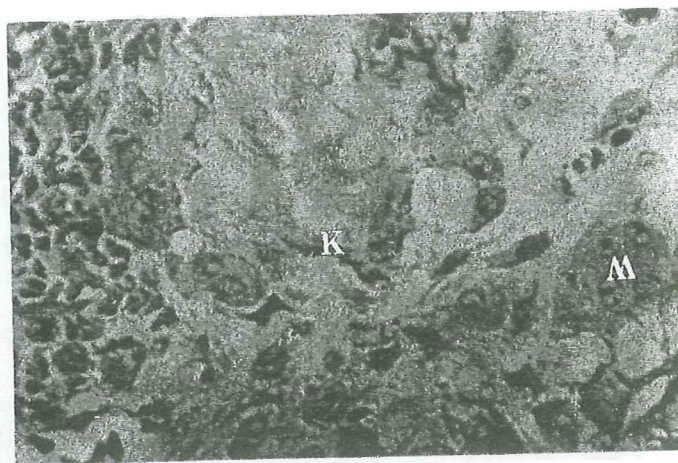




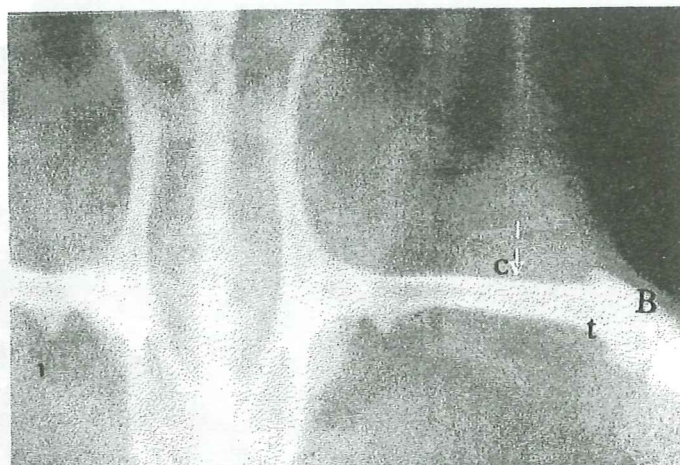
Gambar 2. Kelenjar paratiroid tikus yang di dalam pakannya mengandung Ca : P = 1,5 : 9 (pakan IV), (b) sebagian besar sel-sel prinsipal menunjukkan adanya vacuola di dalam sitoplasmanya (H dan E , 400X).



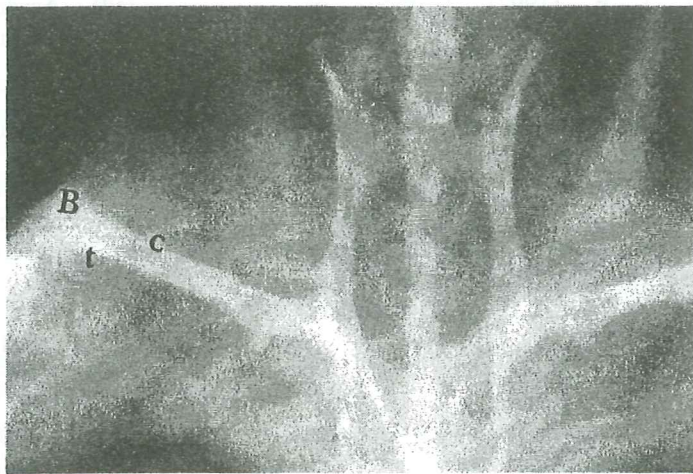
Gambar 3. Tulang tikus yang di dalam pakannya mengandung Ca : P = 1,5 : 1 (pakan I/kontrol), sel tulang terlihat kompak, padat (H dan E , 400X).



Gambar 4. Tulang tikus yang didalam pakannya mengandung  $Ca : P = 1,5 : 9$  (pakan IV), di bagian epifisis, metafisis dan diafisis jumlah osteoklasnya (M) sangat dominan, dan hampir semua sel tulang di bagian epifisis, metafisis dan diafisis digantikan jaringan fibroblas (K) (H dan E , 400X).



Gambar 5. Gambaran radiografi tulang tikus yang di dalam pakannya mengandung  $Ca : P = 1,5 : 1$  (pakan I/kontrol) densitas tulang femur di bagian epifisis (B), metafisis (t) dan diafisis (c) terlihat normal.



Gambar 6. Gambaran radiografi tulang tikus yang di dalam pakannya mengandung Ca : P =1,5 : 9 (pakan IV) densitas tulang femur di bagian epifisis (B), metafisis (t), diafisis (c) terlihat menurun, dan bagian korteks diafisis relatif tipis (c).

#### Daftar Pustaka

- Anderson, J. J. B. (1996). Calcium, phosphorus and human bone development, *J. Nutr.* 126: 1153S-8S.
- Avioli, L. V. (1976). Senile and postmenopausal osteoporosis. *Adv. Exp. Med. Biol.* , 52 : 391-403.
- Banks, W. J. (1981). *Applied Veterinary Histology*, Williams & Wilkins, Baltimore/London: 104-469.
- Barger-Lux, M. J. & Heaney, R. P. (1993). Effects of calcium restriction on metabolic characteristics of premenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 76:103-7.
- Bullock, B. L. & Rosendahl, P.P. (1984). *Pathophysiology Adaptations and Alterations in Function*, Little, Brown and Company, Boston/Toronto: 547-77.



- Capen, C.C. (1988). Endokrine system, dalam Special Veterinary Pathology, Thompson (ed) . B. C. Decker Inc. Toronto: 408-14.
- Capen, C. C. (1993). Parathyroid Glands and Calcium Regulating Hormones, dalam Pathology of Domestic Animals, Jubb, K. V. F. , Kennedy, P. C. and Palmer, N. (ed), Academic Press, Inc., Hacourt Brace Jovanovich Publishers, San Diego: 287-329.
- Coles, E. H. (1986). Vertenary Clinical Phatology, ed. 4. , W. B. Saunders Company: 131-238.
- Cunningham, J. E. (1992). Textbook of Veterinary Physiology, W. B. Saunders Company: 416-23.
- Doige, C. (1988). Skeletal system, dalam Special Veterinary Pathology, Thomson (ed). B. C. Decker Inc. Toronto:467-83.
- Fowler, M. E . (1986). Metabolic Bone Disease, Zoo & Wild Animal Medicine, Fowler, M. E. , Ed. 2, W. B. Saunders Company: 70-90.
- Hartiningsih & Wuryastuti , H. (1995). Pengaruh variasi imbalanced kalsium dan fosfat dalam pakan terhadap kadar alkaline fosfatase, kalsium dan fosfat dalam darah, dan perubahan pada tulang tikus putih (*Rattus norvegicus albinus* ), Bull. FKH-UGM Vol XIV No . 2 .
- Jee, W.S.S. (1983). The skeletal tissues, dalam Histology Cell and Tissue Biology. Ed. 5., Weiss, L. (ed), Elsevier Biomedical, New York:201-55.
- Jubb , K. V . F. Kennedy, P. C., & Palmer, N. (1985). Pathology of Domestic Animals, Ed. 3., Academic Press, Inc. Orlando, Sandigo: 2-54.
- Martin, D. W., Mayes , P. A. , Rodwell , V. W. , & Granner, D. K. (1985). Harper's review of biochemmistry. Dalam Iyan Darmawan : Biokimia , E. G.C. Penerbit Kedokteran , Jakarta.
- Palmer , N. (1993). Bones and joints , dalam Pathology of Domestic Animals, Jubb, K. .F. , Kennedy, P. C. & Palmer, N. (ed), Academic Press, Inc., Harcourt Brace Jovanovich Publishers, San Diego: 1-181.
- Polzin, D., Osborne, C. and O'brien, T. (1989). Disease of the Kidneys and Ureters, dalam Texbook of Veterinary Internal Medicine, Ettinger, S.J. (ed), Ed. 3., W. B. Saunders Company Philadelphia: 1962-2027.
- Smith ,E. L. , Hill , R. L. , Lehman , I. R., Lefkwowitz, R. J., Handler, P. & White, A . (1983). Principles of biochemistry, dalam Mamalian Biochemistry, Ed. 7. , McGraw-Hill Book Company, New York .: 441-67.
- Wasito , R. (1990). Teknik preparasi histologik rongga hidung , Buletin FKH-UGM , Juli: 63-7.