

## PENGARUH KONSUMSI IKAN TERI TERHADAP MINERALISASI TULANG PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus albinus*)

EFFECT OF "TERI" FISH CONSUMPTION ON BONE MINERALIZATION  
IN RATS (*Rattus norvegicus albinus*)

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

<sup>1</sup> Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Sekip Unit II Yogyakarta 55281

<sup>2</sup> Bagian Ilmu Bedah dan Radiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Sekip Unit II Yogyakarta 55281  
Telp./Fax. (0274) 563083

### ABSTRAK

Pengaruh konsumsi ikan teri terhadap mineralisasi tulang telah diteliti pada tikus dewasa normal (sehat) dan penderita osteodistrofia umur 4 bulan. Osteodistrofia pada hewan penelitian ini diinduksi dengan pemberian pakan yang mengandung fosfor (P) tinggi dan kalsium (Ca) cukup. Pakan perlakuan (pakan teri) dibuat dari tepung jagung, tepung kedelai dan tepung teri yang memiliki kandungan Ca dan P sebanyak masing-masing 0,5% dan 0,65%. Kandungan ikan teri dalam pakan tersebut adalah 20% (b/b). Sebagai pakan kontrol adalah pakan yang tersusun dari tepung jagung, tepung kedelai, CaCO<sub>3</sub> dan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dan mempunyai kandungan Ca dan P yang sama dengan pakan teri. Perlakuan pakan berlangsung selama 2 bulan secara terus menerus. Pada minggu terakhir dilakukan studi balans Ca dan P. Pada hari terakhir penelitian dilakukan pengambilan sampel darah. Selanjutnya hewan dietanasi dan dilakukan koleksi tulang femur. Hasil pemeriksaan kimia darah, berat badan dan tulang femur (panjang, berat kering, densitas abu, mineralisasi tulang, kandungan Ca dan P) menunjukkan bahwa semua parameter dalam batasan normal dan tidak menunjukkan adanya perbedaan diantara kelompok perlakuan pakan tersebut. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsumsi ikan teri tidak menimbulkan efek negatif terhadap metabolisme Ca dan P serta mineralisasi tulang, baik pada individu normal (sehat) maupun yang mengalami gangguan patologik tulang (osteodistrofia).

**Kata kunci:** fosfat, ikan teri, kalsium, mineralisasi tulang, tikus

### ABSTRACT

Effect of "Teri" fish consumption on bone mineralization was studied in normal (healthy) and osteodystrophy suffered adult rats (4 months old). Osteodystrophy was induced by feeding high P and adequate Ca diet. The animals were fed either the "teri diet" that consists of corn meal, soy bean meal and "Teri" fish meal (20%, w/w) or the control diet that consists of corn meal, soybean meal, CaCO<sub>3</sub> and NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> for 2 months. This diets had the similar content of Ca (0.5%) and P (0.65%). Feeding the "Teri" fish for 2 months had no negative effects on Ca and P metabolism both in healthy and osteodystrophy suffered rats. The body weight, blood parameter, physical and chemical parameters of femur (length, dry fat free weight, ash density, matrix mineralization and mineral content) in the animals fed "Teri" fish were not different from the same parameters on the groups fed control diet. The diets ("Teri" fish and control diet) did not induce any negative effect in bone mineralization. Based on the results it could be concluded that feeding "Teri" fish did not induce any negative effect on Ca, P and bone metabolism either in healthy individu or individu with bone degeneration (osteodystrophy).

**Key words:** calcium, bone mineralization, phosphate, "Teri" fish, rat

## PENDAHULUAN

Berbagai gangguan degeneratif tulang baik pada manusia maupun hewan dewasa/tua, yang berkaitan dengan status mineral kalsium (Ca) dan fosfor (P) dalam tubuh dan ditandai dengan adanya ketidakseimbangan antara proses pengendapan dan resorpsi tulang, hingga saat ini masih menjadi permasalahan baik di negara maju maupun berkembang. Ketidak-seimbangan pada tulang tersebut berakibat terjadinya demineralisasi tulang (osteomalasia) atau atrofi tulang (osteoporosis) (McDowell, 1992). Faktor yang menyebabkan munculnya gangguan tersebut adalah defisiensi mineral-mineral tersebut akibat rendahnya kandungan dalam pakan/makanan, kesalahan imbalanced Ca:P ataupun hal-hal lain yang menyebabkan rendahnya absorpsi mineral melalui dinding usus seperti ketunaan (McDowell, 1992; Tolstoi dan Levin, 1992; Siegenthaler, 1994). Selain itu perubahan status asam-basa darah yang menuju kearah asidosispun juga mempengaruhi terjadinya peningkatan resorpsi tulang dan pembuangan mineral Ca melalui urin (Scott *et al.*, 1993).

Salah satu makanan/pakan yang telah diketahui sebagai sumber protein yang baik dan memiliki kandungan Ca dan P yang tinggi dan dengan imbalanced yang sangat baik (1:1 - 2:1) adalah ikan laut. Sebagai contoh, ikan teri kering memiliki kandungan protein, Ca dan P masing-masing sebesar 32,5 - 68,7 g%, 1000 - 2381 g% dan 1000 - 1500 g% (Anonim, 1996). Pada saat ini studi tentang penggunaan hasil laut berupa ikan dalam kaitannya dengan metabolisme Ca dan P, pemenuhan kebutuhan mineral atau gangguan degeneratif pada tulang masih sedikit dilakukan dan baru dilakukan pada hewan ruminansia (domba dan pedet). Penggunaan tepung ikan (tanpa disebutkan macam/jenis ikan yang dijadikan sebagai bahan dasar) sebagai konsentrat pada hewan-hewan ini ternyata menimbulkan peningkatan keasaman darah dan urin (pH urin biasanya alkalis) dan peningkatan pembuangan P melalui urin (Scott, 1972). Lebih dari itu, hasil penelitian pada domba juga menunjukkan bahwa peningkatan keasaman darah dapat menimbulkan peningkatan resorpsi tulang dan ekskresi Ca dalam urin (Scott *et al.*, 1993). Oleh sebab itu, dalam kaitannya dengan konsumsi ikan dan kemungkinan pemanfaatannya untuk tujuan

tersebut diatas pada hewan monogastrik/manusia masih harus diteliti. Penelitian dengan pemberian tepung ikan teri pada tikus sebagai hewan model kali ini dimaksudkan untuk mengkaji efek konsumsi ikan teri selama 2 bulan terhadap mineralisasi tulang pada individu dewasa normal dan penderita osteodistrofia.

## MATERI DAN METODE

Dalam penelitian ini digunakan 10 ekor tikus (*Rattus norvegicus albinus*) betina dewasa normal umur 4 bulan dan 10 ekor tikus betina dewasa penderita osteodistrofia umur 4 bulan. Hewan-hewan penderita osteodistrofia dipersiapkan dengan pemberian pakan dengan kandungan P tinggi selama 1,5 bulan sejak hewan berumur 2,5 bulan sebagaimana yang dilakukan oleh Hartiningsih dan Wuryastuti (1996).

Pakan teri dibuat dari tepung jagung, tepung kedelai dan tepung ikan teri (kandungan protein, Ca dan P tepung teri masing-masing sebesar 60,4 g%, 2,26 g% dan 1,89 g%). Kadar ikan teri dalam pakan tersebut setinggi 20% (b/b). Sebagai kontrol digunakan pakan yang dibuat dari tepung jagung, tepung kedelai, CaCO<sub>3</sub> dan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Hasil analisis pakan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis pakan

Komponen	Konsentrasi (g/100 g BK)	
	Pakan Kontrol	Pakan Teri
Protein	22,21	41,75
Lemak	9,26	14,39
Serat kasar	2,88	4,51
Ca	0,50	0,66
P	0,62	1,43

Setibanya di laboratorium hewan ditempatkan dalam kandang individual pada suhu ruangan 25°C dan diberi pakan kontrol setiap hari sebanyak 10% berat badan serta air minum secara *ad libitum*. Pada umur 4 bulan hewan normal dibagi secara acak kedalam subkelompok A dan subkelompok B, masing-masing 5 ekor. Demikian pula pada kelompok hewan penderita osteodistrofia dibagi menjadi 2 subkelompok C dan D yang terdiri masing-masing 5 ekor hewan. Hewan pada kelompok A dan C diberi pakan teri, sedang pada

kelompok B dan D memperoleh pakan kontrol, masing-masing sebanyak kurang lebih 10% berat badan per hari. Pemberian pakan berlangsung selama 2 bulan secara terus menerus. Pada hari terakhir dilakukan pengambilan darah dari jantung dan ditampung dalam tabung heparin untuk pemeriksaan elektrolit. Setelah hewan dibunuh, tulang femur diambil dan dibersihkan untuk pemeriksaan fisik maupun pemeriksaan kimiawi.

Kalsium diperiksa dengan menggunakan metode o-kresophthalein-komplexon (Ray Sarker dan Chaunan, 1967) sedang P anorganik diperiksa

dengan menggunakan uji faktorial untuk menguji perbedaan-perbedaan antar perlakuan. Perbedaan dinyatakan signifikan bilamana  $p < 0,05$  (Gomez dan Gomez, 1984).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan kimia darah disajikan pada Tabel 2. Kadar Ca dan fosfor anorganik ( $P_i$ ) pada kelompok kontrol dan demikian pula pada kelompok perlakuan pakan teri masing-masing berada pada batasan kadar plasma fisiologis normal,

Tabel 2. Rerata berat badan dan hasil pemeriksaan fisika dan kimia darah dan tulang tikus normal (sehat) dan penderita osteodistrofia yang diberi pakan teri dan kontrol ( $\bar{x} \pm SD$ ,  $n=5$ )

Parameter	Hewan Sehat		Penderita Osteodistrofi		Signifikansi faktor varians		
	Pakan Teri	Pakan Kontrol	Pakan Teri	Pakan Kontrol	Kesehatan	Pakan Teri	K x P
Berat badan (g)	259,60±15,42	255,40±23,33	207,20±7,05	222,40±12,58	*	Ns	ns
<b>Darah</b>							
Ca (mM)	2,42±0,05	2,54±0,08	2,3±0,29	2,37±0,16	ns	ns	ns
P (mM)	1,98±0,25	1,97±0,36	1,72±0,32	1,55±0,32	*	ns	ns
<b>Tulang Femur</b>							
Panjang (cm)	3,50±0,05	3,44±0,10	3,20±0,29	3,27±0,09	*	ns	ns
Berat Kering (g)	0,392±0,025	0,385±0,022	0,354±0,018	0,356±0,013	*	ns	ns
Volume (ml)	0,38±0,03	0,38±0,03	0,35±0,03	0,35±0,00	*	ns	ns
Abu (%BK)	70,17±0,30	70,00±0,23	69,07±0,91	69,46±0,50	*	ns	ns
Densitas abu (g/ml)	0,73±0,03	0,71±0,05	0,68±0,08	0,71±0,03	ns	ns	ns
Mineralisasi (g/g)	2,35±0,03	2,33±0,03	2,33±0,09	2,27±0,05	*	ns	ns
Ca (mg/gBK)	38,30±2,44	38,86±2,17	42,47±2,31	42,03±0,40	ns	ns	ns
P (mg/gBK)	18,65±3,57	19,05±3,36	19,14±0,83	20,26±1,33	ns	ns	ns
Rasio Ca:P	1,99±0,28	2,07±0,23	2,22±0,03	2,09±0,26	ns	ns	ns
<b>Urin</b>							
PH	9,05±0,04	9,10±0,03	9,18±0,02	9,20±0,02	*	ns	ns

BK = berat kering, \* = signifikan,  $p < 0,05$ , ns = non signifikan

dengan metode molibdat-vanadat (Kruse-Jarres, 1979). Pemeriksaan Ca dan P anorganik dalam plasma dan tulang juga dilakukan dengan metode yang sama pH urin diukur dengan pH-meter (WTW). Pengabuan pakan, tinja dan tulang dilakukan dengan metoda yang diterangkan oleh Harris (1970). Densitas abu, mineralisasi matrik dan kadar mineral tulang dianalisis dengan cara yang digunakan oleh Field *et al.* (1975). Data dianalisis

Ca: 1,8 - 3,48 mM dan  $P_i$ : 0,99 - 3,5 mM (Kinsell, 1981). Kandungan protein yang lebih tinggi pada pakan teri (37%) dibanding dalam pakan kontrol (20%) tidak menimbulkan perubahan pada kadar Ca plasma. Hasil ini senada dengan hasil penelitian Suzuki dan Fuwa (1972) pada tikus yang menunjukkan bahwa peningkatan kadar protein pakan dari 25% -75% tidak menimbulkan perubahan kadar Ca serum. Beberapa penelitian

yang dilakukan pada tikus dan domba mengindikasikan bahwa gambaran kadar Ca dan P<sub>i</sub> dalam darah mempunyai hubungan yang erat dengan status nutrisi dan metabolisme Ca dan P. Bilamana terjadi defisiensi Ca maka akan dijumpai adanya penurunan kadar Ca dan peningkatan kadar P dalam darah, sedang bila seekor hewan mengalami defisiensi P maka akan terjadi adanya keadaan yang sebaliknya (McDowell, 1992; Field *et al.*, 1975; Schoeneseiffen, 1993). Didasarkan pada temuan tersebut maka status kimia darah tikus pada penelitian kali ini memberi gambaran bahwa metabolisme Ca dan P pada semua hewan percobaan dalam keadaan normal. Lebih dari itu, status kimia darah dan gambaran pertumbuhan/berat badan pada kelompok hewan yang diberi pakan teri yang tidak berbeda dengan kelompok hewan yang memperoleh pasokan mineral dari sumber lain (CaCO<sub>3</sub> dan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (Tabel 2) pada penelitian kali ini juga menggaris bawahi adanya pasokan mineral Ca dan P dari bahan pakan/makanan sumber mineral Ca dan P berupa ikan teri yang cukup baik, baik pada individu normal maupun individu yang pada awalnya menderita osteodistrofia.

Pemberian pakan teri tidak menimbulkan perbedaan fisik (panjang, volume dan berat kering tulang femur) maupun kimiawi tulang femur, baik pada kelompok hewan sehat maupun yang awalnya menderita osteodistrofia (Tabel 2). Howe dan Beecher (1983) menemukan bahwa pada tikus *Sprague Dawley* pemberian pakan berprotein tinggi (45%) selama 7 minggu terus-menerus dapat menimbulkan efek terhadap pertumbuhan tulang femur yang bervariasi, tergantung status kehidupan hewan. Pada tikus muda yang sedang tumbuh cepat, pakan dengan protein tinggi tidak mempengaruhi ukuran panjang tulang femur, sedang pada hewan yang lebih tua (19 minggu) pakan tersebut menyebabkan hambatan pertumbuhan tulang. Berbeda dengan hasil penelitian tersebut, pemberian pakan teri (20%, b/b) dengan kandungan protein 37% pada tikus *Rattus norvegicus albinus* selama 8 minggu sejak umur 4 bulan dalam penelitian ini tidak menimbulkan perbedaan fisik (panjang, volume, dan berat kering tulang) maupun kimiawi tulang femur (Tabel 2). Ukuran panjang tulang femur tidak berbeda antara kelompok pakan teri dan kontrol. Hal ini kemungkinan disebabkan karena

kadar protein yang diberikan lebih rendah atau adanya fase pertumbuhan dan respon yang berbeda antara hewan percobaan yang digunakan. Lebih dari itu, pemeriksaan kimiawi tulang menunjukkan bahwa pengaruh negatif dari konsumsi ikan teri selama 2 bulan terus menerus tidak dijumpai dalam penelitian ini. Pemeriksaan kadar abu tulang pada hewan penelitian tersebut menunjukkan bahwa kadar abu mencapai 70% dari berat kering tulang bebas lemak pada hewan normal dan 69% pada hewan yang pada awal penelitian menderita osteodistrofia. Kadar abu pada tikus penelitian ini dapat dikategorikan sangat baik karena telah diketahui bahwa, dalam keadaan normal, 70% berat kering jaringan tulang hewan mammalia tersusun dari bahan-bahan inorganik (Taylor *et al.*, 1971). Selanjutnya, pemeriksaan densitas abu, tingkat mineralisasi matriks, kandungan mineral dan rasio Ca:P tulang femur (2:1) pada hewan yang memperoleh pakan teri menunjukkan keadaan mineralisasi tulang yang baik dan tidak berbeda dengan keadaan yang ditemukan pada hewan yang diberi pakan kontrol (Tabel 2). Berdasarkan penelitian Schoeneseiffen (1993) dan Field *et al.* (1975) yang menegaskan adanya penurunan kadar abu tulang femur, kadar abu dari keseluruhan tubuh dan kadar kandungan mineral tulang pada kambing dan domba dewasa yang memperoleh pakan rendah mineral Ca dan atau P selama 2 bulan atau lebih serta terjadinya pergeseranimbangan Ca:P yang lebih kecil dari 2 bilamana hewan mengkonsumsi pakan rendah Ca atau menjadi jauh lebih besar dari 2 bilamana hewan tersebut mengkonsumsi pakan rendah Ca atau menjadi lebih besar dari 2 apabila hewan mengalami defisiensi P, maka dapat diteguhkan lagi bahwa status metabolisme Ca, P dan tulang tidak mengalami gangguan bilamana hewan mengkonsumsi ikan teri bersama pakan setinggi 20% selama 2 bulan. Tidak adanya dampak negatif konsumsi ikan teri terhadap mineralisasi tulang dalam penelitian ini kemungkinan besar juga dapat dihubungkan dengan tidak ditemukannya perubahan keasaman cairan tubuh bilamana individu mengkonsumsi pakan teri (Tabel 2).

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsumsi ikan teri tidak menimbulkan dampak negatif khususnya yang berkaitan dengan metabolisme Ca dan P serta mineralisasi tulang, baik pada individu normal maupun penderita

osteodistrofia. Oleh sebab itu, ikan teri dapat digunakan sebagai pemasok Ca dan P yang baik pada hewan monogastrik.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Dit. Binlitabmas, Ditjen Dikti, Depdikbud. Republik Indonesia yang telah memberikan dukungan dana penelitian melalui dana Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar tahun anggaran 1997/1998 dengan kontrak No.29/PPIP/DPPM/97/PPIP/1997.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1996. Daftar komposisi bahan makanan. Bhatara, Jakarta.
- Bell, D.J. dan B.M. Freeman, 1971. Physiology and biochemistry of the domestics fowl, vol. 2. Academic Press, London, New York. pp. 622-660.
- Gomez, K.A. dan Gomez, A.A., 1984. Statistical Procedures for Agricultural Research, 2<sup>nd</sup>. John Willey & Sons Inc., New York.
- Gray, C.H, P.J.N. Howorth dan M.G. Rinsler, 1985. Clinical chemical pathology, 10th ed. Edward Arnold Ltd., London, pp. 113-137.
- Gunther, R.A. dan L. Rabinowitz, 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. 1. Animal Science Dept. Utah State Univ., Logan, Utah.
- Hartiningsih dan H. Wuryastuti, 1996. Pengaruh variasi imbalanced Ca:P dalam pakan terhadap kadar alkalin fosfatase, Ca dan P dalam darah dan perubahan tulang pada tikus putih. *Bul. FKH-UGM XIV (2)*: 93-102.
- Howe, J.C. dan G.R Beecher, 1983. Dietary protein and phosphorus: Effect on calcium and phosphorus metabolism in bone, blood and muscle of the rat. *J. Nutr.* 113: 2185-2195.
- Kinsell, R., 1981. Formulary. Purdue Univ. School of Vet. Medicine.
- Kruse-Jarres, J.D., 1979. Klinische Chemie, Band II, Spezielle klinisch-chemische Analytik. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
- Lewis, L.D., M.L. Morris dan M.S. Hand, 1992. Small animal clinical nutrition III. Mark Morris Associate, Topeka, Alkansas. pp. 8-10.
- McDowell, L.R., 1992. Minerals in animal and human nutrition. Academic Press, Inc., San Diego, New York, Boston, London, Sydney Tokyo, Toronto. pp. 26-487.
- Ray Sarker, B.C. dan Chaunan, U.P.S., 1967. A new Method for determining microquantities of calcium in biological materials. *Anal. Biochem.* 20, 155.
- Schoeneseiffen, 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 phosphorus and acid in the urine of sheep and calves fed either roughage or concentrate diets. *Quarterly J. Exp. Physiol.* 57: 379-392.
- Scott, D., Loveridge, N., Abu Damir, H., Buchan, W dan Milne, J., 1993. Effects of acute acid loading on parathyroid hormone

secretion and on urinary calcium and cAMP excretion in the growing lamb. *Exp. Physiol.* 78: 157-63.

Siegenthaler, W., 1994. *Klinische Pathophysiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York. pp. 279-301.

Suki, W.W., M. Martinez-Mardonado, D. Rouse dan A. Terry, 1968. Effect of expansion of extracellular fluid volume on renal phosphate handling. *J. Clin. Invest.* 48: 1888-1894.

Suzuki, H dan H. Fuwa, 1972. Comparison of effects of dietary calcium and magnesium depletion on renal glucose phosphate activity of rats fed high protein and high carbohydrate diets. *J. Nutr.* 102: 1615-1622.

Tolstoi, L.G. dan Levin, R.M., 1992. Osteoporosis-treatment controversy. *Nutrition Today* July/Aug.: 6-12.

Young, V.R., Luick, J.R. dan Lofgreen, G.P., 1966. The influence of dietary phosphorus intake on the rate of bone metabolism in sheep. *Br. J. Nutr.* 20: 727-32.