



Pengaruh Kalsium dan Vitamin D₃ Terhadap Stabilitas Tulang Alveolar - Studi pada Tikus Jantan Putih (*Rattus Norvegicus*)

Saifuddin Ali Anwar *

ABSTRACT

The effect of calcium and vitamin D₃ on alveolar bone stability - The study in white male Rattus Norvegicus rats.

Background: Calcium and vitamin D₃ play important roles in the development and stability of alveolar bone that hold teeth. Alveolar bone stability is very important for successful outcome of orthodontic and prostodontic treatment.

Objective: This study aimed to analyze the effect of calcium and vitamin D₃ supplementation on different dosages on the alveolar bone stability.

Methods: A post test-only control group design experiment was carried out on white rats (*Rattus norvegicus* Wistar strain). The treatments were 20% calcium reduction in the diet (P₁) and supplementation of 20% (P₂); 40% (P₃) and 60% (P₄) calcium to the standar diet given to control group. Alveolar bone stability was assessed by calcium contents, the number of osteocytes and weight of alveolar bone which were measured by AAS methode, histologic examination using hematoxylin and eosin staining on two microscopic fields of lamella Haversi region of alveolar bone and weighing of upper incisivus region of alveolar bone respectively. Data were analysed using t.test, Anova and LSD.

Results: There were no difference on the calcium content of the alveolar bone among the 5 experimental groups (F=0.290, p=0.881). The number of osteocytes were different among as well as between the groups (F=9.685; p=0.000). There were differences of alveolar bone weight among the groups (F=10.901; p=0.000) while the weight were only significantly increase in the groups which given 40% (P₃) and 60% (P₄) calcium supplements this difference was not occured in the group which given 20% calcium supplements compare to the control group. There was no difference of alveolar weight between P₃ and P₄ groups.

Conclusions: Supplementation of calcium and vitamin D₃ 20%, 40% and 60% above the standard diet give different result in 2 parameters of bone stability.

Keywords: Calcium, vitamin D₃, alveolar bone weight.

ABSTRAK

Latar belakang: Kalsium dan vitamin D₃ berperan dalam pembentukan dan stabilitas tulang alveolar yang berfungsi sebagai penyangga gigi. Stabilitas tulang alveolar berperan dalam keberhasilan perawatan ortodontik dan prostodontik. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji perbedaan pengaruh suplementasi kalsium dan vitamin D₃ pada berbagai takaran terhadap stabilitas tulang alveolar pada hewan coba.

Metode: Dilakukan suatu penelitian eksperimental dengan rancangan the post test-only control group, menggunakan hewan coba tikus jantan (*Rattus norvegicus* galur Wistar). Perlakuan yang diberikan berupa pengurangan kalsium 20% (P₁) dan penambahan 20% (P₂), 40% (P₃) dan 60% (P₄) kalsium dalam pakan. Stabilitas tulang alveolar dinilai dengan parameter kadar kalsium, jumlah osteosit dan berat tulang alveolar, yang secara berurutan diukur dengan metoda SSA, dihitung secara histologik dengan pengecatan hematoksilin dan eosin pada dua lapang pandang lamela Haversi regio insisivus atas dan penimbangan tulang alveolar regio incisivus atas. Data di analisis menggunakan uji t, Anova dan LSD.

Hasil: Tidak ada perbedaan yang bermakna pada kadar kalsium tulang alveolar di antara 5 kelompok penelitian (F=0,290; p=0,881). Jumlah osteosit berbeda bermakna di antara kelompok dan antara kelompok perlakuan (F=9,685, p=0,000).

* Bapelkes Salaman, Jl. Raya Salaman 48, Magelang

Berat tulang alveolar berbeda di antara kelompok ($F=10,901$; $p=0,000$). Hasil uji antar kelompok menunjukkan tulang alveolar menjadi lebih berat dengan perbedaan bermakna pada penambahan kalsium 40% (P_3) dan kalsium 60% (P_4), yang belum nampak pada penambahan kalsium 20% kalsium (P_2) dibanding kelompok yang memperoleh pakan standar. Meski-

PENDAHULUAN

Stabilitas tulang alveolar sangat diperlukan dalam bidang kedokteran gigi, karena mempengaruhi keberhasilan perawatan ortodontik dan prostodontik. Kalsium dan vitamin D₃ berperan sangat penting dalam pembentukan dan stabilitas tulang alveolar, agar fungsi dan manfaat tulang alveolar optimal. Peran tulang alveolar dalam rangka perawatan prostodontik untuk mengembalikan fungsi pengunyahan, bicara dan estetik, saat ini semakin dibutuhkan. Hal ini karena proyeksi jumlah populasi lanjut usia di Indonesia dari tahun 2015 sampai dengan tahun 2020 adalah sekitar 10%-12,5% dari total penduduk Indonesia¹, sehingga kebutuhan perawatan prostodontik makin meningkat. Selain itu, sensus kesehatan rumah tangga tahun 1995 menunjukkan bahwa pada kelompok usia 65 tahun, individu yang memiliki jumlah gigi 20 adalah 71%, sedangkan penduduk tidak bergigi sebanyak 23,6%, dan mereka berisiko mengalami resorpsi tulang alveolar.²

Untuk mendapatkan keseimbangan antara hubungan oklusal, tercapainya estetik dari gigi-gigi dan tulang fasial, diperlukan stabilisasi hasil perawatan ortodontik. Untuk memelihara serta menjaga stabilitas tulang alveolar dan mengurangi risiko resorpsi, perlu ditingkatkan kualitas tulang dengan mempertahankan kadar mineral tulang, misalnya kalsium untuk proses kalsifikasi. Kalsifikasi adalah proses mengerasnya jaringan organik karena pengendapan, diantaranya kalsium dan fosfor, pada jaringan osteoid sehingga terjadi tulang. Peran osteosit dalam memelihara serta menjaga stabilitas tulang alveolar, dimulai sewaktu jaringan osteoid terbentuk. Beberapa osteoblas terperangkap dalam osteoid dan selanjutnya disebut osteosit, mulai mengendap pada serat-serat kolagen. Pengendapan dimulai pada serat kolagen, semakin lama semakin banyak sehingga terjadi pengerasan dan pematangan tulang.

Sebagian penduduk Indonesia mempunyai risiko kekurangan kalsium karena konsumsi susu sebagai sumber utama kalsium berhenti sekitar usia 2-5 tahun, sehingga dapat diasumsikan kepadatan tulang optimal (*optimal bone density*) dan massa tulang optimal tidak tercapai. Kualitas tulang yang baik memerlukan vitamin D₃ agar memperoleh kalsium yang optimal, karena tanpa vitamin D₃, usus manusia hanya mampu menyerap 10-15% kalsium yang berasal dari makanan. Apabila masukan

pun demikian berat tulang alveolar kelompok P_3 tidak berbeda dengan P_4 .

Simpulan: Suplementasi kalsium dan vitamin D₃ sebesar 20%, 40% dan 60% di atas pakan standar memberikan perbedaan dalam 2 parameter stabilitas tulang.

dan sintesis vitamin D₃ cukup, maka penyerapan kalsium dapat mencapai 30%. Pada masa pertumbuhan dan kehamilan penyerapan kalsium dapat mencapai 80%. Diet cukup kalsium selama pertumbuhan akan meningkatkan masa tulang optimal (*peak bone mass*), tetapi diet kalsium di atas kebutuhan tidak akan menaikkan masa tulang optimal.³ Masyarakat Indonesia kemungkinan dapat juga mengalami hambatan dalam sintesis vitamin D₃, antara lain oleh karena penggunaan obat-obatan tertentu, penyakit, usia, gaya hidup dan lain-lain. Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui pengaruh suplementasi kalsium dan vitamin D₃ dengan berbagai takaran terhadap stabilitas tulang alveolar.

METODE

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimen laboratorik, dengan rancangan *the post test-only control group*. Penelitian menggunakan hewan coba (tikus putih jantan *Rattus norvegicus strain Wistar*), umur 30 hari yang baru disapih, sejumlah 30 ekor. Hewan coba tersebut dibagi dalam 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor. Sebelum perlakuan, sebagai penelitian pendahuluan, masing-masing kelompok hewan coba secara acak diambil satu ekor dianalisis dan diperiksa untuk mengetahui kadar kalsium, berat tulang alveolar dan jumlah osteosit dalam tulang alveolar. Penelitian 25 ekor hewan coba selanjutnya berupa pemberian suplemen vitamin D₃ dan kalsium dengan sonde per oral/hari dari kaplet Calc Os yang mengandung 500 mg kalsium dan 125 IU vitamin D₃, dengan dosis konversi yang diberikan adalah 0,018 Calc Os = kalsium 9 mg vit D₃ 2,25 IU. Kelompok K kontrol (+) hanya diberi pakan standar. Kelompok P₁ kontrol (-) diberi pakan standar dengan menurunkan 20% suplemen kalsium dan vitamin D₃ dengan cara mengencerkan dosis konversi (20 ml Calc Os dalam 80 ml air). Kelompok P₂, P₃, P₄, masing-masing diberi pakan standar ditambah 20%, 40%, 60% suplemen kalsium dan vitamin D₃. Setelah berumur 56 hari hewan coba dimatikan dan dianalisis. Kadar kalsium tulang alveolar diukur dalam $\mu\text{gr}/100$ gram (dalam %) dengan menggunakan metode SSA (Spektrofotometri Serapan Atom). Butir sel osteosit dihitung dalam satuan ukuran pada dua lapang pandang dengan skala 2 μ dalam lamela Haversi matrik tulang alveolar rahang atas pada regio insisivus dengan

tebal sayatan 6µ, dengan pembesaran mikroskop cahaya 40x tiap kelompok. Berat tulang alveolar diukur dalam satuan miligram dengan volume sampel 5 mm³, diambil dari regio insisivus pada rahang atas masing-masing kelompok.

HASIL

Subyek penelitian dipilih dengan randomisasi sederhana sehingga sampel yang terpilih dapat mewakili dan diterapkan pada seluruh kelompok perlakuan sehingga dapat digeneralisasikan, walaupun hanya untuk hewan coba yang sama. Secara klinis tikus sebelum dan sesudah perlakuan tampak sehat, sehingga tidak nampak efek samping, dan semuanya tidak ada yang *drop out*. Analisis data melalui pentahapan yang berurutan, yaitu dimulai dengan uji homogenitas dengan uji varians data *Levene Statistic*, hasilnya bahwa hewan coba dari berbagai kelompok penelitian berada pada kondisi awal yang sama ($p>0,05$). Pada semua variabel tergantung dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan uji Kolmogorov Smirnov dan didapatkan bahwa semua variabel tergantung berdistribusi normal ($p>0,05$). Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa data yang didapat dari penelitian ini memenuhi syarat untuk dilakukan uji statistik parametrik.

Tabel 1. Rerata dan simpang baku kadar kalsium tulang alveolar pada hewan coba

Kelompok	n	Kadar kalsium (%)				
		\bar{x}	SB	F	db	p
K	5	6,4	0,87	0,290	4	0,881
P ₁	5	5,9	0,16			
P ₂	5	6,4	0,86			
P ₃	5	6,4	1,09			
P ₄	5	5,8	0,99			

Hasil uji Anova menunjukkan, kadar kalsium tulang alveolar tidak berbeda antara berbagai kelompok perlakuan (Tabel 1).

Tabel 2. Rerata dan simpang baku jumlah osteosit pada berbagai kelompok hewan coba

Kelompok	n	Jumlah osteosit (butir sel) pada tikus umur 56 hari				
		\bar{x}	SB	F	db	p
K	5	106,4	3,65	9,685	4	0,000
P ₁	5	87,2	6,38			
P ₂	5	117,6	2,70			
P ₃	5	129,8	5,80			
P ₄	5	134,6	2,07			

Hasil uji Anova menunjukkan jumlah osteosit berbeda bermakna di dalam kelompok (Tabel 2).

Tabel 3. Hasil uji LSD antar kelompok pada variabel jumlah osteosit

Perlakuan	K	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
K		*	*	*	*
P ₁	*		*	*	*
P ₂	*	*		*	*
P ₃	*	*	*		*
P ₄	*	*	*	*	

Keterangan : * = Berbeda nyata (bermakna)

Dari hasil uji LSD didapatkan perbedaan yang bermakna antar rerata jumlah sel osteosit berbagai kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol berbeda secara bermakna dengan kelompok P₁, P₂, P₃, dan kelompok P₁ berbeda bermakna dengan kelompok P₂, P₃, P₄ (Tabel 3).

Tabel 4. Rerata dan simpang baku berat tulang alveolar pada berbagai kelompok hewan coba

Kelompok	n	Berat tulang alveolar tikus (gram)				
		\bar{x}	SB	F	db	p
K	5	0,5	0,089	10,901	4	0,000
P ₁	5	0,4	0,065			
P ₂	5	0,6	0,109			
P ₃	5	0,7	0,120			
P ₄	5	0,8	0,121			

Hasil uji Anova menunjukkan jumlah berat tulang alveolar dalam kelompok menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Tabel 5. Hasil uji LSD antar kelompok variabel jumlah berat tulang alveolar

Perlakuan	K	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
K		TBN	TBN	*	*
P ₁	TBN		*	*	*
P ₂	TBN	*		TBN	*
P ₃	*	*	TBN		TBN
P ₄	*	*	*	TBN	

Keterangan : TBN = Tidak beda nyata (tidak bermakna)
* = Berbeda nyata (bermakna)

Hasil uji LSD menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar rerata berat tulang alveolar kelompok kontrol dengan P₃ dan P₄. Selanjutnya kelompok P₁ berbeda bermakna dengan kelompok P₂, P₃, P₄, kemudian kelompok P₂ berbeda bermakna dengan kelompok P₄.

Meskipun demikian tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan P₁, dan P₂, selanjutnya kelompok P₃, tidak berbeda dengan kelompok P₂, P₄ (Tabel 5).

PEMBAHASAN

Desain penelitian ini dipilih karena rancangan tersebut secara teknis lebih sederhana, ekonomis, dan lebih alamiah. Selain itu, rancangan penelitian ini cukup adekuat karena memenuhi lima kriteria rancangan penelitian yaitu relevan, objektif, valid, reliabel, ekonomis.

Penelitian ini diawali dengan pemilihan hewan coba, yaitu dengan randomisasi sederhana. Pengelompokan subyek penelitian dilakukan dengan memilih hewan coba secara acak, sehingga variabel-variabel luar dan sumber invaliditas hampir semuanya terkendali. Pada penelitian ini stabilitas tulang alveolar benar-benar hanya terjadi karena pemberian suplemen kalsium dan vitamin D₃. Selain itu, adanya kemungkinan faktor-faktor perancu, bias dan variabel luar sudah dapat diatasi dalam desain penelitian. Faktor lain yang meliputi genetik, jenis kelamin, usia, penyakit yang ada, dapat dikendalikan dengan menggunakan hewan coba satu galur, dengan semua hewan coba jenis kelamin jantan dengan kondisi sehat. Efek perlakuan suplemen pada penelitian ini merupakan efek kombinasi, yakni dari gabungan vitamin D₃ dan kalsium yang bersifat sinergis, karena vitamin D₃ berperan meningkatkan penyerapan kalsium dalam usus halus. Suplemen makanan hewan coba yaitu kalsium dan vitamin D₃ dalam penelitian ini ada dalam satu kaplet yaitu Calc-Os, dengan rincian setiap kaplet mengandung 500 mg kalsium dan 125 IU vitamin D₃. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengamatan apakah suplementasi kalsium ataukah vitamin D₃ yang paling berpengaruh dalam stabilitas tulang alveolar.

Pada pembentukan matrik tulang, kandungan mineral kalsium akan menentukan mineralisasi dan kalsifikasi yang nantinya akan menentukan kepadatan tulang. Pemberian kalsium dan vitamin D₃ berbagai dosis pada hewan coba, menunjukkan tidak ada perbedaan peningkatan kadar kalsium tulang alveolar pada semua kelompok. (Tabel 1) Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang menunjukkan bahwa takaran pemberian tambahan kalsium pada masa pertumbuhan tulang sampai saat ini masih belum jelas.⁴ Rerata terendah kandungan kadar kalsium terdapat pada kelompok perlakuan hewan coba P₁ (-20% kalsium) yakni 5,9%. Hasil analisis ini sejalan dengan hasil penelitian^{5,6,7} lain yang menunjukkan bahwa kekurangan kalsium akan menghambat proses kalsifikasi tulang. Aktivitas/gerakan tulang ada kaitannya dengan kandungan kalsium tulang alveolar. Hasil penelitian Sulaiman⁸, menyatakan bahwa lama suplementasi dan frekuensi serta aktivitas tulang/gerakan

tulang, akan mempengaruhi kecepatan pengendapan kalsium dalam proses kalsifikasi sampai meningkatnya massa tulang. Pada penelitian hewan coba, persentase kandungan kalsium tulang alveolar dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti yang disebutkan, yaitu pola makan, keadaan hormonal, genetik, dan aktivitas gerakan tulang.^{9,10} Faktor-faktor tersebut akan menentukan besarnya kadar kalsium dalam proses kalsifikasi tulang, dan kadar kalsium tulang alveolar dapat menunjukkan banyaknya kalsifikasi. Dalam penelitiannya ditunjukkan bahwa penambahan kalsium pada hewan coba selama masa pertumbuhan ternyata hanya memberikan persentase kandungan kadar kalsium pada tulang alveolar relatif sangat kecil dibandingkan dengan tulang ekstremitas.^{11,12} Hal tersebut dapat dijelaskan bahwa tulang alveolar tempat menopang gigi terletak pada rahang atas dan rahang bawah, gerakannya terbatas yakni hanya terjadi bila ada aktivitas menggigit atau mengunyah makanan saja. Hal ini menyebabkan distribusi kebutuhan kalsium juga sedikit, sehingga proses pengendapan kalsium di tulang alveolar sedikit. Berbeda jauh bila dibandingkan dengan tulang ekstremitas yang setiap saat selalu digerakkan untuk semua aktivitas, sehingga frekuensi, kekuatan dan mobilitas yang dipergunakan sangat tinggi memungkinkan distribusi kebutuhan kalsium lebih banyak sehingga pengendapan kalsium relatif lebih banyak. Selain itu suplementasi kalsium dan vitamin D₃. Pada penelitian ini hanya berlangsung 26 hari, sehingga untuk menunjukkan pengendapan kalsium sebagai proses kalsifikasi, masih memerlukan waktu yang lebih lama. Dengan demikian penelitian pada hewan coba ini tidak menunjukkan adanya perbedaan varians kadar kalsium yang signifikan antara kelompok yang diperbandingkan.

Osteosit adalah salah satu unsur tulang yang sangat penting dalam proses pembentukan tulang. Selain itu untuk pengendapan mineral sekaligus pengerasan tulang dengan melibatkan osteoblas yang berperan untuk proses sintesis matriks tulang. Jumlah osteoblas terus bertambah, kemudian osteoblas tersebut menuju matrik, apabila telah masuk ke dalam matrik yang baru disintesis maka osteoblas tersebut dikenal sebagai osteosit, sebagai sel matur yang ditemukan terbungkus di dalam matriks tulang yang telah mengalami mineralisasi.¹³⁻¹⁴ Selanjutnya garam-garam kalsium sudah mulai mengendap pada serat-serat kolagen. Jumlah osteosit antara kelompok P₁, P₂, P₃, dan P₄ berbeda sangat bermakna (F=97,712 dengan p=0,000). Jumlah osteosit paling sedikit ada pada kelompok P₁. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pengurangan kalsium dalam makanan akan mengurangi pengendapan kalsium dalam struma osteoid. Jumlah osteosit tertinggi ada pada kelompok P₄. Hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan kalsium dan vitamin

D₃ yang makin banyak terjadi, disitu pula terjadi kalsifikasi yang lebih banyak, yang akan nampak bertambah padat dan diharapkan akan menambah kuat stabilitas tulang alveolar. Semakin banyak jumlah osteosit akan menunjukkan proses awal bagi bertambahnya kepadatan tulang. Hasil penghitungan osteosit menunjukkan perbedaan antara kelompok maupun diantara kelompok perlakuan. Dengan demikian terbukti bahwa jumlah osteosit tulang alveolar berbeda antar dan diantara kelompok-kelompok perlakuan.

Hasil uji Anova menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada berat tulang alveolar antar dan antara kelompok perlakuan dengan $F=0,901$ dan $p=0,000$, ditunjukkan bahwa makin tinggi suplementasi makin berat tulang alveolar yang dihasilkan. Hasil penelitian ini sesuai dengan temuan yang menyatakan bahwa pada masa pertumbuhan tulang alveolar, secara fisiologis maka unsur-unsur tulang secara dinamis mengikat setiap perubahan penambahan kalsium yang kemudian dapat disimpan di matriks tulang alveolar yang berbeda beratnya.¹⁵ Pada penelitian lain ditunjukkan bahwa suplementasi kalsium berbagai ukuran akan mengakibatkan perbedaan kandungan mineral kalsium pada matriks yang ditunjukkan dengan perbedaan berat tulang alveolar.¹⁶ Temuan penelitian lain menyatakan bahwa bermacam penambahan kalsium membentuk berbagai hidrokalsiatit yang akan mengakibatkan perbedaan berat tulang alveolar.¹⁵ Dengan demikian hasil penelitian ini menunjukkan dan terbukti adanya perbedaan berat tulang alveolar diantara dan antar kelompok perlakuan.

SIMPULAN

Suplementasi kalsium dan vitamin D₃ dalam dosis yang berbeda secara bermakna memberikan perbedaan dalam jumlah sel osteosit dan berat tulang alveolar.

SARAN

Penelitian lebih lanjut tentang efek pemberian vitamin D₃ dan kalsium dengan berbagai kurun waktu yang lebih lama untuk melihat proses kalsifikasi serta kemungkinan adanya efek toksisitas perlu dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan RI Direktorat Jendral Pembinaan Kesehatan. Hasil sensus kesehatan rumah tangga. Jakarta; 1999.
2. Departemen Kesehatan RI Direktorat Jendral Pelayanan Medik Direktorat Kesehatan Gigi. Profil kesehatan gigi dan mulut di Indonesia pada Pelita VI. Jakarta; 1999.
3. Departemen Kesehatan RI. Widya karya pangan dan gizi. AKG 2004, Jakarta; Lampiran/Keputusan Menkes RI 693/Menkes/SK/IX/ 24 NOP;2005.
4. Cormick CC. Calcium and osteoporosis-a weak link food and nutrition [Cornel Cooperative Extension]. Cornel University; 2002.
5. Kogaya Y, Furuhashi K. Comparison of the calcium distribution pattern among several kinds of hard tissue forming cells of some living vertebrates. *Scanning Microsc. Arc Oral Biol.* 1998;2(4):2029-43.
6. Thomas ML, Simmons DJ, Kidder L, Ibbara MJ. Calcium metabolism and bone mineralization in female rats marginally sufficient in calcium effect of increased dietary calcium intake. *Am J Clin Nutr.* 1991;12(1):1-4.
7. Pinandi Sri Pudyani. Pengaruh kekurangan kalsium dan protein prenatal dan postnatal terhadap kalsifikasi gigi dan tulang [disertasi doktor]. Surabaya: Universitas Erlangga; 1997.
8. Sulaiman S, Nelson M. Effect of calcium intake and physical on bone mass and turnover in healthy, white, postmenopausal woman. *Am J Clin Nutr.* 1999;66:937-43.
9. Bostrom MP. Form and function of bone. *Orthopaedic basic science: biologic and biomechanics of the musculoskeletal system, 2nd ed.* The American of Academy Orthopaedic Surgeons. 2000;324-31,355.
10. Comston JE. Sex steroids and bone. *Physiological reviews. Am J Orthod Dentofac.* 2001;81(1):427,431,435.
11. Maki K, Sako K, Nishioka T, Marimoto A, Naito M, Kimura M. Bone mineral density in the radius measured by the DXA method and evaluation of the morphology of the mandible. *J Dent in Japan.* 2000;36:102-4.
12. Masytha D. Struktur mikroskopik tulang ischium pada tikus ovarektomi dan pemberian pakan rasio fosfat/kalsium tinggi. *Med Ked Hewan.* 2003; 19(1):21-4.
13. Noxon SJ, King GJ, Gu G, Huang G. Osteoclast clearance from periodontal tissues during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofac.* 2001; 120(5):466-76.
14. Holick MF. Vitamin D in health and prevention of metabolic bone disease. In: *Osteoporosis, diagnostic and therapeutic principles.* Totowa: Hamananas Press, 1996; p.1041-56.
15. Vigorita VJ, Gkelman B. Orthodontic pathology. *Am J Orthod Dentofac.* 1999;19:23-9.
16. Huang CJ, Cheng SL, Slatopolsky E. Sustained activation of extracellular signal regulated kinase pathway is required for extracellular calcium stimulation of human. *Am J Clin Nutr.* 2001;(2):33-43.