

Density of Lumbal Vertebrae Bone Ovariectomized Rat (Rattus Norvegicus) Given the Extract Sipatah – patah (Cissus quadrangularis Salisb)

Putri Dewi¹, Mustafa Sabri², Erdiansyah Rahmi³, M. Jalaluddin², Nuzul Asmilia⁴, Al Azhar⁵

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Anatomi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Histologi dan Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁵Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: putridewifkh@gmail.com

ABSTRACT

The aims of this research was to determine the density level of lumbal vertebrae on ovariectomized rats administered with Cissus quadrangula Salisb stem extract with various doses. In this research twelve female rats were randomizedly divided into 4 groups with 3 treatment repetition. K1-groups were ovariectomized rats without Cissus quadrangula Salisb trunct extract administration; K2, K3, and K4, were ovariectomized and given with Cissus quadrangula Salisb extract with 500 mg/kg/Bw, 700 mg/kg/Bw, and 900 mg/kg/Bw as doses perday for 30 days. On day-31, rats were euthanized using chloroform and the os lumbal-5 were collected, followed with histological preparations. Research parameters were the density of active osteoblasts, passive osteoblasts, and osteoclasts. The results showed that the damage in K1 was clearly marked with the high number of osteoclasts, K2 and K3 indicate lower osteoclasts levels than K1 and had repaired bone structure characterized with active cuboidal shaped osteoblast activity and passive flat shaped osteoblasts and K4 showed increasing level of active osteoblasts. The administration of Cissus quadrangula Salisb stem extract at 900 mg/kg/bw for 30 days showed bone repair due to ovariectomy indicated with high level of active osteoblasts.

Keywords: Sipatah-patah (*Cissus quadrangula* Salisb), ovariectomized rats, Lumbal Bone.

PENDAHULUAN

Tulang merupakan bagian tubuh yang memiliki fungsi utama sebagai pembentuk rangka dan alat gerak tubuh, pelindung organ-organ internal, serta tempat penyimpanan mineral (kalsium-fosfat). Proses pembentukan tulang disebut dengan osifikasi. Proses osifikasi terjadi pada masa perkembangan fetus (prenatal) dan setelah individu lahir (postnatal). Perkembangan tulang panjang terjadi sampai individu mencapai dewasa. Jaringan tulang bersifat dinamis karena secara konstan mengalami pembaharuan yang dikenal dengan proses remodeling. Remodeling tulang merupakan suatu proses yang kompleks dengan melibatkan resorpsi tulang serta diikuti dengan pembentukan tulang baru. Remodeling tulang

ditujukan untuk pengaturan homeostasis kalsium, memperbaiki jaringan yang rusak akibat pergerakan fisik, kerusakan minor karena faktor stres dan pembentukan kerangka pada masa pertumbuhan (Hill yang disitasi oleh Fernandez dkk., 2006).

Pada manusia normal puncak kepadatan tulang dicapai pada usia tiga puluhan. Terjadi penurunan gradual kepadatan tulang tanpa atau disertai dengan kerusakan tulang. Akibatnya kekuatan tulang menurun dan kerapuhan tulang meluas seiring pertambahan usia, suatu kondisi yang dikenal sebagai osteoporosis. Kondisi ini lazim dijumpai pada manusia lanjut usia, terutama wanita (Ott, 1990).

Pada saat tulang yang mengalami osteoporosis mencapai puncaknya, maka tulang menjadi rapuh dan mudah patah. Hal ini merupakan

konsekuensi dari berkurangnya jumlah kalsium dalam massa tulang yang merupakan faktor risiko untuk terjadinya osteopenia dan osteoporosis (Rachman yang disitasi oleh Ott, 2002). Kondisi demikian akan sangat berbahaya karena apabila berlanjut dalam jangka waktu yang cukup lama, tulang sebagai kerangka tubuh tidak dapat lagi menyangga bobot tubuh sehingga apabila terjadi patah tulang, maka akan sulit untuk sembuh seperti sediakala. Studi epidemiologi menunjukkan bagian yang banyak mengalami cedera pada penderita osteoporosis adalah pada ossa *vertebrae*, ossa *coxae*, dan *collum femoris*. Tulang-tulang ini lebih banyak mengandung trabekula dibandingkan tulang kompakta (Favus, 1993).

Beberapa faktor yang mempengaruhi penurunan kepadatan tulang diantaranya adalah umur, ras, berat badan serta kurangnya paparan sinar matahari dan asupan kalsium. Faktor lainnya adalah gaya hidup yang tidak sehat seperti merokok, mengkonsumsi alkohol, dan kurangnya latihan fisik serta penggunaan obat kortikosteroid jangka panjang (Rachman, 2006).

Osteoporosis merupakan penyakit metabolik tulang yang banyak diderita oleh wanita pasca - menopause. Dalam kehidupan wanita secara fisiologis terjadi penurunan fungsi ovarium dengan hilangnya estrogen karena menopause, wanita akan kehilangan mineral tulang sangat cepat (3% per tahun) selama 5 tahun pertama dan 1% sampai 2% per tahun. Kejadian ini menyebabkan kehilangan massa tulang dan peningkatan penyerapan tulang sehingga terjadinya osteoporosis (Dawson-Hughes, 1996).

Menopause merupakan proses fisiologis yang akan terjadi pada wanita usia 45-52 tahun. Pada masa menopause terjadi penurunan produksi hormon estrogen yang akan meningkatkan absorpsi Ca pada tulang, akibat menurunnya transpor Ca intestinal sehingga kadar Ca dalam tulang berkurang. Kondisi menurunnya kadar kalsium tulang ini disebut osteoporosis (Hartiningih, 2010).

Di Indonesia, khususnya di Aceh yaitu tanaman sipatah-patah (*Cissus quadrangula* Salisb) telah digunakan secara tradisional untuk pengobatan beberapa penyakit diantaranya rematik dan patah tulang. Namun sejauh ini kajian ilmiah mengenai *Cissus quadrangula*

Salisb masih sangat terbatas. Tanaman *Cissus quadrangula* Salisb mengandung kalsium, fosfat, dan fitoestrogen yang sangat mujarab dipakai sebagai obat patah tulang (Sabri dkk., 2009). Akar *Cissus quadrangula* Salisb sangat berguna untuk pengobatan retak tulang baik diminum maupun digunakan sebagai plester eksternal (Shirwaikar dkk., 2003).

MATERI DAN METODE

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan 12 ekor tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawleys* dengan bobot badan 250 gram dan umur 5 bulan. Seluruh tikus dalam kelompok diberikan perlakuan ovariektomi. Hewan coba terdiri dari 4 kelompok perlakuan dengan 3 ulangan. Ekstrak batang *Cissus quadrangula* Salisb diberikan dengan dosis bertingkat. Pada akhir masa perlakuan seluruh tikus dieuthanasia menggunakan kloroform, dilakukan pembedahan untuk pengambilan tulang *vertebrae* lumbal ke-5, kemudian dilakukan pembuatan preparat histologi dan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE). Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 4 kali dan 100 kali.

Prosedur Penelitian

Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan 12 ekor tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawleys* dengan bobot badan 250 g, umur 5 bulan yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh. Tikus diberikan pakan t79 (pellet) yang diproduksi oleh PT. CENTRAL PROTEINA PRIMA (CPP) dan air minum secara *ad libitum*.

Pembuatan Ekstrak *Cissus quadrangula* Salisb

Pembuatan Ekstrak batang *Cissus quadrangularis* Salisb dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh. Batang *Cissus quadrangularis* Salisb di ambil dari Desa Neuhen, Kecamatan Mesjid Raya, Kabupaten

Aceh Besar, Provinsi Aceh. Bagian tanaman *Cissus quadrangularis* Salisb yang diambil adalah batang yang kemudian dipotong-potong sepanjang sekitar 1 cm, lalu diangin-anginkan sehingga menjadi kering. Setelah kering, batang *Cissus quadrangularis* Salisb kemudian dihaluskan dengan penggilingan sehingga menjadi serbuk. Serbuk ini kemudian dimaserasi dengan etanol 96% selama 3 hari dengan sesekali diaduk dan kemudian disaring. Ekstrak cair batang *Cissus quadrangularis* Salisb tersebut selanjutnya dikentalkan dengan rotavapor (Hahnvapor HS-2005S ®Korea) sehingga mendapatkan ekstrak batang *Cissus quadrangularis* Salisb yang kental. Hasil ekstrak tersebut dicampur dengan bahan pengikat CMC 1% dengan perbandingan sesuai dengan dosis perlakuan.

Pembuatan Hewan Model Ovariektomi

Seminggu pasca adaptasi pakan, dilakukan ovariektomi (pengambilan ovarium) yaitu dengan membuat sayatan pada lateral abdomen ke arah caudal. Tikus dianestesi yang menggunakan ketamin dengan dosis 1 ml/kg BB secara intramuskulus. Selanjutnya rambut di area bedah dicukur pada sisi lateral tikus, pada daerah insisi dilakukan desinfeksi dengan alkohol 70%. Insisi dilakukan pada area bedah yaitu 2 cm mengikuti tulang belakang dan berjarak 1,5 cm dari tulang belakang, dicari ovarium kemudian ikat dengan benang *cat gut*. Ovarium yang telah diikat lakukan pemotongan kemudian disisihkan. Langkah selanjutnya menjahit otot dengan *cut gut* kromik dengan tipe jahitan sederhana dan menjahit kulit dengan benang *silk* dengan tipe jahitan sederhana (Sabri, 2011).

Perlakuan Pemberian Ekstrak *Cissus quadrangula* Salisb

Pemberian Ekstrak batang *Cissus quadrangula* Salisb dilakukan per oral dengan *feeding tube* sebanyak 0,5 ml per ekor/hari dengan dosis yang berbeda yaitu (K1) kelompok kontrol tanpa perlakuan, (K2) dosis 500 mg/KgBB/hari, (K3) dosis 700 mg/KgBB/hari, dan (K4) 900 mg/KgBB/hari. Ekstrak batang *Cissus quadrangula* Salisb diberikan sebagai terapi selama 30 hari.

Pembuatan Sediaan Histologis tulang vertebrae lumbalis

Pada akhir masa perlakuan (hari ke 31) semua tikus dieuthanasia dengan menggunakan klorofom. Pengambilan jaringan tulang vertebrae lumbal ke-5 dilakukan dengan cara penyayatan bagian dorsal, selanjutnya pada bagian muskulus dipreparir. Tulang vertebrae lumbal kemudian difiksasi dengan larutan formalin 10%, kemudian dilakukan dekalsifikasi dalam larutan asam nitrat 5%. Pembuatan preparat histologi diawali dengan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat, *clearing* dalam silol, *infiltrasi* dalam paraffin cair dan *embedding* dalam paraffin *block*, sediaan dipotong dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 μ m dan dilakukan pewarnaan Haematoksilin dan Eosin (HE). Selanjutnya *mounting* menggunakan *entellen*, ditutup dengan *cover glass* lalu diamati dibawah mikroskop.

Analisis Data

Hasil yang diperoleh dari gambaran pemeriksaan mikroskopis tulang vertebrae lumbalis dianalisa secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

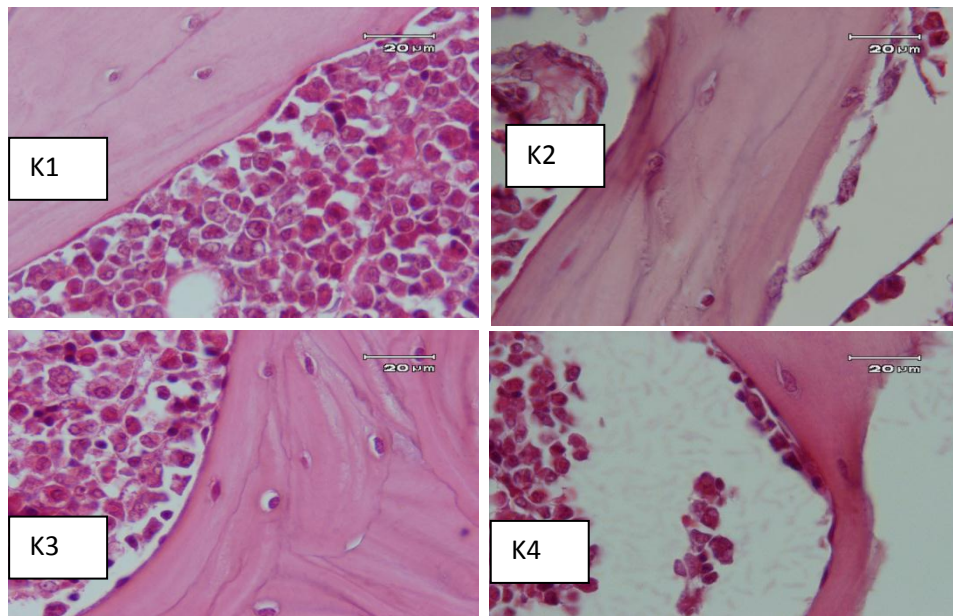
Pengamatan gambaran histologi tulang vertebrae lumbal tikus putih ovariektomi yang diberi dan tanpa diberi ekstrak *Cissus quadrangula* Salisb dengan pewarnaan HE menunjukkan perbedaan terhadap keberadaan sel-sel osteoklas dan proliferasi sel-sel osteoblas. Kelompok 1 menunjukkan kerusakan yang jelas ditandai dengan banyaknya sel osteoklas yang ditemukan di bagian perifer trabekula yang akan bersiap-siap mengikis dan merubah bentuk (*remodelling*) matrik tulang yang terbentuk yang juga dipengaruhi oleh penurunan kadar hormon estrogen dalam tubuh sehingga faktor aktivasi dari osteoklas akan terus muncul.

Kelompok 2 dan K3 menunjukkan osteoklas yang rendah dibanding K1 tanpa diberikan terapi ekstrak *Cissus quadrangula* Salisb dan memiliki perbaikan struktur tulang yang baik, ditandai dengan peningkatan aktifitas sel osteoblas pasif berbentuk pipih, jumlah sel osteoblas aktif berbentuk kuboid lebih banyak atau lebih sedikit

dibanding dengan perlakuan K4 menunjukkan osteoblas aktif yang lebih meningkat (Gambar 1).

Tulang vertebrae lumbal K1 terlihat osteoporosis akibat ovariectomi dan tanpa terapi. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan Sabri (2013), densitas osteoklas pada K1 lebih meningkat dibanding kelompok perlakuan K2, K3, dan K4. Hal ini menunjukkan bahwa proses remodeling yang terjadi tidak diikuti oleh distribusi osteoblas aktif untuk memperbaiki tulang yang

telah diresorpsi oleh osteoklas. Sedangkan perlakuan K2 dan K3 sudah mulai memberikan efek terapi yang ditandai dengan munculnya osteoblas aktif dan osteoblas pasif. Tulang vertebrae lumbal K4 sudah memperlihatkan efek terapi, karena pemberian dosis terapi yang tinggi. Namun, hal demikian belum dapat dikatakan sebagai terapi yang baik karena belum dilakukan pemeriksaan menyeluruh terhadap organ tubuh hewan.



Gambar 1. Gambaran mikroskopis tulang vertebrae lumbal tikus ovariectomi yang diberi ekstrak *Cissus quadrangula* Salisb dengan dosis 500, 700, 900 mg/kg/BB/hari.

(K1): Tikus kontrol dengan jumlah sel osteoklas yang meningkat, (K2) 500 mg/kg/BB/hari sel osteoklas yang rendah dan osteoblas pasif meningkat, (K3) 700 mg/kg/BB/hari sel osteoblas aktif meningkat, dan (K4) 900 mg/kg/BB/hari sel osteoblas aktif semakin meningkat. (a) Osteoklas, (b) osteoblas aktif, dan (c) osteoblas pasif. Pewarnaan HE. Pembesaran lensa objektif 100 kali, Skala Bar: 20µm.

Pemberian ekstrak batang *Cissus quadrangula* Salisb yang mengandung kalsium tinggi memiliki korelasi dengan kadar hormon estrogen. Menurut Kawiyana (2009), tingginya kadar kalsium dalam tulang menyebabkan terjadinya ikatan antara kalsium dengan estrogen reseptor α (ER- α) yang terdapat pada sel osteoblas.

Osteoblas merupakan sel mononuklear yang berasal dari sel mesenkim yang mensintesis protein matriks tulang kolagenous dan

nonkolagenous. Osteoblas hanya terdapat pada permukaan tulang dan letaknya bersebelahan, bentuknya menyerupai epitel selapis. Bila osteoblas aktif mensintesis matriks, osteoblas memiliki bentuk kuboid sampai silindris dengan sitoplasma basofilik. Bila aktivitas sintesisnya menurun, sel tersebut menjadi gepeng dan sifat basofilik pada sitoplasmanya akan berkurang (Junqueira dan Carneiro, 2007).

Menurut Seeman (2003), ketidakseimbangan antara resorpsi dan pembentukan tulang pada

proses *remodeling* tulang dapat mengakibatkan kepadatan tulang berkurang sehingga dapat menimbulkan penyakit metabolik. Selanjutnya Manolagas (2000), menyatakan berkurangnya kepadatan sel tulang dapat diakibatkan oleh berkurangnya jumlah osteosit atau kurangnya kadar mineral, keduanya dapat mengakibatkan kerapuhan tulang. Apabila proses *remodeling* berlangsung dengan baik maka perbaikan tulang akan berjalan lebih cepat, sehingga sel-sel osteosit yang terdegradasi oleh aktivitas osteoklas dapat segera tergantikan (Karaman, dkk 2009)

Menurut Sabri (2011) siklus *remodeling* dimulai oleh osteoklas yang timbul pada permukaan tulang yang sebelumnya inaktif dan mengabsorpsi jaringan tulang dengan melepaskan asam dan enzim-enzim proteolitik yang mengakibatkan terbentunya rongga mikroskopik (*lakuna howship*). Kemudian osteoblas akan terus berdiferensiasi hingga menjadi osteoid yang kemudian akan berproliferasi. Hal inilah yang mengakibatkan terjadinya penebalan trabekula. Pada akhir osifikasi, sebagian osteoid yang terperangkap didalam rongga (lakuna) akan berubah menjadi osteosit.

Secara mikroskopik pada hewan muda penderita osteoporosis berat, zona hipertropik dibagian fisis menjadi sempit bahkan tidak terlihat pertumbuhan tulang kemudian terhenti dan bagian fisis ditempati oleh lempeng tulang. Jumlah dan ukuran trabekula menurun, sehingga tulang dibagian tersebut mudah mengalami fraktur. Keberadaan osteoblas dan osteoklas yang aktivitasnya abnormal sangat tergantung pada penyebab osteoporosis. Penyerapan intrakorteks pada tulang panjang oleh osteoklas terjadi disepanjang saluran vaskular sejajar dengan aksis memanjang tulang. Penyerapan tulang dibagian intrakorteks mempunyai resiko besar karena dengan hilangnya korteks tulang maka mempengaruhi kepadatan tulang menjadi lebih buruk dibanding dengan kehilangan tulang trabekula dalam jumlah yang sama (Anderson, 1996)

Hilangnya estrogen akibat ovariectomi sangat berpengaruh terhadap peran usus dalam mengabsorpsi kalsium baik secara transeluler maupun paraseluler. Hartiningsih dkk. (2012) menyatakan ovariectomi dapat menyebabkan

penurunan absorpsi kalsium dalam usus dan meningkatkan ekskresi kalsium melalui urin. Rendahnya kalsium dalam darah akan menyebabkan peningkatan resorpsi kalsium dari tulang untuk memenuhi kebutuhan kalsium dalam tubuh, sehingga akan menyebabkan penurunan densitas tulang. Karaman dkk. (2009) menambahkan peningkatan kadar kalsium dalam darah akan menyebabkan terjadinya *feedback* positif pada organ tiroid yang akan menggantikan hormon kalsitonin. Adanya hormon kalsitonin akan menyebabkan proses *remodeling* tulang kembali normal. Hormon kalsitonin akan meregulasi kalsium yang ada didalam darah untuk digunakan oleh tulang dalam proses *remodeling* sehingga dapat meningkatkan densitas tulang yang berkurang akibat osteoporosis.

Hasil pewarnaan HE K2 dan K3 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, sedangkan K4 menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan K2 dan K3. Efek fitoestrogen dari kandungan ekstrak batang *Cissus quadrangula* terhadap tulang juga diketahui sebagai antiosteoporosis (Shirwaikar, dkk 2003). Kandungan fitoestrogen yang tinggi pada tanaman *Cissus quadrangula* dapat berikatan lebih banyak pada reseptor estrogen sehingga menstimulasi osteoblas untuk mensekresikan faktor pertumbuhan (*Growth Factor/GF*) pada tulang yang mengakibatkan proliferasi osteoblas (Anggraini, 2008).

Djuwita dkk. (2012) menambahkan bahwa pemberian ekstrak batang *Cissus quadrangula* Salisb dapat meningkatkan proliferasi dan diferensiasi sel tulang tikus yang dikultur. Kandungan fitoestrogen yang berasal dari ekstrak dapat meningkatkan proliferasi osteoblas dan meningkatkan diferensiasi osteoblas menjadi osteosit, sehingga pembentukan tulang dapat terjadi dengan cepat dan diharapkan kepadatan tulang juga akan semakin meningkat.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak batang *Cissus quadrangula* Salisb dosis 700 mg/kg/BB/hari sudah memberikan terapi yang baik. Namun Pemberian ekstrak batang *Cissus quadrangula* Salisb dosis 900 mg/kg/BB/hari selama 30 hari

memberikan efek perbaikan tulang akibat ovariektomi ditandai banyaknya osteoblas aktif lebih meningkat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J.J.B. 1996. Calcium, phosphorus and human bone development. **Jurnal Nutr.** 126: 1153S - 1158S.
- Anggraini, W. 2008. Fitoestrogen sebagai alternatif alami terapi sulih hormon untuk pengobatan osteoporosis primer pada wanita pascamenopause. **M.I. Kedokteran Gigi.** 23(1):25-31.
- Dawson-Hughes, B. 1996. Calcium and vitamin nutritional needs of elderly woman. **Jurnal Nutr.** 126:165S-1167S.
- Djuwita, I., I.A. Pratiwi., A. Winarto, dan M. Sabri. 2012. Proliferasi dan diferensiasi sel tulang tikus dalam medium kultur *in vitro* yang mengandung ekstrak batang *Cissus quadrangula* Salisb. (sipatah-patah). **Jurnal Kedokteran Hewan.** 6(2):75-80.
- Favus, M.J. 1993. **Primary On the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism.** Universitas Michigan, New York.
- Fernandez, I., M.A.A. Gracia, M.C. Pingarron, and L.B. Jerez. 2006. Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process. **Med. Oral Patol. Cir. Bucal.** 11:151-157.
- Junqueira, L.C, dan J. Carneiro. 2007. **Histologi Dasar : Teks & Atlas.** (Diterjemahkan Tambayong, J., Pentj) Ed 10, 134-136. Jakarta.
- Hartiningsih., D. Anggraini, dan I. Widiyono. 2010 . Pengaruh Panhisterektomi dan Konsumsi Suplemen 1,25-Dihidroksivitamin D3 Selama 1,5 Bulan terhadap Retensi Kalsium pada Tikus Wistar. **Lembaga Penelitian Universitas Gajah Mada, Yogyakarta**
- Hartiningsih, Devita A. Dan Dhirgo A., 2012. Respons metafisis tulang femur distalis tikus ovariektomi yang mengkonsumsi kalsitriol. **Jurnal Kedokteran Hewan.** 6(2): 93-98.
- Karaman, Y.R., W.M.P. Agung, dan Aulanni'am. 2009. Gambaran histologis tulang vertebrae dan profil hormon estrogen pada tikus putih(*Rattus norvegicus*) ovariektomi setelah mendapat terapi tepung tulang ikan tuna madidihang (*Thunnus Albacares*). **Jurnal Veteriner.** 6(2):3-7.
- Kawiyana. 2009. **Osteoporosis Patogenesis Diagnosis Dan Penanganan Terkini.** Sub Bagian / SMF Orthopaedi & Traumatologi. Bagian Bedah FK UNUD / RSUP Sanglah Denpasar.
- Manolagas SC. 2000. Bone marrow, cytokines and bone remodelling emerging insight into the pathophysiology of osteoporosis. **N. Eng. Jurnal Med.** 332(21):115-137.
- Ott, S.M.1990. Attainment of peak bone mass. **Jurnal Clin. Endocrin Metab.** 323(2):73-79.
- Ott, S.M. 2002. Osteoporosis and bone physiology. **J. Am. Medic.** 228:334-341.
- Rachman, I.A. 2006. Osteoporosis primer (Post menopause osteoporosis). In: **Osteoporosis.** 1st ed. Suherman SK, Tobing S Dohar AL. Perhimpunan osteoporosisi Indonesia. Indomedika
- Sabri, M. 2011. Aktivitas Ekstrak Etanol Batang Sipatah-Patah (*Cissus Quadrangula Salisb*) Sebagai Antiosteoporosis Pada Tikus (*Rattus Norvegicus*). **Disertasi.** Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sabri, M., K. Nurhidayat, Sigit, B.P. Priosoeryanto, and W. Manalu. 2009. Analysis of phytochemical and mineral content of Sipatah-patah Plant (*Cissus quadrangularis*) from Aceh as osteoporosis premedication. **Jurnal Rona Lingkungan** 2: 109-117.
- Sabri, M. 2013. Administration's effects of ethanol extract of *Cissus quadrangularis* Salisb on growth of lumbal bone in ovariectomized rats. **Jurnal Natural.** 13(2):52
- Seeman, E. 2003. The structural and biochemical basis of the gain and loss of bone strength in women and men. **Endocrinol. Mrtab. Clin. Orth. Am.** 32:25-38.
- Shirwaikar A, S. Khan, and S. Malini. 2003. Antiosteoporotic effect of ethanol extract of *Cissus quadrangularis* Linn. on ovariectomized rat. **Jurnal Ethnopharmacol.** 89: 245