

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK RUMPUT FATIMAH (*LABISIA PUMILA*)
TERHADAP OSTEOKALSI SERUM DAN DEOXYPIRIDINOLIN URIN PADA
TIKUS POST OVARIIEKTOMI**

Nelly Mariati

Abstrak

*Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak rumput fatimah (*Labisia pumila*) terhadap osteokalsin serum dan deoxypiridinolin urin pada tikus post ovariektomi. Metode : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, dilakukan di laboratorium Farmakologi dan Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Menggunakan tikus ovariektomi. Penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif dan 3 kelompok perlakuan pemberian ekstrak rumput fatimah. Pengukuran osteokalsin dan deoxypiridinolin menggunakan elisa kit. Data hasil penelitian dianalisis dengan teknik analisis data. Hasil : Terdapat pengaruh pemberian ekstrak rumput fatimah terhadap penurunan osteokalsin serum dan peningkatan deoxypiridinolin urin pada tikus post ovariektomi. Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi deoxypiridinolin dengan ekspresi osteokalsin, hal ini menunjukkan bahwa perubahan ekspresi deoxypiridinolin tidak diikuti perubahan pada ekspresi osteokalsin. Pemberian rumput fatimah mampu mempengaruhi perubahan ekspresi deoxypiridinolin sebesar 53,46% dan perubahan ekspresi osteokalsin sebesar 66,97%. Sisanya dijelaskan oleh faktor lain yang tidak terlibat dalam penelitian. Kesimpulan : Pemberian ekstrak rumput fatimah dapat menurunkan osteokalsin serum dan meningkatkan deoxypiridinolin urin pada tikus post ovariektomi.*

Kata Kunci : Rumput Fatimah, Osteokalsin, Deoxypiridinolin

Abstract

*This study aims to determine the effect of seaweed extract fatimah (*Labisia pumila*) on serum osteocalcin and urine deoxypiridinolin post ovariectomy in rats. Methods: This was an experimental study, conducted in the laboratory of Pharmacology and Physiology UB School of Medicine unfortunat. Using ovariectomized rats. This study is divided into five groups, namely one negative control, one positive control group and three treatment groups fatimah grass extract. Measurement of osteocalcin and deoxypiridinolin using elisa kits. The data were analyzed with data analysis techniques. Results: There fatimah effect of seaweed extract to decrease serum osteocalcin and urine deoxypiridinolin increase in mice post ovariectomy. No significant correlation between the expression of deoxypiridinolin with osteocalcin expression, suggesting that changes in the expression of deoxypiridinolin not followed changes in the expression of osteocalcin. Giving grass fatimah capable of effecting a change of 53.46% deoxypiridinolin expression and osteocalcin expression change of 66.97%. The rest is explained by other factors not involved in the research. Conclusion: The extract of grass fatimah can lower serum osteocalcin and improve deoxypiridinolin urine in mice post ovariectomy.*

Keywords: Grass Fatimah, osteocalcin, Deoxypiridinolin

PENDAHULUAN

Osteoporosis merupakan salah satu penyakit metabolik tulang yang ditandai dengan penurunan massa tulang dan bukan perubahan kandungannya. Keadaan ini ditandai oleh meningkatnya risiko fraktur akibat kerapuhan tulang¹³. Osteoporosis merupakan suatu gangguan tulang yang dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya hormon seks steroid. Estrogen dapat mempengaruhi keseimbangan proses *Remodelling* tulang yang memiliki efek positif terhadap massa tulang dan mencegah resorpsi tulang. Proses resorpsi tulang oleh osteoklas dan pembentukan tulang baru oleh osteoblas ini disebut *Turnover* tulang^{4,2}.

Osteoblas merupakan sel utama penghasil tulang. Osteoblas mengekspresikan fosfatase alkali dan sejumlah protein matriks, termasuk osteokalsin dan kolagen I. Osteokalsin merupakan salah satu dari penanda aktivitas metabolisme tulang spesifik yang dihasilkan oleh sel osteoblas yang terdapat didalam matriks tulang organik dan digunakan sebagai penanda aktivitas pembentukan tulang^{9,5}. Osteoklas merupakan sel yang bertugas pada proses resorpsi yang diikuti dengan terdegradasinya matriks tulang dan kolagen tipe I. Kolagen tip

diperkuat dengan suatu ikatan silang piridinium yang salah satunya adalah deoxypiridinolin. Deoxypiridinolin telah banyak digunakan sebagai penanda biologis pada proses resorpsi tulang, karena deoxypiridinolin akan ikut terdegradasi saat terjadi resorpsi tulang. Deoxypiridinolin akan disekresi melalui urin, serum dan saliva¹.

Fitoestrogen mempunyai sifat mirip estrogen dengan potensi yang jauh lebih rendah dibandingkan estrogen. Salah satu tanaman yang mengandung fitoestrogen adalah rumput fatimah. Rumput fatimah banyak digunakan secara tradisional dalam proses persalinan, ketidak teraturan menstruasi, mengobati disentri, penyakit gonoro, rematik dan penyakit pada tulang^{15,16,17}. Rumput fatimah (*Labisia pumila*) berasal dari daratan Arab dan dalam bahasa Yunani *Anastatica hierochuntica*, bisa juga disebut akar fatimah, kacip fatimah dan rumput siti fatimah²⁰.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental, post test only control group design*, yang dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya malang pada bulan Juni-Agustus 2015.

Sample yang digunakan adalah tikus betina dan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol negatif (tidak diovariectomi), 1 kelompok kontrol positif (diovariectomi) dan 3 kelompok perlakuan (diovariectomi dan diberi ekstrak rumput fatimah).

Ekstrak yang digunakan adalah rumput fatimah kering dan direndam dalam larutan etanol 96%. Pemberian ekstrak rumput Fatimah selama 8 minggu dan pemberiannya

menggunakan sonde dengan dosis berbeda yaitu 10 mg/KgBB/hari, 20 mg/KgBB/hari dan 40 mg/KgBB/hari.

Pemeriksaan osteokalsin serum dan deoxypiridinolin urin menggunakan metode Elisa Kits dan data hasil pemeriksaan dilakukan dengan teknik analisis data.

HASIL

Uji normalitas dan uji homogenitas

Tabel 1. Uji Normalitas

Variabel	Koefisien	p-value	Ket DPD
0,928	0,080	Normal	OC
0,699	Normal		0,972

Berdasarkan Tabel 1 diatas, pada variabel ekspresi deoxypiridinolin dan osteokalsin didapatkan *p-value* lebih besar dari $\alpha = 0,05$ ($p > 0,05$) menunjukkan asumsi normalitas pada kedua variabel telah terpenuhi.

Tabel 2. Uji Homogenitas

Variabel	Koefisien	p-value	Ket
DPD	1,788	0,171	Homogen
	2,420	0,082	OC
			Homogen

Berdasarkan Tabel 2 diatas, pada variabel ekspresi deoxypiridinolin dan osteokalsin didapatkan *p-value* lebih besar dari $\alpha = 0,05$ ($p > 0,05$) menunjukkan asumsi homogenitas pada kedua variabel telah terpenuhi.

Uji ANOVA

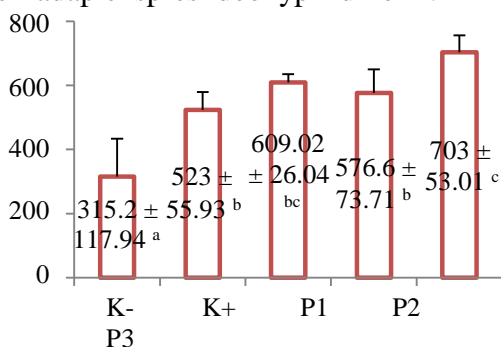
Pengujian pengaruh ekstrak rumput fatimah terhadap deoxypiridinolin urin dengan metode ANOVA

Tabel 3. Perbandingan Ekspresi Deoxypiridinolin dengan Anova dan LSD 5%

Perlakuan	Rata-rata ± SD	<i>p-value</i>
K -	315,2 ± 117,92 ^a	0,000
K +	523,00 ± 55,93 ^b	
P1	609,02 ± 26,04 ^{bc}	
P2	576,60 ± 73,71 ^b	
P3	703,00 ± 53,01 ^c	

Ket : K- (Kontrol Negatif), K+ (Kontrol Positif), P (Perlakuan)

Pada Tabel 3, berdasarkan uji Anova diperoleh hasil *p-value* sebesar 0,000 atau *p-value* lebih kecil dari $\alpha = 0,05$ ($p < 0,05$), dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak rumput fatimah terhadap ekspresi deoxypiridinolin.



Ket : K- (Kontrol Negatif), K+ (kontrol Positif), P (Perlakuan) : P1 (per10 mg/KgBB/hari), P2 (20mg/KgBB/hari), P3 (40mg/KgBB/hari)

Gambar 1. Histogram Rata-rata Deoxypiridinolin pada Urin Tikus

Pada Gambar 1, ditunjukkan rata-rata ekspresi deoxypiridinolin paling tinggi pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak rumput fatimah dengan konsentrasi 40 mg/KgBB/hari.

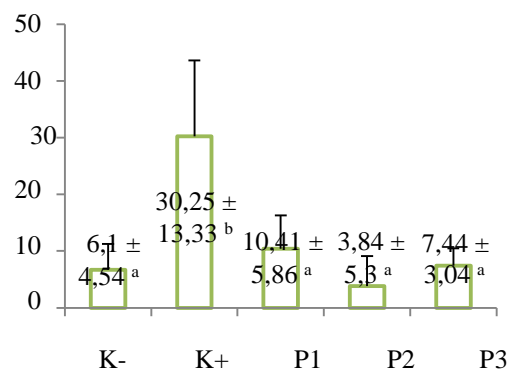
Pengujian pengaruh ekstrak rumput fatimah terhadap osteokalsin serum dengan metode ANOVA

Tabel 4. Perbandingan Ekspresi Osteokalsin dengan Anova dan LSD 5%

Perlakuan	Rata-rata ± SD	<i>p-value</i>
K -	6,71 ± 4,54 ^a	0,000
K +	30,25 ± 13,33 ^b	
P1	10,41 ± 5,86 ^a	
P2	3,84 ± 5,30 ^a	
P3	7,44 ± 3,04 ^a	

Ket : K- (Kontrol Negatif), K+ (Kontrol Positif), P (Perlakuan)

Pada Tabel 4, berdasarkan uji Anova diperoleh hasil *p-value* sebesar 0,000 atau *p-value* lebih kecil dari $\alpha = 0,05$ ($p < 0,05$), dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak rumput fatimah terhadap ekspresi osteokalsin.



Ket : K- (Kontrol Negatif), K+ (kontrol Positif), P (Perlakuan) : P1 (per10 mg/KgBB/hari), P2 (20mg/KgBB/hari), P3 (40mg/KgBB/hari)

Gambar 2. Histogram Rata-rata Osteokalsin pada Serum Tikus

Pada Gambar 2, ditunjukkan rata-rata ekspresi osteokalsin paling rendah pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak rumput fatimah dengan konsentrasi 20 mg/KgBB/hari.

Uji Korelasi Pearson

Tabel 5. Uji hubungan antara konsentrasi ekstrak rumput fatimah dengan ekspresi deoxypiridinolin dan osteokalsin

Hubungan variabel	Koefisien korelasi	<i>p-value</i>	Ket
Ekspresi DPD dengan OC	-0,084	0,688	Tidak signifikan

Berdasarkan Tabel 5 di atas, didapatkan koefisien korelasi sebesar -0,084 dengan *p-value* sebesar 0,688. *P-value* lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$) menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi deoxypiridinolin dengan ekspresi osteokalsin. Hal ini menunjukkan bahwa perubahan ekspresi deoxypiridinolin tidak diikuti perubahan ekspresi osteokalsin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Osteoporosis merupakan proses pengeroposan tulang akibat massa tulang yang rusak. Osteoporosis disebabkan karena keterbatasan jumlah kalsium dalam tubuh. Dalam pembentukan tulang, hormon yang berperan adalah hormon estrogen yang memacu pengeluaran kalsitonin (Mulyani, 2013). Osteoporosis berarti “tulang keropos”, karena usia mempengaruhi aktivitas osteoklas (resorpsi) meningkat dan aktivitas osteoblas (formasi) menurun. Kondisi ini menyebabkan ketidakseimbangan dalam proses “pembaruan” tulang dan mengakibatkan penurunan massa tulang (Garnero *et al*, 2003; Manolagas,

(formasi tulang). Osteoblas merupakan sel yang bertanggung jawab pada pembentukan tulang, dimana marker pembentukan tulang adalah osteokalsin. Sedangkan osteoklas merupakan sel yang bertanggung jawab pada penyerapan tulang, dimana marker penyerapan tulang adalah deoxypiridinolin (Delmas *et al*, 2000).

Osteokalsin merupakan salah satu dari sedikit molekul tertentu pada tulang yang dibuat oleh osteoblas dan dimasukkan ke dalam matriks organik tulang. Osteokalsin yang diproduksi oleh 2000).

Pada osteoporosis, tulang menjadi tipis, rapuh dan mudah patah akibat terjadinya abnormalitas *turnover* tulang, yaitu terjadinya proses penyerapan tulang (resorpsi tulang) lebih banyak daripada proses pembentukan tulang

osteoblas dilepaskan selama resorpsi tulang. Osteokalsin meningkat disebabkan osteoblas yang membuat lebih banyak osteokalsin, sehingga terjadi peningkatan jumlah tulang yang dibentuk oleh osteoblas. Pada wanita menopause terjadi peningkatan osteokalsin, khususnya setelah dua tahun pertama pasca menopause. Osteokalsin meningkat tidak hanya berhubungan dengan umur, akan tetapi durasi dari periode post menopause. Osteokalsin meningkat saat kehilangan massa tulang dan tingginya resiko terjadinya fraktur pada post menopause yang mengalami osteoporosis (Lerner, 2006; Delpino *et al*, 1991; Garnero *et al*, 2003).

Osteokalsin dianggap sebagai indikator terbaik untuk pembentukan tulang, karena konsentrasinya berkorelasi dengan tingkat kecepatan tulang. Osteokalsin meningkat pada perubahan konsentrasi tulang yang cepat dan menurun pada perubahan konsentrasi tulang yang lama (Indumati *et al*, 2010).

Kekurangan hormon estrogen pada wanita pasca menopause tidak semua menunjukkan peningkatan kadar deoxypyridinolin dalam urin, ini dikarenakan adanya suatu mediator-mediator lain yang secara tidak langsung berperan merangsang sel osteoklas untuk menjadi lebih aktif dalam penyerapan tulang (Kawiyana, 2008).

Deoxypyridinolin urin dan osteokalsin serum dapat diklasifikasikan sebagai marker tulang. Ekspresi deoxypyridinolin urin pada laki-laki andropause dan wanita menopause terjadi peningkatan, dikarenakan deoxypyridinolin dilepaskan ke dalam sirkulasi, kemudian dibersihkan di ginjal dan dibuang ke urin (Isbagio, 2004). Deoxypyridinolin urin dan osteokalsin serum banyak digunakan sebagai marker pergantian tulang dan untuk pemantauan pengobatan osteoporosis. Peningkatan osteokalsin serum dan deoxypyridinolin urin berkaitan erat dengan kehilangan tulang yang cepat. Meningkat deoxypyridinolin urin berhubungan dengan peningkatan dua kali lipat risiko patah tulang pinggul (Aydin *et al*, 2009).

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan bahwa jumlah osteokalsin dan deoxypyridinolin meningkat setelah dilakukan ovariectomi, ini sejalan dengan penelitian Aydin *et al* (2009). Pada penelitian ini, setelah diberi ekstrak rumput fatimah di dapatkan hasil yaitu osteokalsin menurun setelah diberi ekstrak rumput fatimah pada dosis 20 mg/KgBB/hari, dan kembali ke dalam keadaan normal pada dosis 40 mg/KgBB/hari dan deoxypyridinolin meningkat setelah diberi ekstrak rumput fatimah pada dosis 40 mg/KgBB/hari.

Pada wanita menopause mengalami penurunan kadar estrogen menyebabkan *turnover* meningkat, sehingga osteokalsin dan deoxypyridinolin meningkat. Osteokalsin meningkat disebabkan adanya peningkatan osteoid dan

peningkatan mineralisasi pada tulang serta kekeroposan tulang yang disebabkan oleh menurunnya pembentukan tulang (osteoblas), sedangkan deoxypyridinolin meningkat disebabkan adanya insufisiensi kalsium dan vitamin D (Arifin dkk, 2010).

Berdasarkan penelitian Shuid *et al* (2011), bahwa hasil marker biokimia tulang menunjukkan perubahan karakteristik osteoporosis pada tikus ovariectomi. Osteokalsin merupakan protein non kolagen yang disintesis oleh osteoblas dan pada umumnya dianggap sebagai marker spesifik untuk aktivitas osteoblastik dan untuk pembentukan tulang. Pengobatan dengan menggunakan estrogen pada tikus ovariectomi bisa mengembalikan osteokalsin ke tingkat yang normal pada proses pembentukan tulang.

Penelitian ini sejalan dengan beberapa peneliti lain yang menggunakan tanaman untuk mengobati osteoporosis dan mengandung fitoestrogen adalah ekstrak kortek, ekstrak semanggi merah dan penawar jambi.

Du-zhong (*Eucommia ulmoides oliv*) ekstrak kortek (DZCE) merupakan senyawa yang kaya akan polifenol seperti lignan, asam fonolik, dan flavonoid yang dapat mencegah terjadinya osteoporosis. Dosis yang diberikan DZCE dapat menghambat penurunan total BMD pada tulang paha yang disebabkan oleh ovariectomi dan disertai dengan penurunan signifikan dalam *remodeling* tulang, seperti yang dibuktikan adanya penurunan osteokalsin (Zhang *et al*, 2009).

Estrak semanggi merah (*Trifolium pratense l*) baru-baru ini banyak digunakan untuk mengobati gejala menopause (seperti metabolisme tulang /osteoporosi) dan untuk memelihara/memperbaiki kesehatan jantung. Pemberian ekstrak semanggi merah telah terbukti dapat menurunkan ekskresi deoxypyridinolin urin dan

ekskresi osteokalsin serum pada tikus ovariektomi (Kawakita *et al*, 2009).

Penawar jambi (*Cibotium baromentz*) adalah jenis tanaman herbal untuk mengobati osteoporosis, dimana ekstrak ini dapat mencegah penurunan BMD pada tulang paha yang disebabkan ovariektomi dan disertai dengan penurunan *Remodeling* tulang seperti adanya penurunan osteokalsin (Wang *et al*, 2013).

Dengan demikian, penelitian ini menggunakan ekstrak rumput Fatimah sesuai dengan penelitian terdahulu yaitu dapat menurunkan osteokalsin serum. Pada penelitian ini terjadi peningkatan deoxypyridinolin setelah pemberian ekstrak rumput fatimah. Hal ini perlu diteliti lebih lanjut untuk memastikan faktor apa yang menjadi penyebab peningkatan deoxypyridinolin urin.

SIMPULAN

Ekstrak rumput fatimah (*Labisia pumila*) terbukti berpengaruh terhadap penurunan kadar osteokalsin serum tetapi tidak mampu menurunkan kadar deoxypyridinolin urin pada tikus post ovariektomi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Afrita,N., Amin,N., Dharmayanti,A. 2014. *Kadar Deoksipiridinolin pada Saliva Wanita Usia Perimenopause*. Artiker Gigi. 1-6
2. Arifin,Z., Hestiantoro,A., Baziah,A. 2010. *Pemberian Susu yang Difortifikasi Kalsium Kadar Tinggi dan Vitamin D dalam Memperbaiki Turnover Tulang Perempuan Pascamenopause*. JMaj Obstetri dan Ginekologi Indonesia. 34(1):31-38
3. Aydin,H., Deyneli,O., Yavuz,D., Gozu,H., Mutlu,N. 2009. *Short-term Oral Magnesium Supplementation Suppresses Bone Turnover in Postmenopausal Osteoporosis Women*. Med J Biochemistry. 84:16-8
4. Baziah A. 2003. *Osteoporosis dalam Menopause dan Andropause*. Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirihardjo. Jakarta
5. Claudon,A., Vergnaud,P., Valverde,C., Mayr,A., Klaue,U., Garnero,P. 2008. *New Automated Multiplex Assay for Bone Turnover Markers in Osteoporosis*. J Clinical Chemistry. 54(9):1554-1563
6. Delmas,P., Eastell,R., Garnero,P., Seibel,M., Stepan,J. 2000. *The Use of Biochemical Markers of Bone Turnover in Osteoporosis*. J Osteoporosis Int. 6:17
7. Delpino,J., Gomez,E., Rodriguez,M., Lopez,C., Cordero,M., Lanchares,J., Garcia,J. 1991. *Influence of sex, Age, and Menopause in Serum Osteocalcin (BGP) Level*. J Molecular Medicine. 69(24):1135-1138
8. Garnero,P., Mulleman,D., Munoz,F., Rendu,E., Delmas,P. 2003. *Long Term Variability of Markers of Bone Turnover in Post Menopausal Women and Implication for Their Clinical Use*. Journal of Bone and Mineral Research. 18:1789-94
9. Greenstein. 2006. *At a Glance Sistem Endrokrin*. Edisi Kedua. Erlangga. Jakarta
10. Isbagio, H. 2004. *Comparison of Urinary Excretion of Deoxypyridinoline and Value of Serum Osteocalcin Within the Knee Osteoarthritis Grading*. Med J Indones. 13(2):96-101
11. Kawakita,S., Marotta,F., Naito,Y., Gumaste,U., Jain,S., Thuchiya,J., Minelli,E. 2009. *Effect of an Isoflavones-Containing Red Clover Preparation and Alkaline Supplementation on Bone Metabolism in Ovariectomized Rats*. Journal Immunology Research. 4:91-100
12. Kawiyana. 2008. *Interleukin-6 yang Tinggi sebagai Faktor Risiko terhadap Kejadian Osteoporosis*

- pada Wanita Pasca Menopause Difisiensi Estrogen. *Journal of Internal Medicine*. 18-24
13. Kawiya. 2009. *Osteoporosis Patogenesis, Diagnosis dan Penanganan Terkini*. *Journal of Internal Medicine*. 10(2): 157-170
 14. Lerner,UH. 2006. *Bone Remodeling in Postmenopausal Osteoporosis*. *Journal Dental Research*. 85:584
 15. Nadia,ME., Nazrun,AS., Norazlina,M., Isa,NM., Norliza,M and Nirwana,SI. 2012. *The Anti-Inflammatory, Phytoestrogenic, and Antioxidative Role of Labisia Pumila in Prevention of Postmenopausal Osteoporosis*. *Advances in Pharmacological Sciences*. 10.1155
 16. Nadia,ME., Nazrun,AS., Norazlina,M., Isa,NM., Norliza,M and Nirwana,SI. 2014. *Time and Dose-Dependent Effects of Labisia Pumila on Bone Oxidative Status of Postmenopausal Osteoporosis Rat Model*. *Journal Nutrients*. 6:3288-3302
 17. Norhaiza,M., Maziah,M and Hakimah,M. 2009. *Antioxidative Properties of Leaf Extracts of a Popular Malaysian Herb. Labisia Pumila*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3(4):217-228
 18. Sambrook,P., Kotowicz,M., Nash,P., Styles,C., Naganathan,V., Briffa,K.,Eisman,J., Nicholson,G. 2003. *Prevention and Treatment of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis: A Comparison of Calcitriol, Vitamin D Plus Calcium, and Alendronate Plus Calcium*. *Journal of Bone and Mineral Research*. 18(5): 919-924
 19. Shuid,AN., Ping,LL., Norliza,M and Norazlina,M. 2011. *The Effects of Labisia Pumila Var. Alata on Bone Marker and Bone Calcium in a Rat Model of Post-Menopausal Osteoporosis*. *Jurnal of Ethnopharmacology*. 133:538-542
 20. Siswosuharjo. 2010. *Panduan Super Lengkap Hamil Sehat*. Plus+. Jakarta
 21. Suan,LC., Lee,SY., Norhanisah,A and Sarmidi,MR. 2012. *Review on Labisia Pumila (Kacip Fatimah) : Bioactive Phytochemicals and Skin Collagen Synthesis Promoting Herb*. *Journal Fitoterapia*. 83:1322-1335
 22. Wang,Z., Li,JL., Sun,Y., Yao,M., Gao,J., Yang,Z., Shi,Q., Cui,X., Wang,Y. 2013. *Chinese Herbal Medicine for Osteoporosis: A Systematic Review of Randomized Controlled Trails*. *Article Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*. 356260(11):1-12
 23. Zhang,R., Liu,Z., Li,C., Hu,S., Liu,L., Wang,J., Mei,Q. 2009. *Du-zhong (Eucommia ulmoides oliv) Cortex Extrac Prevent OVX-Induced Osteoporosis in Rats*. *J Bone*. 29(2):291-296
 24. Indumati,V., Patil,V. 2010. *Biochemical Markers of Bone Remodeling in Osteoporosis-Current Concepts*. *Journal of Clinical and Diagnostic research*. 4(1):2089-2097