

# PENGARUH TERAPI SULIH HORMON ESTROGEN, PREPARAT KALSIUM DAN KOMBINASINYA PADA TULANG MANDIBULA (Studi eksperimental laboratorik pada tikus Wistar setelah ovariektomi)

Niniarty ZD, H.A Gunawan, Dewi Fatma, Sri Anky, Ferry Gultom, S.Utami

Bagian Biologi Mulut  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

Niniarty ZD, H.A Gunawan, Dewi Fatma, Sri Anky, Ferry Gultom, S.Utami; Pengaruh Terapi Sulih Hormon Estrogen, Preparat Kalsium Dan Kombinasinya Pada Tulang Mandibula (Studi eksperimental laboratorik pada tikus Wistar setelah ovariektomi). Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia 2003; 10 (Edisi Khusus):321-328

## Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effects of ovariectomy, the influences of estrogen replacement therapy and / or suplemen  $\text{CavitD}_3$  on mandible's calcium contents of animal's models. Forty-five female rats were used in this researched. Five rats were sacrificed for unoperated basal controls and the others were bilaterally ovariectomized. The ovariectomized animals were divided into 8 groups and two of these groups were only ovariectomized, the others were treated by estrogen replacement therapy,  $\text{CavitD}_3$  and combination of both per oral for 2 and 4 weeks and then were sacrificed. Mandible's calcium contents were analyzed by Ion Selective Electrode methode after demineralized with 10 % phosphoric acid for 24 hours. Result : there were significant increased of mandible's calcium content at 2 weeks post-ovariectomy, but the results decreased at 4 weeks post-ovariectomy. Estrogen replacement therapy and treated with  $\text{CavitD}_3$  for 2 and 4 weeks or combination of both for 2 weeks increased the mandible's calcium contents of ovariectomized rats, but therapy combination with estrogen and  $\text{CavitD}_3$  for 4 weeks had a protective effect to mandible's calcium contents of ovariectomized rats

Key words: Ovariectomy; estrogen replacement therapy; suplemen kalsium & vit.  $\text{D}_3$ ; mandible's calcium content; osteoporosis; Ion Selective Electrode methode

## Pendahuluan

Tulang merupakan jaringan yang sangat dinamis, artinya selalu terjadi kerusakan tulang (resorpsi) yang diikuti dengan pembentukan tulang baru, yang disebut sebagai proses *remodeling*. Proses ini diperlukan untuk menjaga tulang tetap sehat dan berbagai faktor yang berperan

adalah faktor hormonal antara lain estrogen, mineral antara lain kalsium, vitamin D, status kesehatan, kegiatan fisik, gaya hidup dan faktor genetik.<sup>1</sup>

Dalam kehidupan wanita tanpa disadari akan terjadi dua fase kehilangan massa tulang yaitu fase awal yang berjalan cepat dan dimulai saat menopause sampai 6-10 tahun kemudian, dilanjutkan dengan

fase berikutnya yang berjalan lambat sampai akhir hayat.<sup>2</sup>

Hilangnya massa tulang tersebut berkaitan dengan berhentinya produksi estrogen oleh ovarium saat menopause sehingga kadar estrogen dalam darah akan cepat sekali berkurang mencapai level terendah, kemudian relatif konstan selama hidup. Akibatnya terjadi gangguan absorpsi kalsium di usus sehingga kalsium darah berkurang dan untuk mengembalikan kadar kalsium di darah tersebut maka kalsium tulang akan dilepas. Bila keadaan ini dibiarkan akan terjadi osteoporosis.<sup>2,3</sup>

Estrogen adalah salah satu hormon seks yang bekerja pada tulang melalui daya afinitas yang tinggi terhadap reseptor-reseptor di osteoblast dan osteoklast dengan efek utamanya untuk mempertahankan keseimbangan antara resorpsi dan pembentukan tulang. Kekurangan estrogen dalam darah sudah terbukti sebagai penyebab utama osteoporosis pada wanita dan hilangnya massa tulang pada laki-laki lansia.<sup>4</sup> Hilangnya massa tulang sebagai proses menua yang fisiologis kira-kira 1% pertahun, sedangkan pada wanita terjadi percepatan hilangnya massa tulang setelah menopause.<sup>5</sup>

Osteoporosis banyak mengenai tulang-tulang panjang seperti tulang belakang, tulang panggul, tulang pergelangan tangan dsb, namun dari penelitian yang dilakukan oleh Daniel (1983) dan Kribbs (1990) dilaporkan bahwa ada hubungan yang erat antara osteoporosis dengan hilangnya massa tulang alveolar.<sup>6</sup> Sims dkk. (1996) telah membuktikan bahwa ovariektomi bilateral pada tikus percobaan akan menginduksi *osteoporotic bone loss* pada trabekula tulang rahang karena ovariektomi akan menstimulasi kerja osteoklast.<sup>7</sup>

Meskipun telah banyak penelitian yang difokuskan terhadap *bone loss* tulang-tulang panjang dan hubungannya dengan osteoporosis serta terjadinya resorpsi tulang rahang, tetapi belum ada yang dapat menjawab secara jelas faktor-faktor yang menyebabkan resorpsi tulang rahang. Bila resorpsi tulang rahang dikaitkan dengan pemakai gigi tiruan lepasan pada kelompok wanita menopause, maka sering timbul

keluhan gigi tiruannya cepat longgar dan tidak stabil. Keadaan ini menggambarkan terjadinya resorpsi tulang rahang akibat tekanan dari basis gigi tiruannya pada tulang dengan densitas massa tulang yang menurun sehingga terjadi reduksi residual ridge yang berkelanjutan.<sup>8</sup>

Densitas massa tulang sangat dipengaruhi oleh kadar kalsium dan fosfat yang dideposit pada matriks organik tulang membentuk garam kristal yang disebut hidroksi apatit:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ .<sup>9</sup> Lepasnya kalsium dari tulang akibat proses resorpsi oleh osteoklast yang berketetapan berakibat tulang mengalami osteoporosis. Berbagai cara telah dilakukan untuk mencegah dan mengobati osteoporosis, misalnya terapi sulih hormon dan penggunaan suplemen yang mengandung kalsium. Estradiol, merupakan salah satu bentuk preparat estrogen dan CavitD<sub>3</sub> (suplemen kalsium dan vitamin D<sub>3</sub>), yang banyak digunakan secara tunggal maupun dalam bentuk kombinasi untuk mencegah maupun mengobati osteoporosis.

Pemberian estrogen dengan dosis 0,625mg per hari telah terbukti dapat mencegah hilangnya massa tulang panjang pada fase awal menopause.<sup>10</sup> Sedangkan asupan kalsium dari suplemen sebesar 400 mg dan diberikan 2 kali sehari dapat menjaga stabilitas massa tulang dengan menahan *bone loss*.<sup>11</sup>

Permasalahannya adalah apakah dengan berkurangnya kadar estrogen dalam darah dapat segera menurunkan densitas massa tulang mandibula dan apakah terapi sulih hormon estrogen, pemberian suplemen kalsium atau kombinasinya pada fase awal menopause dapat mempengaruhi densitas tulang mandibulanya.

## Bahan dan Cara Kerja

### Subjek penelitian

Sebagai subjek penelitian adalah 45 ekor tikus Wistar betina usia  $\pm$  4 bulan dan sudah melahirkan 1 kali, dengan berat badan berkisar 154 sampai 250 gram, dibagi atas 9 kelompok

Kelompok I : tidak dilakukan ovariectomi (ovx) sebagai kelompok kontrol.

Kelompok II : dilakukan ovx bilateral, setelah 2 minggu tikus dimatikan dan diambil tulang mandibulanya

Kelompok III : dilakukan ovx bilateral, setelah 4 minggu tikus dimatikan dan diambil tulang mandibulanya

Kelompok IV : tikus ovx yang diberi suplemen CavitD<sub>3</sub> per oral sekali sehari selama 2 minggu lalu tikus dimatikan dan diambil tulang mandibulanya

Kelompok V : tikus ovx yang diberi suplemen CavitD<sub>3</sub> per oral sekali sehari selama 4 minggu lalu tikus dimatikan dan diambil tulang mandibulanya

Kelompok VI : tikus ovx yang diberi hormon estrogen per oral sekali sehari selama 2 minggu lalu tikus dimatikan dan diambil tulang mandibulanya

Kelompok VII : tikus ovx yang diberi hormon estrogen per oral sekali sehari selama 4 minggu lalu tikus dimatikan dan diambil tulang mandibulanya

Kelompok VIII : tikus ovx yang diberi estrogen dan CavitD<sub>3</sub> per oral selama 2 minggu lalu tikus dimatikan dan diambil tulang mandibulanya

Kelompok IX : tikus ovx yang diberi estrogen dan CavitD<sub>3</sub> per oral selama 4 minggu lalu tikus dimatikan dan diambil tulang mandibulanya

Penetapan dosis estrogen dan CavitD<sub>3</sub> berdasarkan dosis untuk manusia dengan berat badan rata-rata 50 kg, yang disetarakan dengan berat badan tikus (dalam gram) dan dikalikan 20.

### Persiapan sampel

Tulang mandibula dari masing-masing kelompok direndam dalam larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10% selama 3 hari untuk menghilangkan jaringan lunak yang melekat pada tulang, kemudian dikeringkan dengan alat pengering (dryer) selama 30 menit. Tulang mandibula sisi kanan dipisahkan dari sisi kiri, semua gigi dilepas dari soketnya, tulang ditimbang beratnya dengan timbangan digital, lalu direndam dalam 50ml asam fosfat 10% selama 24 jam (sampai tulang terlihat transparan). Kolagen tulang dikeluarkan dan larutan asam fosfat tersebut merupakan sampel yang akan diukur konsentrasi kalsium yang ada di dalamnya dengan cara *Ion Selective Electrode (ISE)*

### Pengukuran kadar kalsium

1. Elektroda yang sudah terpasang pada alat dikalibrasi dengan larutan CaCl<sub>2</sub> konsentrasi 100ppm
2. Pengukuran kadar kalsium dilakukan pada setiap sampel secara triplo, sehingga masing-masing kelompok diperoleh n = 15 Elektroda harus dicuci dengan akuadem dan dikeringkan dengan tissue setiap saat selesai pengukuran
3. Hasil yang tertera pada alat menyatakan kadar kalsium dalam ppm

## Hasil

Tabel 1. Kadar kalsium dalam tulang

	Kel.I	Kel.II	Kel.III	Kel.IV	Kel.V	Kel.VI	Kel.VII	Kel.VIII	Kel.IX
n	15	15	15	15	15	15	15	15	15
$\bar{x}$	23.4	24	21.6	23.7	26	24.8	25.4	24.1	23.8
SD	0.34	0.17	0.23	0.42	0.94	0.89	0.76	0.69	0.24

Tabel 2. Kadar kalsium setiap kelompok perlakuan dalam waktu 2 dan 4 minggu

Waktu	Ovx	Ovx+CavD <sub>3</sub>	Ovx+Estrogen	Ovx+kombinasi	Tdk Ovx (kontrol)
2 minggu	n = 15 $\pi$ = 24 SD = 0.17	n = 15 $\pi$ = 23,7 SD = 0.42	n = 15 $\pi$ = 24.8 SD = 0.89	n = 15 $\pi$ = 24.1 SD = 0.69	n = 15
4 minggu	n = 15 $\pi$ = 21.6 SD = 0.23	n = 15 $\pi$ = 26 SD = 0.94	n = 15 $\pi$ = 25.4 SD = 0.76	n = 15 $\pi$ = 23.8 SD = 0.24	$\pi$ = 23.4 SD = 0.34

n = jumlah sampel;  $\pi$  = kadar rata-rata kalsium dalam tulang; SD = Standard Deviasi

Berdasarkan uji statistik dengan SPSS (lihat tabel pada lampiran) diperoleh hasil sbb.:

1. Kadar kalsium kel. ovx 2 minggu berbeda bermakna dengan kel. kontrol ( $p < 0.05$ )
2. Kadar kalsium kel. ovx + CavitD<sub>3</sub> 2 minggu berbeda bermakna dengan kel. kontrol ( $p < 0.05$ )
3. Kadar kalsium kel. ovx + estrogen 2 minggu berbeda bermakna dengan kel. kontrol ( $p < 0.05$ )
4. Kadar kalsium kel. ovx + estrogen dan CavitD<sub>3</sub> selama 2 minggu berbeda bermakna dengan kel. kontrol ( $p < 0.05$ )
5. Kadar kalsium kel. ovx 2 minggu tidak berbeda dengan kel. ovx + CavitD<sub>3</sub> 2 minggu ( $p > 0.05$ )
6. Kadar kalsium kel. ovx 2 minggu berbeda bermakna dengan kel. ovx + estrogen 2 minggu ( $p < 0.05$ )
7. Kadar kalsium kel. ovx 2 minggu tidak berbeda dengan kel. ovx + estrogen dan CavitD<sub>3</sub> 2 minggu ( $p > 0.05$ )
8. Kadar kalsium kel. ovx + CavitD<sub>3</sub> 2 minggu berbeda bermakna dengan kel. ovx + estrogen 2 minggu ( $p < 0.05$ )
9. Kadar kalsium kel. ovx + CavitD<sub>3</sub> 2 minggu tidak berbeda dengan kel. ovx + estrogen dan CavitD<sub>3</sub> 2 minggu ( $p > 0.05$ )
10. Kadar kalsium kel. ovx + estrogen 2 minggu berbeda bermakna dengan kel. ovx + estrogen dan CavitD<sub>3</sub> 2 minggu ( $p < 0.05$ )
11. Kadar kalsium kel. ovx 4 minggu berbeda bermakna dengan kel. kontrol ( $p < 0.05$ )
12. Kadar kalsium kel. ovx + CavitD<sub>3</sub> 4 minggu berbeda bermakna dengan kel. kontrol ( $p < 0.05$ )
13. Kadar kalsium kel. ovx + estrogen 4 minggu berbeda bermakna dengan kel. kontrol ( $p < 0.05$ )
14. Kadar kalsium kel. ovx + estrogen dan CavitD<sub>3</sub> 4 minggu tidak berbeda dengan kel. kontrol ( $p > 0.05$ )
15. Kadar kalsium kel. ovx 4 minggu berbeda bermakna dengan kel. ovx + cavitD<sub>3</sub> 4 minggu ( $p < 0.05$ )
16. Kadar kalsium kel. ovx 4 minggu berbeda bermakna dengan kel. ovx + estrogen 4 minggu ( $p < 0.05$ )
17. Kadar kalsium kel. ovx 4 minggu berbeda bermakna dengan kel. ovx + estrogen dan CavitD<sub>3</sub> 4 minggu ( $p < 0.05$ )
18. Kadar kalsium kel. ovx + CavitD<sub>3</sub> 4 minggu berbeda bermakna dengan kel. ovx + estrogen 4 minggu ( $p < 0.05$ )
19. Kadar kalsium kel. ovx + CavitD<sub>3</sub> 4 minggu berbeda bermakna dengan kel. ovx + estrogen dan CavitD<sub>3</sub> 4 minggu ( $p < 0.05$ )
20. Kadar kalsium kel. ovx + estrogen 4 minggu berbeda bermakna dengan kel. ovx + estrogen dan CavitD<sub>3</sub> 4 minggu ( $p < 0.05$ )

## Pembahasan

Subjek penelitian yang digunakan adalah tikus Wistar betina yang diovariektomi sehingga diperoleh kondisi yang seolah-olah sama dengan keadaan menopause, artinya hormon estrogen tidak lagi diproduksi. Hormon ini berperan menekan kerja osteoklast serta membantu proses penyerapan kalsium di tulang. Bila tubuh kekurangan estrogen maka kadar kalsium dalam darah berkurang sehingga untuk mengembalikan keseimbangan kalsium di darah maka kalsium tulang akan dilepas karena tulang merupakan tempat cadangan mineral yang paling dinamis.<sup>12</sup>

Lamanya perlakuan disini ditetapkan selama 2 minggu dengan asumsi bahwa 2 minggu setelah ovariektomi, secara histologis osteoklast sudah tampak pada permukaan tulang, sedangkan menurut Tong Cao dkk (2001) mengatakan bahwa hilangnya mineral pada tulang mandibula kelinci terjadi 4 minggu setelah ovariektomi terutama pada bagian trabekulanya.<sup>13</sup> Pernyataan ini sesuai dengan hasil pada kelompok III yaitu menurunnya kadar kalsium tulang mandibula kelompok ovx 4 minggu bila dibandingkan kelompok kontrol. Tetapi ini bertentangan dengan hasil penelitian Ismail dkk (1988), Kalu dkk (1993) serta Barlet dkk (1994), yang mengatakan bahwa resorpsi tulang meningkat pada fase awal yaitu 7 hari setelah ovariektomi.<sup>14</sup> Perbedaan hasil mungkin disebabkan karena pada penelitian ini tidak menggunakan kelompok *sham operated* sebagai kelompok kontrol. Tetsuya Hara dkk (2000) mengatakan bahwa ovariektomi akan menginduksi *bone loss* tulang mandibula sebagai akibat meningkatnya *bone turnover*.<sup>15</sup> Sedangkan Tanaka dkk (2002) juga telah membuktikan bahwa ovariektomi akan mengakibatkan densitas massa tulang menurun sehingga terjadi *osteoporotic changes*.<sup>16</sup>

Kadar kalsium pada kelompok II (ovx 2 minggu) lebih tinggi dari kelompok kontrol. Hasil ini bertentangan dengan hasil penelitian Ismail dkk (1988), Kalu dkk (1993) dan Barlet dkk (1994).

Meningkatnya kadar kalsium pada kelompok ini dibanding kelompok kontrol kemungkinan disebabkan oleh faktor stress akibat tindakan ovariektomi sehingga stress ini akan memicu penyimpanan kalsium di tulang.

Pemberian preparat estrogen, suplemen kalsium atau kombinasinya pada penelitian ini bertujuan untuk mencegah terjadinya *bone loss* pada tulang mandibula setelah ovariektomi. Konsumsi CavitD<sub>3</sub> selama 2 minggu pada tikus yang diovariektomi tidak dapat mempertahankan kadar kalsiumnya, malah meningkatkan dengan  $p < 0.05$  (lihat lampiran). Demikian juga pada pemberian estrogen maupun kombinasi estrogen dan CavitD<sub>3</sub> selama 2 minggu akan meningkatkan kadar kalsium tulang mandibula dengan  $p < 0.05$  (tabel 3).

Perlakuan pada subjek penelitian yang diovariektomi dengan pemberian preparat estrogen maupun CavitD<sub>3</sub> selama 4 minggu akan memberi efek peningkatan kadar kalsium tulang mandibulanya dengan  $p < 0.05$ . Tetapi pemberian estrogen yang dikombinasikan dengan CavitD<sub>3</sub> selama 4 minggu dapat mempertahankan kadar kalsium tulang mandibula, artinya kadar kalsium tulang mandibula tikus ovx yang diberi estrogen dan CavitD<sub>3</sub> selama 4 minggu sama dengan kadar kalsium kelompok kontrol ( $p > 0.05$ ).

Berbagai strategi telah dianjurkan untuk mencegah hilangnya massa tulang antara lain dengan terapi sulih hormon, mengkonsumsi kalsium dan olahraga yang baik. Vitamin D juga berperan pada proses penyerapan kalsium di usus dan menjaga kesehatan tulang. Hubungan antara absorpsi kalsium dengan vitamin D diibaratkan seperti kunci pintu dengan anak kuncinya artinya vitamin D berfungsi sebagai anak kunci yang menjaga pintu tidak terkunci untuk membiarkan kalsium melewati usus halus dan masuk ke aliran darah. Vitamin D juga bekerja di ginjal untuk membantu menyerap kembali kalsium yang karena alasan tertentu dikeluarkan dari tubuh.<sup>17</sup>

Estrogen adalah salah satu hormon yang sangat berperan pada proses remodeling tulang, kekurangan estrogen dapat menyebabkan hilangnya massa tulang (*bone loss*), oleh karena itu terapi sulih

hormon merupakan pilihan pertama untuk mencegah dan pengobatan osteoporosis pada wanita postmenopause. Akan tetapi penggunaan estrogen juga dapat menimbulkan efek samping seperti perdarahan vagina, resiko kanker payudara dan endometrium.<sup>18</sup> Oleh karena itu harus berhati-hati dalam memutuskan pemberian preparat estrogen sebab sampai berapa lamakah hormon ini diberikan masih belum jelas. walaupun sudah ada yang mengatakan bahwa pemberian estrogen selama 5 sampai 10 tahun sudah dapat menurunkan insidens osteoporosis dan mencegah fraktur.<sup>5</sup>

### Kesimpulan

1. Empat minggu setelah tindakan ovariectomi akan memberi efek penurunan kadar kalsium tulang mandibula tikus
2. Pemberian CavitD3 selama 2 minggu dan 4 minggu pada tikus ovx akan meningkatkan kadar kalsium tulang mandibulanya
3. Pemberian preparat estrogen selama 2 minggu dan 4 minggu pada tikus ovx akan meningkatkan kadar kalsium tulang mandibulanya
4. Pemberian estrogen dan CavitD3 selama 2 minggu pada tikus ovx akan meningkatkan kadar kalsium tulang mandibulanya. sedangkan pemberian selama 4 minggu dapat mempertahankan kadar kalsium tulang mandibulanya

### Daftar pustaka

1. Marieb EN. *Human Anatomy & Physiology*. Ed. 5. Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman Inc. 2001: 184 – 186
2. Heshmati HM, Khosla S, Robins SP, O'Fallon WM, Melton LJ III, Riggs BL. Role of Endogenous Estrogen in Regulation of Bone Resorption in Late Postmenopausal Women. *Journal of Bone and Mineral Res.* 2002.17 (1) : 172 - 177

3. Gottlieb SL. Osteoporosis and Oral Bone Loss Prevention. *American Dental Association News.* 2000. 17: 3 (8).
4. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ III. A Unitary Model for Involutional Osteoporosis : Estrogrn deficiency causes both type I and tipe II Osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. *Journal of Bone Min. Res.* 1998. 13 : 763 - 773
5. Krejci CB. Osteoporosis and Periodontal Disease : Is There a Relationship ? *Periodontal Abstracts.* 1996. 44 (2) : 37 - 41
6. Jeffcoat MK, Lewis CE, Reddy MS, Wang CJ, Redford M. Postmenopausal Bone Loss and its relationship to oral bone loss. *Periodontology* 2000. 2000. 23 : 94 – 102
7. Sims NA, Morris NA, Moor RJ, Durbridge TC. Increased bone resorption precedes increased bone formation in the ovariectomized rat. *Calcif. Tissue Int.* 1996.59 : 121-127
8. Wowern NV. General and oral aspects of osteoporosis : a review. *Clin. Oral Invest.* 2001. 5 : 71– 82
9. Guyton AC. *Human physiology & Mechanisms of Disease*. Ed. 5. WB. Saunders. 1992 : 590 - 595
10. Lopez FJ. New Approaches to the treatment of Osteoporosis. *Current opinion in Chemical Biology.* 2000. 4 : 383 – 393
11. Ruml LA, Sakhaee K, Peterson R, Adams-Huet B, Pak CY. The effect Calcium Citrate on bone density in the early and mid-postmenopausal period : a randomized placebo-controlled study. *American Journal Ther.* 1999.6 : 303 – 311
12. Ferguson DB. *Calcium and phosphorus metabolism in Oral Bioscience.* Churchill Livingstone, 1999 : 3 – 8
13. Cao J, Shirota T, Yamazaki M, Ohno K, Michi K. Bone mineral density in mandibles of ovariectomized rabbits. *Clin. Oral Impl. Res.* 2001.12 : 604 – 608
14. Tanaka S, Shimizu M, dkk. Acute effects of ovariectomy on wound healing of alveolar bone after maxillary molar extraction in aged Rats. *The Anatomical Record.* 2001. 262 : 202 – 213
15. Hara T, Sato T, Oka M, Mori S, Shirai H. Effects of ovariectomy and / or dietary calcium deficiency on bone dynamic in the Rat hard palate, mandible and proximal tibia. *Archives of Oral Biology.* 2001. 46 : 443 – 451
16. Tanaka M, Ejiri S, Toyooka E, dkk. Effects of ovariectomy on trabecular

- structures of Rat alveolar bone. *J. Periodont. Res.* 2002. 37 : 161 – 165
17. Dewoto HR. Aspek Farmakologi Obat-obat untuk Osteoporosis. *Indonesian*

- Journal of Pharmacology and Therapeutics.* 1993. 10 ( 1-4) : 31 – 32
18. Kooistra T, Emeis JJ. Hormone Replacement Therapy. *Current Opinion in Chemical Biology.* 1999. 3 : 495 – 499

Lampiran

1. Test Normalitas dengan Kolmogorov-Smirnov

	Statistic	df	Sig.
Tdk ovx	.322	15	.000
Ovx 2 minggu	.151	15	.200
Ovx 4 minggu	.292	15	.001
OvxcavitD3 2 mgg	.151	15	.200
OvxcavitD3 4 mgg	.362	15	.000
Ovxestrog 2 mgg	.300	15	.001
Ovxestrog 4 mgg	.189	15	.155
Ovxcavestrg 2 mgg	.202	15	.100
Ovxcavestrg 4 mgg	.222	15	.046

2. Test Homogenitas dari varians

	Levene statistic	df1	df2	Sig.
Perlakuan 2 mg	6.249	4	70	.000
Perlakuan 4mg	8.778	4	70	.000

3. ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean square	F	Sig.
Perl. 2 mgg	Between Grp.	12.727	4	3.182	9.896	.000
	Within Grp.	22.508	70	.322		
	Total	35.235	74			
Perl. 4 mgg	Between Grp.	182.879	4	45.720	135.947	.000
	Within Grp.	23.541	70	.336		
	Total	206.420	74			

4. Multiple Comparisons ( Bonferroni )

Dependent Var	(I)PLK	(J)PLK	Mean difference	Std.error	Sig.
Perlk. 2 mgg	blank	Ovx	-.6067	.2071	.046
		Ovxca	-.6067	.2071	.046
		Ovxes	-1.3000	.2071	.000
		Ovxkomb	-.6733	.2071	.018
		Ovx	.6067	.2071	.046
Ovx	blank	Ovxca	.0000	.2071	1.000
		Ovxes	-.6933	.2071	.013
		Ovxkomb	-6.6667E-02	.2071	1.000
		Ovxca	.6067	.2071	.046
Ovxca	blank	Ovx	.0000	.2071	1.000
		Ovxes	-.6933	.2071	.013
		Ovxkomb	-6.6667E-02	.2071	1.000
		Ovxes	1.3000	.2071	.000
Ovxes	blank	Ovx	.6933	.2071	.013
		Ovxca	.6933	.2071	.013
		Ovxkomb	.6267	.2071	.035
		Ovxkomb	.6733	.2071	.018
Ovxkomb	blank	Ovx	6.667E-02	.2071	1.000
		Ovxca	6.667E-02	.2071	1.000
		Ovxes	-.6267	.2071	.035
		Ovx	1.7867	.2118	.000
Perlk. 4 mgg	blank	Ovxca	-2.6467	.2118	.000
		Ovxes	-1.9933	.2118	.000
		Ovxkomb	-.4467	.2118	.385
		Ovx	-1.7867	.2118	.000
Ovx	blank	Ovxca	-4.4333	.2118	.000
		Ovxes	-3.7800	.2118	.000
		Ovxkomb	-2.2333	.2118	.000
		Ovxca	2.6467	.2118	.000
Ovxca	blank	Ovx	4.4333	.2118	.000
		Ovxes	.6533	.2118	.029
		Ovxkomb	2.2000	.2118	.000
		Ovxes	1.9933	.2118	.000
Ovxes	blank	Ovx	3.7800	.2118	.000
		Ovxca	-.6533	.2118	.029
		Ovxkomb	1.5467	.2118	.000
		Ovxkomb	.4467	.2118	.385
Ovxkomb	blank	Ovx	2.2333	.2118	.000
		Ovxca	-2.2000	.2118	.000
		Ovxes	-1.5467	.2118	.000