

PENGARUH PEMBERIAN TERI ASIN TERHADAP EKSRESI KALSIMUM URIN DAN MINERALISASI TULANG FEMUR TIKUS PENDERITA OSTEODISTROFIA FIBROSA

THE EFFECT OF SALTED TERI FISH ON URINARY CALCIUM AND THE MINERALIZATION OF FEMUR BONE IN OSTEODYSTROPHIA FIBROSA RATS

Hartiningsih¹, Irkham Widiyono², Hastary Wuryastuty², Hary Purnamaningsih²

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

²Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh konsumsi ikan teri asin terhadap ekskresi Ca urin dan mineralisasi tulang femur pada tikus penderita osteodistrofia fibrosa. Duapuluh ekor tikus betina umur 6 minggu secara acak dibagi dalam 4 kelompok (A, B, C dan D) masing-masing 5 ekor tikus. Setiap ekor tikus ditempatkan dalam kandang individu dan diberi pakan tikus standar (Ca:P=1,5:1) serta air minum secara *ad libitum*. Pada umur 7 minggu, tikus kelompok B, C, dan D diberi pakan yang mengandung Ca dan P dengan rasio Ca:P = 1,5:6. Untuk peneguhan status osteodistrofia fibrosa, pada umur 15 minggu, tikus kelompok A dan B dieuthanasi, tulang femur kiri tikus diambil untuk pemeriksaan histopatologik. Sementara tikus kelompok C dan D masing-masing diberi pakan yang mengandung teri tawar dan teri asin (rasio Ca:P = 1,5:1). Pada umur 19 minggu tikus dipindah dalam kandang metabolik untuk studi balans. Pada hari ke 3-7 masa studi balans, setiap pagi, dilakukan koleksi dan pengukuran urin dan air minum yang tersisa guna pemeriksaan mineral Ca dan Na. Pada umur 20 minggu, setelah dilakukan pengambilan darah melalui cantus orbitalis medialis, semua tikus dieuthanasi, tulang femur kiri untuk pemeriksaan histopatologik, tulang femur kanan untuk pemeriksaan kimia tulang. Kalsium darah, kalsium urin dan tulang diperiksa dengan metoda o-kresophthelein-komplekson. Data hasil pemeriksaan dianalisis dengan uji t, sedangkan gambaran histopatologik tulang femur dianalisis secara diskriptif. Hasil pemeriksaan terhadap status kimiawi tulang femur antara tikus kelompok C dengan kelompok D tidak berbeda signifikan, sedangkan kadar Ca dalam urin tikus kelompok D meningkat dan berbeda signifikan ($P < 0,05$) dengan kelompok C. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsumsi teri asin mendukung mineralisasi tulang, tetapi menyebabkan kalsiuria.

Kata kunci : Ikan teri asin, kalsium, osteodistrofia fibrosa.

ABSTRACT

The objectives of the research were to study the effect of salted teri fish in the diet which continuously fed to the osteodystrophia fibrosa rats for 6 weeks on urinary calcium and femur bone mineralization. Twenty female Sprague-Dawley rats 6 weeks of age, were divided into four groups (A, B, C, and D) of five each. At 7 weeks of age, the group A was fed normal diet containing Ca:P = 1.5:1, whereas the groups B, C, and D were fed diet containing C:P=1.5:6. At 15 weeks of age, the groups A and B were euthanized, the left part of femur bone were taken for histopatologic examination and osteodystrophia fibrosa diagnosis, whereas the groups C and D of rats were respectively fed diet containing unsalted teri fish and salted teri fish (ratio Ca:P=1.5:1). At 19 weeks of age the groups C and D of rats were placed in to individual metabolic cages for balance study. From day 3 to 7 of the balance study, every morning the remaining of drinking water and urine were collected and recorded. At 20 weeks of age, the blood samples were taken directly from canthus orbitalis medialis for calcium analysis, after that all of the rats were euthanized. The left part of femur bone were taken for histopatologic examination, whereas the right femur bone were taken for bone chemical analysis. Based on the results could be concluded that the diet containing salted teri fish support bone mineralization and caused calciuria.

Key words : Salted teri fish, calcium, osteodystrophia fibrosa

PENDAHULUAN

Penyakit degeneratif tulang yang mengakibatkan tulang keropos dan rapuh (osteoporosis), atau mengakibatkan akumulasi jaringan ikat pada sel tulang yang diresorpsi (osteodistrofia fibrosa) sampai sekarang masih menjadi masalah dalam dunia kesehatan. Defisiensi Ca dan P atau rasio Ca dan P yang salah dapat menjadi pemicu terjadinya penyakit tersebut. Selain itu tingginya konsumsi sodium (Na) juga berpengaruh terhadap pembuangan Ca melalui urin dan berakibat pada peningkatan reabsorpsi Ca dari tulang.

Untuk mengetahui cara pencegahan penyakit degeneratif tulang diperlukan suatu kajian dasar tentang penggunaan berbagai jenis pakan sumber Ca dan P. Ikan, terutama ikan teri banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia baik dalam bentuk ikan teri tawar maupun ikan teri asin. Ikan teri mempunyai kandungan Ca dan P yang cukup tinggi dan seimbang (1:1-2:1). Hasil penelitian sebelumnya (Widiyono dkk., 1998) membuktikan bahwa ikan teri tawar dapat menjadi pemasok mineral Ca dan P yang cukup baik dan mendukung proses mineralisasi tulang pada tikus normal maupun tikus penderita osteodistrofia fibrosa. Meskipun demikian, pemberian pakan ikan teri tawar juga meningkatkan ekskresi P melalui ginjal tikus. Hasil serupa juga dilaporkan pada hewan ruminansia (domba dan pedet) yang diberi pakan tepung ikan dalam bentuk konsentrat (Scott, 1972), pada hewan percobaan, manusia, anjing dan domba normal yang mengkonsumsi garam (Chan and Swaminathan, 1993 and 1994; Chan *et al.*, 1993; Goulding and Campbell, 1983; Shortt and Flynn 1990, Shortt *et al.*, 1987; Massey *et al.*, 1996; Gunther dan Robinowitz, 1975). Hal tersebut berarti bahwa konsumsi ikan teri asin sama dengan mengkonsumsi garam. Penelitian yang dilakukan Nordin dan Polley (1987), Devine *et al.* (1995) dan Sellmeyer *et al.* (2002) menunjukkan adanya keterkaitan antara ekskresi Na dengan ekskresi Ca tulang, mineral tulang dan hilangnya massa tulang.

Namun demikian bagaimana pengaruh konsumsi teri asin terhadap mineralisasi Ca dan

P dalam tulang pada individu penderita osteodistrofia fibrosa belum pernah dilaporkan sehingga perlu dilakukan kajian tentang pengaruh pemberian ikan teri asin terhadap ekskresi Ca melalui urin, gambaran kimia jaringan tulang dan histopatologik tulang.

MATERI DAN METODE

Setibanya di laboratorium, 20 ekor tikus betina umur 6 minggu secara acak dibagi dalam 4 kelompok (A, B, C dan D) masing-masing 5 ekor tikus. Setiap ekor tikus ditempatkan dalam kandang individu dan diberi pakan tikus standar (Ca:P=1,5:1) serta air minum aquabidestilata secara *ad libitum*. Pada umur 7 minggu, tikus kelompok B, C dan D diberi pakan yang mempunyai rasio Ca:P = 1,5:6 sebanyak 10% berat badan untuk membuat hewan tersebut menderita gangguan mineralisasi tulang (osteodistrofia fibrosa) sebagaimana yang dilakukan Hartiningsih dan Wuryastuty (1996). Untuk peneguhan status degenerasi tulang, pada umur 15 minggu tikus kelompok A dan B dieuthanasi, tulang femur kiri diambil dan difiksasi dalam formalin 10% untuk pemeriksaan histopatologik, sedangkan tikus kelompok C diberi pakan yang mengandung teri tawar dan tikus kelompok D diberi pakan yang mengandung teri asin, pakan yang diberikan mempunyai rasio Ca:P = 1,5:1. Pada waktu tikus umur 19 minggu, tikus dipindah dalam kandang metabolik untuk studi balans. Selama studi balans ke dua kelompok tikus diberi pakan yang sama dengan ketika berada dalam kandang individu dan diberi minum aquabidestilata *ad libitum*. Pada hari ke 3-7 (selama 5 hari) masa studi balans, setiap pagi, 24 jam terakhir dari pemberian pakan, dilakukan koleksi dan pengukuran urin dan air minum yang tersisa. Pada umur 20 minggu, setelah dilakukan pengambilan darah melalui *cantus orbitalis medialis*, semua tikus dieuthanasi, tulang femur kiri diambil, difiksasi dalam formalin 10% untuk pemeriksaan histopatologik, sedangkan tulang femur kanan dibersihkan dari jaringan lain, selanjutnya diperabukan sesuai dengan metoda yang diterangkan oleh Harris (1970) guna

pemeriksaan Ca dan mineralisasi tulang. Pemeriksaan Ca dan Na dalam urin juga dilakukan setelah urin dipersiapkan dengan cara penguapan, pelarutan dengan HCl 37% dan pengenceran sesuai metoda Harris (1970). Kalsium dalam darah, tulang dan urin diperiksa dengan metoda o-kresophthelein-komplekson (Ray Sarker dan Chaunan, 1967), sedangkan pemeriksaan Na dalam urin dilakukan dengan metoda flame fotometri. Data hasil pemeriksaan parameter tersebut di atas kemudian dianalisis dengan uji t, sedangkan gambaran histopatologik tulang dianalisis secara diskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemberian pakan rendah Ca selama 8 minggu pada tikus menyebabkan individu menderita osteopati (osteodistrofia fibrosa) yang pada gambaran histopatologik tulang

femur distalis (Gambar 1) ditandai oleh adanya metaplasia fibroblastik yang bersifat fokal/multifokal pada zona osteogenik, sel-sel hematopoietik di antara spikulum tulang trabekula sebagian diganti jaringan fibroblas seperti telah dilaporkan oleh Hartiningsih dan Wuryastuty (1996), dan Hartiningsih (1997). Tikus penderita osteodistrofia tersebut selanjutnya diberi perlakuan pakan yang mengandung teri tawar (tikus kelompok C) dan pakan yang mengandung teri asin (tikus kelompok D) dengan rasio Ca:P=1,5:1 selama 5 minggu secara terus menerus. Hasil penelitian terhadap gambaran histopatologik tulang femur dapat dilihat pada Gambar 1, 2 dan 3, sedangkan pemeriksaan kimia darah, tulang, dan urin tikus kelompok C dan D dapat dilihat pada Tabel 1. Dari gambaran histopatologik tulang femur distalis antara tikus kelompok C dengan D tidak berbeda signifikan, sel kondrosit pada zona hipertropi

Tabel 1. Rerata hasil pemeriksaan kimiawi darah, tulang dan urin tikus penderita osteodistrofia fibrosa setelah diberi pakan yang mengandung ikan teri tawar (kelompok C) dan ikan teri asin (kelompok D) selama 5 minggu (x ± SD, n=5)

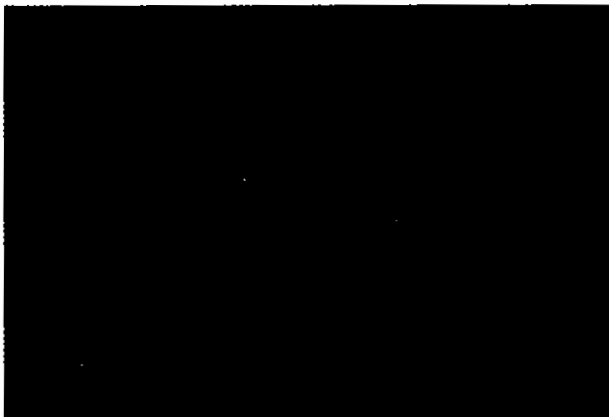
Parameter	kelompok C	kelompok D	Signifikansi
<i>Darah</i>			
Ca (mMol)	2,74 ± 0,07	2,63 ± 0,06	*
P (m Mol)	3,20 ± 0,57	2,82 ± 0,63	ns
Alkalin fosfatase IU/L	53,80 ± 6,14	75,60 ± 18,53	*
<i>Tulang femur</i>			
Densitas abu (mg/ml)	632,30 ± 36,09	659,44 ± 32,88	ns
Densitas matriks mg/ml)	721,40 ± 60,92	714,44 ± 51,19	ns
Mineralisasi (mg/mg)	0,88 ± 0,06	0,92 ± 0,04	ns
Ca (mmol/g)	3,46 ± 0,67	3,91 ± 0,56	ns
P (mmol/g)	3,24 ± 0,99	2,26 ± 0,63	ns
Rasio Ca:P	1,08 ± 0,22	1,72 ± 0,73	ns
<i>Urin</i>			
Volume (ml/24 jam)	10,38 ± 2,76	34,43 ± 4,01	**
Ca (mmol/dl)	0,04 ± 0,01	0,16 ± 0,07	**
Pi (mmol/dl)	0,09 ± 0,12	0,13 ± 0,04	ns
Na (mmol/dl)	21,77 ± 0,09	112,77 ± 43,09	**

** berbeda signifikan (P<0,01); * berbeda signifikan (P<0.05); ns = non signifikan

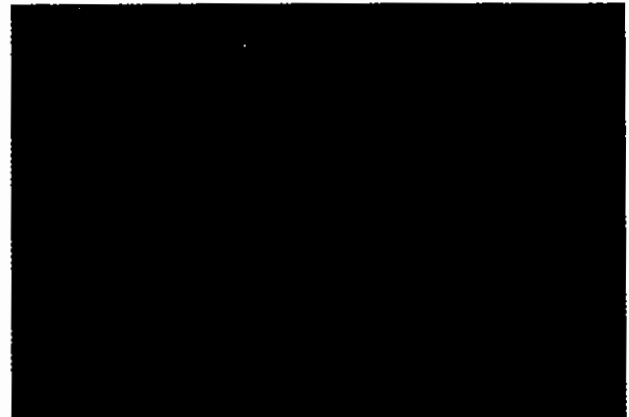
di bagian fisis tulang femur distalis, letak, besar dan tingginya terlihat normal, sebagian spikulum tulang dibagian metafisis masih berbentuk ireguler namun di antara spikulum tulang tidak lagi ditempati jaringan fibroblas tetapi oleh jaringan hematopoietik (Gambar 1, 2 dan 3). Hal ini menunjukkan bahwa konsumsi pakan yang mengandung teri asin selama 5 minggu terus menerus berpengaruh positif terhadap gambaran mikroskopis tulang femur tikus yang pada awalnya menderita osteodistrofia fibrosa. Dari hasil pemeriksaan darah (Tabel 1) menunjukkan bahwa kadar Ca dalam darah tikus kelompok D lebih rendah dan berbeda signifikan dengan kelompok C, kadar P darah tidak berbeda signifikan, dan kadar alkalin fosfatase tikus kelompok D lebih tinggi dan berbeda signifikan dengan kelompok C, meskipun penurunan kadar Ca dan peningkatan kadar alkalin fosfatase darah masih berada dalam kisaran normal, $Ca = 1,8-3,48 \text{ mM}$ dan $Pi = 0,99-3,5 \text{ mM}$ (Kinsell, 1981). Beberapa penelitian yang dilakukan pada tikus dan domba mengindikasikan bahwa gambaran kadar Ca dan P dalam darah mempunyai hubungan yang erat

dengan status nutrisi dan metabolisme Ca dan P. Bilamana hewan menderita defisiensi Ca maka akan dijumpai adanya penurunan kadar Ca dan peningkatan kadar P dalam darah, sedang dalam kondisi hewan mengalami defisiensi P maka akan terjadi keadaan yang sebaliknya (McDowell, 1992; Schoeneseiffen, 1993). Didasarkan pada temuan tersebut maka status kimia darah tikus pada penelitian ini memberi gambaran bahwa metabolisme Ca dan P pada semua tikus percobaan dalam keadaan normal. Peningkatan kadar alkalin fosfatase merupakan indikasi adanya peningkatan aktivitas pembentukan tulang. Menurut Devine *et al.* (1995) tidak ada korelasi antara alkalin fosfatase darah dengan densitas mineral tulang.

Pemeriksaan terhadap gambaran kimiawi tulang yang meliputi densitas abu, densitas matriks, mineralisasi matriks, kadar mineral terutama Ca dan P, serta rasio Ca terhadap P dalam tulang femur antara tikus kelompok C dengan tikus kelompok D tidak berbeda signifikan dan termineralisasi dengan baik (Tabel 1). Hasil penelitian terdahulu yang



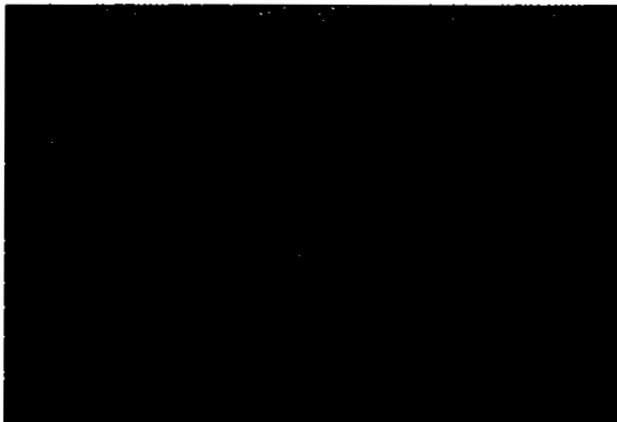
Gambar 1. Tulang femur tikus Sprague Dawley kelompok osteodistrofia fibrosa, a) metaplasia fibroplastik bersifat lokal/ multifokal, b) sel hematopoietik di antara spikulum tulang trabekula diganti jaringan fibroblas, c) spikulum tulang trabekula di bagian metafisis berbentuk ireguler (H & E 10x20)



Gambar 2. Tulang femur tikus Sprague Dawley penderita osteodistrofia fibrosa 5 minggu pasca perlakuan pakan ikan teri tawar (tikus kelompok C), di antara spikulum tulang trabekula terlihat kembali adanya sel hematopoietik, b) spikulum tulang trabekula di bagian metafisis berbentuk ireguler (H & E 10x20)

dilakukan oleh Widiyono dkk. (1998) pada tikus *Rattus norvegicus albinus* sehat maupun penderita osteodistrofia fibrosa umur 4 bulan yang diberi pakan mengandung teri tawar dengan rasio Ca:P = 1,5:1 selama 2 bulan terus menerus juga menunjukkan keadaan mineralisasi tulang yang baik, densitas abu, densitas matriks, mineralisasi matriks, kandungan mineral terutama Ca dan P, serta rasio Ca:P dalam tulang femur yang tidak berbeda signifikan dengan keadaan yang ditemukan pada hewan sehat dan osteodistrofia fibrosa yang diberi pakan kontrol (0,6 gram Ca/100 gram pakan, dan Na 10 g/kg pakan). Greger *et al.* (1987) juga melaporkan bahwa tikus yang mengkonsumsi pakan mengandung Ca 5 g/kg dan suplemen NaCl 21 g/kg, kadar Ca dan P dalam tulangnya tidak menunjukkan perubahan. Sebaliknya resorpsi Ca dari dalam tulang yang disertai peningkatan pembuangan Ca melalui urin akan terjadi ketika pakan yang dikonsumsi mengandung sodium tinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Chan *et al.* (1993) Goulding (1980), Goulding dan Campbell (1983 dan

1984), Goulding dan Gold (1986), Gold dan Goulding (1995) pada hewan percobaan yang diberi asupan garam tinggi (80 g/kg pakan) dalam waktu 10-84 hari menyebabkan peningkatan ekskresi Ca urin dan menurunkan kandungan mineral dalam tulang. Penelitian pada perempuan pascamenopause membuktikan bahwa konsumsi Na mengakibatkan ekskresi Ca lewat urin dan mendorong terjadinya resorpsi tulang (McParland *et al.*, 1989; Need *et al.*, 1991; Goulding, 1980). Hasil pemeriksaan kimia tulang femur kelompok tikus yang awalnya menderita osteodistrofia fibrosa menunjukkan bahwa pemberian ikan teri asin (10 g/kg pakan) selama 5 minggu terus menerus meningkatkan kandungan mineral Ca dan P, serta densitas tulang femur dibandingkan dengan pemberian ikan teri tawar meskipun secara statistik tidak signifikan. Keadaan ini membuktikan bahwa ikan teri asin dapat menjadi pemasok kebutuhan akan Ca dan P. Namun demikian konsumsi ikan teri asin dapat meningkatkan volume urin, dan meningkatkan ekskresi Ca dan Na dalam urin secara signifikan ($P < 0,05$) (Tabel 1). Sedangkan ekskresi P melalui urin meskipun lebih tinggi tetapi tidak berbeda signifikan. Hal tersebut menunjukkan adanya hubungan antara kadar garam dalam pakan dengan meningkatnya volume urin dan kadar Na dan Ca dalam urin. Menurut penelitian yang dilakukan Nordin *et al.* (1993), reabsorpsi Ca oleh ginjal proporsional dengan reabsorpsi Na. Ketika kandungan Na dalam pakan meningkat maka reabsorpsi Na oleh ginjal menurun paralel dengan penurunan reabsorpsi Ca ginjal. Kira-kira ada 1 mM Ca yang diekskresikan untuk setiap 100 mM Na yang diekskresikan. Penelitian yang dilakukan oleh Chan *et al.* (1992), Law *et al.* (1988), Shortt dan Flynn (1990) pada individu sehat juga menunjukkan ada korelasi positif antara konsumsi Na dengan ekskresi Ca dalam urin. Demikian juga penelitian Shortt *et al.* (1988) dan Zarkades *et al.* (1989) pada manusia bahwa peningkatan konsumsi Na menyebabkan peningkatan ekskresi Ca dalam urin. Hal yang sama juga terjadi pada hewan percobaan (Chan and Swaminathan, 1993).



Gambar 3. Tulang femur tikus Sprague Dawley penderita osteodistrofia fibrosa 5 minggu pasca perlakuan pakan ikan teri asin (tikus kelompok D), di antara spikulum tulang trabekula terlihat kembali adanya sel hematopoietik, b) spikulum tulang trabekula di bagian metafisis berbentuk ireguler (H & E 10x20)

Tingginya ekskresi Ca dan Na dalam urin tikus yang mengkonsumsi ikan teri asin perlu mendapat perhatian. Karena kondisi yang demikian kemungkinan dapat menyebabkan munculnya berbagai gangguan dalam jaringan tubuh terutama terjadinya pengendapan atau mineralisasi dalam jaringan pada sistem perkencingan selama pemanfaatan mineral Ca dan P dari ikan teri asin dalam waktu yang lebih lama.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsumsi teri asin selama 5 minggu dapat mendukung mineralisasi tulang tikus penderita osteodistrofia fibrosa, tetapi menyebabkan lebih tingginya ekskresi kalsium dalam urin (kalsiuria).

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Depdiknas yang telah mendanai penelitian ini melalui Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar Nomor : 18/P21PD/DPPM/III/2001 tanggal 15 Maret 2001.

DAFTAR PUSTAKA

- Chan, A. Y.S., Poon, P., Chan, E. L. P., Fung, S. L. M., and Swaminathan, R., 1993. The effect of high sodium intake on bone mineral content in rats fed normal calcium or low calcium diet. *Osteoporosis Int.* 3 : 341-344
- Chan, E. L. P., and Swaminathan, R., 1993. Effect of different amount of sodium intake for 4 mo on calcium metabolism in normal and oophorectomised rats. *J. Bone Min. Res.* 8 : 1185-1189
- Chan, E. L. P., Ho, C. S., McDonald, D., Chan, T. Y. K., and Swaminathan, R., 1992. Interrelationships between urinary sodium, calcium, hydroxyproline and serum PTH in healthy subyects. *Acta endocrinol.* 127:242-245.
- Devine, A., Criddle, R. A., Dick, I. M., Kerr, D, A., and Prince, R. L., 1995. A longitudinal study of the effects sodium and calcium intakes on regional bone density in postmenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.* 62:740-745.
- Gold, E., and Goulding, A., 1995. High dietary salt intake lower bone mineral density in ovariectomized rats : dual X-ray absorptiometry study. *Bone* 16:115S.
- Goulding, A., 1980. Effect of dietary NaCl supplements on parathyroid function, bone turnover and bone composition in rats taking restricted amounts of calcium. *J. Miner. Electrolyte Metab.* 4:203-208.
- Goulding, A., and Campbell, D. R., 1983. Dietary NaCl loads promote calciuria and Bone loss in adult oophorectomised rats consuming a low calcium diet. *J.Nutr.* 113:1409-1414.
- Goulding, A., and Campbell, D. R., 1984. Effects of oral loads of sodium chloride on bone composition in growing rats consuming ample dietary calcium. *Min. Electr. Metab.* 10:58-62.
- Goulding, A., and Gold, E., 1986. Effects of diet sodium chloride loading on parathyroid hormone, 1,25-dihydroxyvitamin D, calcium balance and bone metabolism in female rats during chronic prednisolone administration. *Endocrinol.* 119:2149-2154.
- Greger, J. L., Kraschoc, C. L., and Krzykowski, C. E., 1987. Calcium, sodium and chloride interaction in the rat. *Nutr. Res.* 7:401-412.
- Gunther, R. A., and Rabinowitz, L., 1975. Phosphate (P) excretion in unanesthetized sheep during phosphate and saline loading. *Kidney Int.* 8:399.

- Harris, L.E., 1970. Nutrition Research techniques for domestic and wild animals, vol. Animal Science Dept. Utah State Univ., Logan, Utah.
- Hartiningsih, 1997. Pengaruh variasi imbalanced Ca:P dalam pakan terhadap kadar kalsium dan fosfat darah, serta perubahan tulang pada tikus panhisterektomi, DPP-UGM.
- Hartiningsih dan Wuryastuty, 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.
- Law, L. K., Swaminathan, R., and Donan, S. P. B., 1988. Relationship between sodium excretion and calcium excretion in healthy subjects. *Med. Sci. Res.*, 16:643.
- McDowell, L. R., 1992. Mineral in animal and human nutrition. Academic Press, Inc. Toronto. Pp. 26-487.
- McParland, B. E., Goulding, A., and Campbell, A. J. , 1989. Dietary salt affects biochemical markers of resorption and formation of bone in elderly women. *Br. Med. J.* 299:834-835.
- Need, A.G., Morris, H.A., Cleghorn, D.B., DeNichilo, D., Horowitz, M. and Nordin, B.E.C., 1991. Effect of salt restriction on urine hydroin postmenopausal women. *Arch. Intern. Med.* 151:757-759.
- Nordin, B.E.C. and Polley, K.J., 1987. Metabolic consequences of the menopause. A cross-sectional, longitudinal and intervention study on 557 normal postmenopausal women. *Calcif. Tissue Int.* 41:S1-S60
- Nordin, B.E.C., Need, A.G., Morris, H.A., and Horwitz, M., 1993. The nature and significance of relationship between urinary sodium and urinary calcium in women. *J. Nutr.* 123:1615-1622.
- Ray Sarker, B. C., and Chaunan, U. P. S., 1967. A new method for determining microquantities of calcium in biological material. *Anal. Biochem.* 20, 155.
- Schoenesheiffen, R., 1993. Untersuchungen ueber den ansatz von calcium und phosphorus bei wachsenden ziegen in abhaengigkeit von der versorgung mit diesen elementen. Diss. RFW.Univ.zu Bonn.
- Scott, D., 1972. Excretion of phosphorous and acid in the urine of sheep and calves fed either roughage or concentrate diets. *Quarterly J. Exp. Physiol.* 57:379-392.
- Sellmeyer, D.E., Schloetter, M., and Sebastian, A., 2002. Potassium citrate prevents increased urine calcium excretion and bone resorption induced by a high sodium chloride diet. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87: 2008-2012.
- Shortt, C., and Flynn, A., 1990. Sodium-calcium inter-relationships with specific referece to osteoporosis, *Nut. Res. Reviews.* 3:101-115.
- Shortt, C., Flynn, A., and Morrissey, P. A., 1988. Influence of dietary sodium intake on urinary calcium excretion in selected Irish individual, *Eur. J. Clin. Nutr.* 49:1184-1191.
- Shortt, C., Flynn, A., and Morrissey, P. A., 1987. Effect of dietary sodium chloride supplements on mineral metabolism in the rat. *Irish. J. Food Sci. Tech.* 11: 86.

Hartiningsih, Irkham Widiyono, Hastari Wuryastuty, Hary Purnamaningsih, Pengaruh Pemberian Teri Asin Terhadap Ekskresi Kalsium Urin Dan Mineralisasi Tulang Femur Tikus Penderita Osteodistrofia Fibrosa

Widiyono, I., Wuryastuti, H., dan Hartiningsih, 1998. Pengaruh teri terhadap mineralisasi tulang pada tikus dewasa normal dan tikus penderita osteodistrofi, PPIPD-DIKTI Depdikbud Republik Indonesia 1997/1998.

Zarkades, M., Gougeon-Reyburn, R., Marliss, E. B., Block, E., and Alton-Mackey, M., 1989. Sodium chloride supplementation and urinary calcium excretion in postmenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.* 50:1088-1094.