

EFEK PEMBERIAN DEKSAMETASON DAN PREDNISON DOSIS RENDAH TERHADAP PENURUNAN JUMLAH OSTEOLAS FEMUR TIKUS WISTAR (*RATTUS NORVEGICUS*)

Rico Alexander¹, Rayhan Irsyaldi², Fiska Maya Wardhani^{3*}

Falkutas Kedokteran, Kedokteran Gigi Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, Medan Sumatera Utara, Indonesia^{1,2,3}

*Corresponding Author : drfiska.mw@gmail.com

ABSTRAK

Osteoporosis merupakan penyakit skeletal sistemik yang dikarakteristikan oleh adanya penurunan kepadatan tulang dan kerusakan mikroarsitektur jaringan tulang sehingga sifat tulang menjadi rapuh. Osteoporosis dibagi menjadi 2 yaitu osteoporosis primer dan sekunder. Osteoporosis primer meliputi osteoporosis pascameopause (tipe 1) dan osteoporosis senile (tipe 2). Sedangkan osteoporosis sekunder diakibatkan oleh malabsorpsi, obat-obatan seperti glukokortikoid, dan beberapa penyakit seperti hiperparatiroidisme. *Glucocorticoid-induced osteoporosis* (GIOP) merupakan penyebab paling sering terjadinya osteoporosis sekunder. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek pemberian obat prednison dan deksametason terhadap peningkatan jumlah apoptosis osteoblas femur tikus wistar (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini menganut *true experimental post test only control group design*. Hasil perhitungan jumlah osteoblas pada setiap kelompok didapatkan rata-ratanya sebagai berikut, kelompok normal hari ke-14 berjumlah 25, kelompok prednison hari ke-14 berjumlah 16,8, dan kelompok deksametason hari ke-14 berjumlah 15. Sedangkan pada kelompok normal hari ke-28 memiliki rata-rata berjumlah 36,4, kelompok prednison hari ke-28 berjumlah 18,2, dan kelompok deksametason hari ke-28 berjumlah 16,6. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian obat deksametason dan prednison dalam dosis rendah dapat menurunkan jumlah osteoblas yang diakibatkan karena terjadinya peningkatan apoptosis osteoblas dan kondisi tersebut dapat mengakibatkan terjadinya osteoporosis sekunder, serta dari hasil tersebut kita dapat mengetahui bahwa obat deksametason memiliki efek dalam menurunkan jumlah osteoblas yang lebih besar daripada obat prednison.

Kata kunci : keksametason, osteoblas, osteoporosis, prednison

ABSTRACT

*Osteoporosis is a systemic skeletal disease characterized by a decrease in bone density and damage to the microarchitecture of bone tissue so that the bones become brittle. Osteoporosis is divided into 2, namely primary and secondary osteoporosis. Primary osteoporosis includes postmenopausal osteoporosis (type 1) and senile osteoporosis (type 2). Meanwhile, secondary osteoporosis is caused by malabsorption, drugs such as glucocorticoids, and several diseases such as hyperparathyroidism. Glucocorticoid-induced osteoporosis (GIOP) is the most common cause of secondary osteoporosis. The aim of this study was to determine the effect of prednisone and dexamethasone on increasing the number of Wistar rat (*Rattus norvegicus*) femur osteoblast apoptosis. This research adheres to a true experimental post test only control group design. The results of calculating the number of osteoblasts in each group showed that the average was as follows, the normal group on the 14th day was 25, the prednisone group on the 14th day was 16.8, and the dexamethasone group on the 14th day was 15. Meanwhile, on the normal group on the 14th day -28 had a mean of 36.4, the day 28 prednisone group had 18.2, and the day 28 dexamethasone group had 16.6. From these results it can be concluded that administering dexamethasone and prednisone in low doses can reduce the number of osteoblasts due to increased osteoblast apoptosis and this condition can result in secondary osteoporosis, and from these results we can know that the drug dexamethasone has an effect in reducing the number of osteoblasts, which is greater than the drug prednisone.*

Keywords : dexamethasone, osteoblasts, osteoporosis, prednisone

PENDAHULUAN

Osteoporosis merupakan penyakit skeletal sistemik yang dikarakteristikan oleh adanya penurunan kepadatan tulang dan kerusakan mikroarsitektur jaringan tulang sehingga sifat tulang menjadi rapuh (WHO, Prevention And Management Of Osteoporosis, 2003). Osteoporosis dibagi menjadi 2 yaitu osteoporosis primer dan sekunder. Osteoporosis primer meliputi osteoporosis pascameopause (tipe 1) dan osteoporosis senile (tipe 2). Sedangkan osteoporosis sekunder diakibatkan oleh malabsorpsi, obat-obatan seperti glukokortikoid, dan beberapa penyakit seperti hiperparatiroidisme (Akkawi & Zmerly, 2018). *Glucocorticoid-induced osteoporosis* (GIOP) merupakan penyebab paling sering terjadinya osteoporosis sekunder. Prevalensi GIOP di Indonesia belum diketahui jumlah pastinya, namun diduga penderita GIOP cukup banyak karena penggunaan glukokortikoid di masyarakat sangat bebas tanpa menggunakan resep dokter. Sama seperti osteoporosis pada umumnya, GIOP juga sering kali tanpa disertai adanya gejala klinis, sehingga pasien dan tenaga medis sering tidak waspada sampai terjadinya patah tulang (Suryana, 2021).

Penggunaan obat glukokortikoid diindikasikan pada penyakit rematik inflamasi dan gangguan paru-paru. Efek samping penggunaan obat glukokortikoid mencakup bidang endokrin, neuropsikiatri, gastrointestinal, muskulokeletal, kardiovaskular, dermatologi, ocular, dan imunologi. Osteoporosis dan fraktur merupakan efek samping yang paling sering dilaporkan. Studi epidemiologi berbasis populasi menunjukkan 30%-40% orang yang menggunakan glukokortikoid jangka panjang akan mengalami fraktur. Dosis glukokortikoid setara ≥ 5 mg prednison per hari berkorelasi dengan terjadinya osteoporosis akibat ketidakseimbangan proses remodeling tulang. Dalam 3 bulan pertama terapi.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek pemberian obat prednison dan deksametason terhadap peningkatan jumlah apoptosis osteoblas femur tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

METODE

Penelitian ini menganut *true experimental post test only control group design*. Sampel pada penelitian ini yaitu tikus wistar akan dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok induksi deksametason 0,020 mg PO, dan kelompok induksi prednison 0,18 mg PO dan akan saling dibandingkan setelah diberi perlakuan dalam jangka waktu tertentu. Populasi pada penelitian ini menggunakan tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 6-7 bulan dan berat 300-400 gram. Penentuan sampel pada penelitian ini menggunakan *simple random sampling*, dimana setiap populasi memiliki kesempatan yang sama untuk menjadi sampel penelitian. Jumlah sampel yang digunakan disetiap kelompok perlakuan minimal 8,5. Sehingga, jumlah yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebesar 10 ekor tikus wistar jantan perkelompok perlakuan.

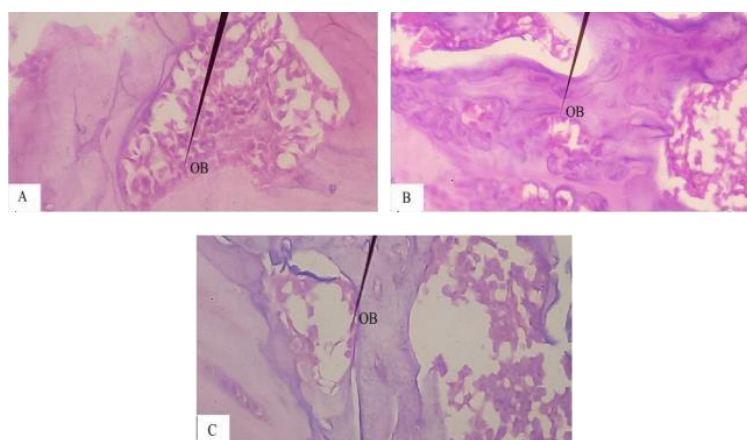
Pembuatan suspensi obat deksametason dan prednison yaitu dengan menimbang obat-obatan tersebut masing-masing 20 tablet, lalu ambil obat deksametason seberat 5,6 mg dan prednison seberat 37,8 mg, campurkan obat deksametason dan prednison ke dalam larutan NaCMC 0,5% seberat 7 gram yang sudah dilarutkan dengan aquadest 1.400 liter di wadah yang berbeda. Sehingga didapatkan 1 botol suspensi obat deksametason dan 1 botol suspensi obat prednison. Setelah itu, berikan secara *per oral* ke tikus wistar dengan dosis 0,020 mg/3 ml untuk obat deksametason dan 0,18 mg/3 ml untuk obat prednison selama 28 hari.

Setiap hari ke-14 dan 28, 3 tikus wistar dari setiap kelompok akan dikorbankan nyawanya dengan menggunakan kloroform. Setelah tikus mati, tulang femur dextra bagian epifisis akan diambil dan dimasukkan ke dalam wadah yang sudah berisikan formalin 10%. Tulang tersebut akan diserahkan ke laboratorium histologi untuk di proses menjadi preparat mikroskopis dengan pewarnaan *hematoksilin & eosin*. Setelah itu, preparat akan di evaluasi

menggunakan pembesaran 10x40 dan dihitung jumlah osteoblasnya.

Langkah-langkah untuk menganalisis data yaitu dengan menguji normalitas data menggunakan tes *Shapiro-wilk* yang bertujuan untuk mengetahui apakah suatu data memiliki sebaran normal atau tidak. Jika normal maka akan dilakukan uji parametrik untuk menguji hipotesisnya, namun jika data tidak normal maka akan dilakukan uji non-parametrik untuk menguji hipotesisnya. Setelah melakukan uji normalitas, akan dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan *Levene's test*. Selanjutnya dilakukan uji *One way anova* dengan tingkat bermakna 95% ($p < 0,05$) yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan antara variabel bebas dan variabel terikat, jika terdapat suatu perbedaan maka dapat dilanjutkan uji *Least significant difference* untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda signifikan secara statistik dengan kelompok lainnya.

HASIL



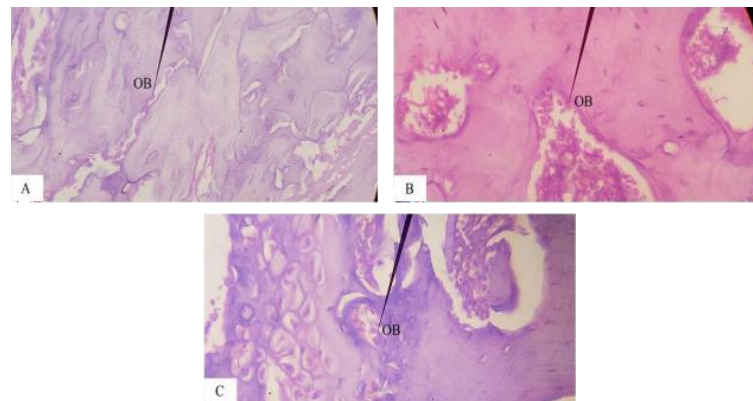
Gambar 1. Osteoblas (OB) ditunjuk oleh garis hitam pada potongan tulang femur bagian epifisis tikus wistar hari ke-14 dengan pewarnaan HE dan pembesaran 10x40 tampak berbentuk kuboid dan *mononuclear*. (A) kelompok normal hari ke-14, (B) kelompok induksi deksametason 0,020 mg PO, (C) kelompok induksi prednison 0,18 mg PO. Osteosit berbentuk bintang dengan silia dan prosesus sitoplasma yang berada di dalam lakuna. Osteoklas merupakan sel besar yang berinti banyak (*multinucleated*) di sepanjang permukaan tulang tempat resorpsi tulang (lakuna howship)

Pada gambar 1 telah dilakukan evaluasi perhitungan jumlah osteoblas di setiap kelompok di ke-5 lapangan pandang. Hasil perhitungan rata-rata jumlah osteoblas tulang femur tikus wistar hari ke-14 pada kelompok normal dan kelompok perlakuan terdapat pada tabel 1.

Tabel 1. Jumlah Osteoblas Kelompok Hari Ke-14

Kelompok hari ke-14	Rata-rata jumlah osteoblas dalam 5 lapang pandang besar	
	<i>mean</i>	<i>Std. Deviation</i>
Normal	25.00	4.848
Prednison	16.80	4.764
Deksametason	15.00	3.162

Berdasarkan tabel 1, kelompok normal memiliki jumlah rata-rata osteoblas sebesar 25, kelompok prednison sebesar 16,8, dan kelompok deksametason sebesar 15. Dari hasil rata-rata jumlah osteoblas tersebut, kelompok prednison dan kelompok deksametason mengalami penurunan jumlah osteoblas yang mengacu pada jumlah rata-rata osteoblas kelompok normal yang dihitung pada 5 lapang pandang besar.



Gambar 2. Osteoblas (OB) ditunjuk oleh garis hitam pada potongan tulang femur bagian epifisis tikus wistar hari ke-28 dengan pewarnaan HE dan pembesaran 10x40 tampak berbentuk kuboid dan *mononuclear*. (A) kelompok normal hari ke-14, (B) kelompok induksi deksametason 0,020 mg PO, (C) kelompok induksi prednison 0,18 mgPO. Osteosit berbentuk bintang dengan silia dan prosesus sitoplasma yang berada di dalam lakuna. Osteoklas merupakan sel besar yang berinti banyak (*multinucleated*) di sepanjang permukaan tulang tempat resorpsi tulang (lakuna howship)

Pada gambar 2 telah dilakukan evaluasi perhitungan jumlah apoptosis di setiap kelompok di ke-5 lapangan pandang. Hasil perhitungan rata-rata jumlah apoptosis tulang femur tikus wistar hari ke-28 pada kelompok normal dan kelompok perlakuan terdapat pada tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Osteoblas Kelompok Hari Ke-28

Rata-rata jumlah osteoblas dalam 5 lapang pandang besar

Kelompok hari ke-28

	<i>mean</i>	<i>Std. Deviation</i>
Normal	36.40	5.857
Prednison	18.20	3.834
Deksametason	16.60	5.727

Berdasarkan tabel 2, kelompok normal memiliki jumlah rata-rata osteoblas sebesar 36,4, kelompok prednison sebesar 18,2, dan kelompok deksametason sebesar 16,6. Dari hasil rata-rata jumlah osteoblas tersebut, kelompok prednison dan kelompok deksametason mengalami penurunan jumlah osteoblas yang mengacu pada jumlah rata-rata osteoblas kelompok normal yang dihitung pada 5 lapang pandang besar.

PEMBAHASAN

Hasil uji *Oneway ANOVA* dapat dinyatakan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik dalam pengaruh pemberian deksametason dan prednison dosis rendah terhadap penurunan jumlah osteoblas femur tikus wistar ($p < 0,05$). Pada uji LSD, perbedaan yang signifikan terjadi pada kelompok normal dengan kelompok prednison dan kelompok deksametason ($p < 0,05$). Sedangkan, pada kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok perlakuan lainnya ($p > 0,05$).

Penginduksian deksametason dan prednison dosis rendah dilakukan selama 28 hari, dimana setiap hari ke-14 dan 28 tikus akan dikorbankan nyawanya untuk diambil tulang femurnya. Tikus yang diinduksi obat-obatan tersebut selama 28 hari, sudah setara dengan manusia yang menerima terapi obat prednison dan deksametason selama 2 tahun. Karena tikus yang berumur 14 hari sama dengan manusia yang berumur 1 tahun (Sengupta, 2013).

Pada penelitian Nancy E. Lane dengan judul *Glucocorticoid induced osteoporosis: New insights into the pathophysiology and treatments* (2019), pemberian glukokortikoid pada hari ke-7 dapat meningkatkan regulasi dari gen-gen yang terlibat dalam aktivasi osteoklas, fungsi osteoklas, dan adipogenesis. Pada hari ke-28 terjadi penurunan gen-gen yang berkontribusi dalam pematangan dan aktivasi osteoblas serta terjadi peningkatan sklerostin dan *Dickkopf-related protein 1* (DKK1) yang akan merusak fungsi osteoblas dengan menghambat pensinyalan WNT (Lane, 2019).

Pada penelitian Robert S. Weinstein, Erin A. Hogan, Michael J. Borelli, *et al* dengan judul *The Pathophysiological sequence of Glucocorticoid-Induced Osteonecrosis of the femoral head in male mice* (2017), pemberian obat glukokortikoid selama 14 hari menunjukkan adanya penurunan ekspresi *Hypoxia-inducible factor* (Hif)-1 α dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF), penurunan jumlah osteoblas, penurunan kecepatan pembentukan tulang, dan meningkatkan jumlah osteoklas (Weinstein, Hogan, Borelli, Liachenko, O'Brien, & Manolagas, 2017). Penurunan ekspresi *Hypoxia-inducible factor* (Hif)-1 α akan menyebabkan penurunan fraksi volume tulang trabekular, luas penampang kortikal, dan vaskularisasi (Mendoza, Genetos, & Yellowley, 2023). *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) telah terbukti diekspresikan oleh sel prekursor osteoblastik dan menstimulasi pembentukan tulang, sehingga jika terjadi penurunan ekspresi VEGF maka akan menyebabkan terganggunya perbaikan dan perkembangan tulang (Hu & Olsen, 2017).

Hasil penelitian ini sejalan dengan teori yang terdapat pada buku *Diagnosis dan Pengelolaan Osteoporosis Akibat Glukokortikoid (GIOP)* yang dikeluarkan oleh Perhimpunan Reumatologi Indonesia (2021), yang menyatakan bahwa dosis glukokortikoid yang setara dengan ≥ 5 mg prednison per hari berkorelasi dengan terjadinya osteoporosis akibat ketidakseimbangan proses remodelling tulang. Risiko fraktur meningkat dengan cepat pada 3 bulan pertama terapi glukokortikoid. Hal ini juga dapat dipengaruhi oleh dosis dan durasi terapi glukokortikoid (Suryana, 2021). Pada penelitian *Efek Induksi Proliferasi Sel Osteoblas Tulang Trabekular Mencit Jantan oleh Ekstrak Etanol 96% Daun Semanggi (Marsilea crenata Presl.)* (2021), pemberian deksametason 0,0029 mg/20gBB pada mencit selama 28 hari dapat menurunkan rata-rata jumlah osteoblas yang dihitung pada 5 lapang pandang yang diakibatkan karena menurunnya kadar hormon estrogen, sehingga akan meningkatkan aktivitas osteoklas dengan menstimulasi makrofag untuk memproduksi sitokin yang mengaktifasi RANK, serta akan memperpanjang hidup osteoklas karena hilangnya efek pro-apoptosis dari estrogen (Aditama, et al., 2021) (Esclassan, et al., 2021).

Deksametason merupakan obat glukokortikoid terkuat dengan aktivitas mineralokortikoid yang sangat sedikit (Johnson, Lopez, & Kelley, 2022). Deksametason dapat meningkatkan aktivitas *cathepsin K* yang diekspresikan oleh osteoklas dan menurunkan aktivitas *alkaline phosphatase* (ALP) (Chaichit, et al., 2021). *Cathepsin K* berperan dalam proses resorpsi tulang dengan mendegradasi kolagen tipe 1 yang setara dengan 90% protein matriks tulang (Arias-Pinilla & Brown, 2022). *Alkaline phosphatase* berperan dalam proses pembentukan tulang dengan meningkatkan laju lokal fosfat anorganik dan memfasilitasi mineralisasi serta mengurangi konsentrasi pirofosfat ekstraseluler yang merupakan penghambat pembentukan mineral (Vimalraj, 2020). Oleh sebab itu, deksametason memiliki efek yang sangat besar terhadap peningkatan jumlah apoptosis osteoblas dan meningkatkan risiko terjadinya osteoporosis daripada prednison.

Glukokortikoid akan menghambat osteoblastogenesis yang menyebabkan terjadinya apoptosis osteoblas dan osteosit. Beberapa jalur pensinyalan aktivasi osteoblas seperti peroxisome proliferator activated receptor γ 2 (PPAR γ 2), kruppel-like factor 15 (KLF15), CCAAT/enhancer binding protein- α (C/EBP α), dan adipocyte protein 2 (aP2) akan mengalami peningkatan ekspresi yang menyebabkan diferensiasi preferensi sel prekursor

plipoten lebih menjadi sel adiposit daripada menjadi osteoblas yang dapat menyebabkan penurunan jumlah osteoblas. Glukokortikoid juga meningkatkan ekspresi sklerostin dan menghambat ekspresi WNT16 didalam jalur pensinyalan WNT- β -catenin yang menurunkan osteoblastogenesis dan menyebabkan osteoporosis.

Reseptor NOTCH pada osteoblas dan osteosit akan mengalami peningkatan ekspresi yang dipengaruhi oleh glukokortikoid, mengakibatkan peningkatan ekspresi gen target NOTCH yang mengkode faktor transkripsi represif, seperti HES dan HEY yang berkontribusi pada gangguan fungsi osteoblas dan penurunan pembentukan tulang. Glukokortikoid meningkatkan produksi receptor of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) dan menurunkan transkripsi mRNA *osteoprotegerin* (OPG) pada osteoblas dan osteosit. Ikatan RANKL pada RANK akan menurunkan osteoblastogenesis yang menyebabkan penurunan pembentukan tulang. Glukokortikoid juga meningkatkan osteoklastogenesis, sehingga resorpsi tulang akan meningkat dengan cara meningkatkan ekspresi RANKL dan menurunkan ekspresi OPG. Glukokortikoid juga dapat merangsang osteosit untuk menghasilkan sklerostin dan *Dickkopf-related protein 1* (DKK1) yang akan merusak fungsi osteoblas dengan menghambat pensinyalan WNT. Apoptosis osteosit menyebabkan penurunan vaskularisasi tulang, penurunan angiogenesis, penurunan hidrasi, dan juga menurunkan kekuatan tulang yang berpotensi meningkatkan risiko patah tulang (Chotiyarnwong & McCloskey, 2020).

Mekanisme terjadinya osteoblastogenesis karena adanya ikatan antara RANKL dengan RANK di *Bone marrow mesenchymal stromal cells* (BMSC) yang mengaktifkan sinyal maju RANKL. Sinyal maju tersebut menyebabkan terhambatnya proses osteoblastogenesis yang diakibatkan oleh aktifnya NF- κ B untuk mendegradasi β -catenin (Cao, 2018). Sinyal maju RANKL merangsang pembentukan osteoklas dan berperan dalam resorpsi tulang (Honma, 2023). β -catenin diperlukan dalam proses diferensiasi sel prekursor mesenkim menjadi osteoblas dan kelangsungan hidup osteoblas. Sehingga jika terjadi degradasi β -catenin, maka akan menyebabkan menurunnya massa tulang yang diakibatkan oleh peningkatan resorpsi tulang (Duan & Bonewald, 2016).

Pada penelitian Manuel Gado, et al yang berjudul *Bad to the Bone: The Effects of Therapeutic Glucocorticoids on Osteoblasts and Osteocytes* (2022), osteoblas dan osteosit merupakan target utama dari glukokortikoid yang dapat mempengaruhi berbagai aspek pembentukan dan fungsi osteoblas. Glukokortikoid menginduksi apoptosis osteoblas dan osteosit serta menyebabkan gangguan pada jaringan lacuna-kanalikular osteosit yang mempengaruhi kualitas tulang (Gado, Baschant, Hofbauer, & Henneicke, 2022).

Pada penelitian Jishang Huang, et al yang berjudul *Geniposide ameliorates glucocorticoid-induced osteoblast apoptosis by activating autophagy* (2022), menyatakan bahwa peningkatan apoptosis osteoblas merupakan gambaran patologis osteoporosis yang penting (Huang, et al., 2022). Pada penelitian Samaneh Mollazadeh, et al mengenai *Role of apoptosis in pathogenesis and treatment of bone-related diseases* (2015), menyatakan bahwa apoptosis osteoblas dapat menimbulkan berbagai penyakit tulang, terutama osteoporosis. Dimana apoptosis osteoblas dapat diinduksi oleh lipid teroksidasi yang kemudian menghambat diferensiasi osteoblas melalui mekanisme independen *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Mollazadeh, Bazzaz, & Kerachian, 2015).

Alasan kenapa peningkatan apoptosis osteoblas menjadi bagian yang paling penting dalam mekanisme terjadinya osteoporosis, yaitu karena fungsi dari osteoblas yang menghasilkan protein matriks ekstraseluler dan faktor parakrin yang mendukung pertumbuhan dan pembentukan jaringan tulang (Bradley, Westendorf, Wijnen, & Dudakovic, 2018). Protein matriks tulang yang disekresikan oleh osteoblas yaitu kolagen tipe 1, osteocalcin, osteonektin, dan osteopontin (Maynard & Downes, 2019). Protein-protein tersebut berfungsi dalam proses pembentukan tulang, mineralisasi, dan memberikan dukungan struktural (Sromova, Sobola, & Kaspar, 2023). Sehingga jika terjadi peningkatan apoptosis osteoblas,

maka akan mengganggu produksi dari protein matriks tulang dan terjadi ketidakseimbangan proses remodeling tulang.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini yang menguji efek pemberian deksametason dan prednison dosis rendah terhadap jumlah osteoblas dengan menggunakan hewan coba yang sehat, dapat disimpulkan bahwa obat deksametason dan prednison memiliki efek terhadap penurunan jumlah osteoblas femur tikus wistar yang diakibatkan karena meningkatnya osteoblas yang mengalami apoptosis dan dari hasil penelitian ini juga dapat diketahui bahwa kelompok yang diinduksi deksametason memiliki efek dalam menurunkan jumlah osteoblas yang lebih besar daripada kelompok yang diinduksi prednison. Kondisi tersebut akan menyebabkan terjadinya *glucocorticoid-induced osteoporosis*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan terima kasih atas dukungan, inspirasi dan bantuan kepada semua pihak dalam membantu peneliti menyelesaikan penelitian ini, termasuk pada peserta yang telah bersedia berpartisipasi dalam penelitian hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditama, A. P., Muslikh, F. A., Shirvi, I. N., Islamiyah, F. R., Putra, K. H., Inayatilah, F. R., Et Al. (2021). Efek Induksi Proliferasi Sel Osteoblas Tulang Trabekular Mencit Jantan Oleh Ekstrak Etanol 96% Daun Semanggi (*Marsilea Crenata Presl.*) . *Jurnal Sains Dan Kesehatan* .
- Akkawi, I., & Zmerly, H. (2018). Osteoporosis: Current Concepts. *Thieme* , 122.
- Arias-Pinilla, G. A., & Brown, J. (2022). *Bone Sarcomes And Bone Metastases - From Bench To Bedside (Third Edition)*. Amsterdam: Elsevier.
- Bradley, E., Westendorf, J. J., Wijnen, A. J., & Dudakovic, A. (2018). Osteoblasts: Function, Development, And Regulation. *Wiley* .
- Cao, X. (2018). RANKL-RANK Signaling Regulates Osteoblast Differentiation And Bone Formation. *Bone Research* .
- Chaichit, S., Sato, T., Yu, H., Tanaka, Y.-K., Ogra, Y., Mizoguchi, T., Et Al. (2021). Evaluation Of Dexamethasone-Induced Osteoporosis In Vivo Using Zebrafish Scales. *Pharmaceuticals* .
- Chotiyarnwong, P., & McCloskey, E. V. (2020). Pathogenesis Of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis And Options For Treatment. *Nature Reviews Endocrinology* .
- Duan, P., & Bonewald, L. (2016). The Role Of The Wnt/B-Catenin Signaling Pathway In Formation And Maintenance Of Bone And Teeth. *The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology* .
- Esclassan, E. N., Valera, M. C., Tremollieres, F., Arnal, J. F., Lenfant, F., Fontaine, C., Et Al. (2021). Critical Role Of Estrogens On Bone Homeostasis In Both Male And Female: From Physiology To Medical Implications. *International Journal Of Molecular Sciences* .
- Gado, M., Baschant, U., Hofbauer, L. C., & Henneicke, H. (2022). Bad To The Bone: The Effects Of Therapeutic Glucocorticoids On Osteoblasts And Osteocytes. *Frontiers In Endocrinology* .
- Honma, M. (2023). Potential Of RANKL Reverse Signal As A New Pharmacological Target.

Japanese Pharmacology Journal .

- Hu, K., & Olsen, B. R. (2017). Vascular Endothelial Growth Factor Control Mechanisms In Skeletal Growth And Repair. *Developmental Dynamics : An Official Publication Of The American Association Of Anatomists* .
- Huang, J., Ye, Y., Xiao, Y., Ren, Q., Zhou, Q., Mingliang, Z., Et Al. (2022). Geniposide Ameliorates Glucocorticoid-Induced Osteoblast Apoptosis By Activating Autophagy. *Biomedicine & Pharmacotherapy* .
- Johnson, D. B., Lopez, M. J., & Kelley, B. (2022). Dexamethasone. *Statpearls* .
- Lane, N. E. (2019). Glucocorticoid Induced Osteoporosis: New Insights Into The Pathophysiology And Treatments. *Current Osteoporosis Reports* .
- Maynard, R. L., & Downes, N. (2019). *Anatomy And Histology Of The Laboratory Rat In Toxicology And Biomedical Research*. Birmingham: Academic Press.
- Mendoza, S. V., Genetos, D. C., & Yellowley, C. E. (2023). Hypoxia-Inducible Factor-2 α Signaling In The Skeletal System. *JBMR Plus* .
- Mollazadeh, S., Bazzaz, B. S., & Kerachian, M. A. (2015). Role Of Apoptosis In Pathogenesis And Treatment Of Bone-Related Diseases. *Journal Of Orthopaedic Surgery And Research*
- Sengupta, P. (2013). The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's . *International Journal Of Preventive Medicine* .
- Sromova, V., Sobola, D., & Kaspar, P. (2023). A Brief Review Of Bone Cell Function And Importance. *Cells* .
- Suryana, B. P. (2021). *Diagnosis Dan Pengelolaan Osteoporosis Akibat Glukokortikoid*. Jakarta: Perhimpunan Reumatologi Indonesia.
- Vimalraj, S. (2020). Alkaline Phosphatase: Structure, Expression And Its Function In Bone Mineralization.
- Weinstein, R. S., Hogan, E. A., Borrelli, M. J., Liachenko, S., O'Brien, C. A., & Manolagas, S. C. (2017). The Pathophysiological Sequence Of Glucocorticoid-Induced Osteonecrosis Of The Femoral Head In Male Mice. *Endocrinology* .