Medika Kartika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan

ARTIKEL PENELITIAN

PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL TEH HITAM MENINGKATKAN PERTUMBUHAN LEMPENG METAFISIS DAN PANJANG OS FEMUR MENCIT (BLACK TEA ETHANOL EXTRACT INCREASES THE GROWTH OF METAPHYSIS PLATE AND LENGTH OF OS FEMUR IN MICE)

Wendra Rasyad¹

¹Departemen Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi Email korespondensi: wendrarasyad@gmail.com

ABSTRAK

Tulang merupakan salah satu jaringan tubuh manusia yang selalu mengalami perombakan dan pembentukan kembali sehingga dalam proses pertumbuhan tulang terjadi perubahan tebal lempeng metafisis dan ukuran panjang tulang, khususnya pada masa pertumbuhan. Pertumbuhan tulang panjang ini dimulai dari pusat metafisis. Pada masyarakat awam teh hitam dipercaya berkhasiat bagi kesehatan tulang. Salah satu senyawa aktif yang terdapat dalam teh hitam adalah katekin Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak teh hitam terhadap perubahan pada lempeng metafisis os femur dan pertumbuhan panjang os femur. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian berupa rancangan acak lengkap. Objek penelitian yang digunakan adalah 24 ekor mencit betina galur DDY usia 8 minggu dan dibagi 6 kelompok perlakuan, yaitu; 1 kelompok kontrol negatif (P₀) dan 5 kelompok perlakuan (P₁, P₂, P₃, P₄ dan P₅) yang diberikan teh hitam dengan dosis masing-masing 40 mg/kgBB, 60 mg/kgBB, 80mg/kgBB, 100mg/kgBB dan 120mg/kgBB per oral dosis tunggal selama 28 hari berturut-turut. Pengukuran panjang os femur diukur menggunakan Kaliper Vernier. Tebal lempeng metafisis diukur menggunakan mikrometer mikroskop pada sediaan HE (400X). Analisis data menggunakan uji beda ANOVA dan uji lanjut Duncan (p<0,05). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan pemberian ekstrak teh hitam dosis 120mg/kgBB terhadap tebal lempeng metafisis (p=0,019) dan terdapat pengaruh signifikan pemberian ekstrak teh hitam dosis 100mg/kgBB terhadap pertumbuhan panjang (0,000). Penambahan panjang dan tebal lempeng metafisis tulang MK | Vol. 4 | No. 1 | OKTOBER 2020 -1

diduga akibat pengaruh senyawa katekin pada ekstrak teh hitam yang akan memicu osteoblastogenesis dan mencegah aktivasi osteoklas sehingga tulang akan bertambah panjang termasuk pada bagian lempeng metafisis.

Kata Kunci: lempeng metafisis, teh hitam, tulang femur

ABSTRACT

Bone is always undergoing reshuffle and reshaping so that in the process of bone growth changes in metaphysical plate thickness and bone length size. This long bone growth starts from the metaphysical center. Black tea is believed to be effective for bone health. One of the active compounds in black tea is catechins. The study aims to determine black tea extract effect on growth of os femur metaphysis plate and os femur length. This research was experimental study with completely randomized design. The research object used was 24 female DDY strain mice, divided into 6 treatment groups: 1 negative control group (P0) and 5 treatment groups (P1, P2, P3, P4 and P5) who were given black tea with 40 mg/kgBW, 60 mg/kgBW, 80mg/kgBW, 100mg/kgBW, and 120mg/kgBW orally in a single dose for 28 consecutive days, respectively. Os femur length was measured using Vernier Calipers. Metaphysical plate thickness was measured using a microscope micrometer. Data analysis used ANOVA and Duncan (p < 0.05). The results showed that there was a significant effect black tea extract 120mg/kgBW on metaphysical plate thickness(p=0.019) and black tea extract 100mg/kgBW on growth length(p=0,000). The length and thickness of bone metaphysis plates growth were thought due to catechin compounds on black tea extracts that will trigger osteoblastogenesis and prevent osteoclast activation so that the bones will grow longer.

Keywords: black tea, metaphysis plate, os femur

PENDAHULUAN

Tulang merupakan struktur yang tersusun oleh protein dan mineral yang bersifat dinamis karena selalu mengalami perombakan dan pembentukan kembali (remodeling). Tulang terdiri atas matriks organik untuk memperkuat struktur tulang (30%) dan timbunan garam kalsium (70%).

Tulang berfungsi sebagai penyokong tubuh dan pelindung jaringan sekitarnya, seperti otot, pembuluh darah, saraf, lemak, dan kulit.¹⁻² Pada proses pertumbuhan tulang di usia pertumbuhan terjadi penambahan panjang tulang. Pertumbuhan tulang panjang ini dimulai di metafisis.

Mekanisme penambahan panjang tulang terjadi di metafisis yang ditandai dengan proliferasi kondrosit, aktivasi osteoblas, dan osteoklas.¹⁻³

Teh merupakan minuman yang dihasilkan dari pengolahan daun teh (Camellia sinensis). Berdasarkan hasil penelitian Lembaga MARS tahun 1984, jenis teh yang tingkat konsumsinya tinggi di Indonesia adalah teh hitam (79%). Teh hitam dihasilkan melalui proses fermentasi sempurna daun teh.⁴

Data Kementerian Pertanian RI tahun 2016 menunjukkan konsumsi teh Indonesia mengalami perubahan peningkatan konsumsi teh hitam.⁵ Pada masyarakat, mengonsumsi teh dipercaya kesehatan tulang.6 bermanfaat untuk Namun dosis optimal dan pengaruhnya terhadap penambahan panjang tulang dan tebal metafisis belum diketahui. satu senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak teh hitam yang dapat membantu adalah pertumbuhan tulang katekin. Katekin merupakan senyawa polifenol yang memengaruhi pertumbuhan tulang melalui empat mekanisme, vaitu meningkatkan osteoblastogenesis, meningkatkan daya tahan osteoblas, menekan osteoklastogenesis, dan menurunkan jumlah osteoklas. Jenis katekin yang terkandung pada ekstrak teh hitam adalah epigallocatechin gallate

(EGCG) dan *epicatechin gallate* (ECG).⁷⁻¹¹ Penelitian Shen, *et al* tahun 2009, teh hitam dosis 80 mg/kgBB secara signifikan meningkatkan densitas *os femur* tikus.⁹ Namun belum ada penelitian mengenai pengaruh ekstrak teh hitam asal Gambung Bandung Indonesia terhadap lempeng metafisis dan pertumbuhan panjang tulang.

Berdasarkan latar belakang, dan dosis acuan tersebut, peneliti tertarik untuk mengetahui apakah ekstrak teh hitam dosis mg/kgBB, 60 mg/kgBB, 80mg/kgBB, 100mg/kgBB, dan 120mg/kgBB memengaruhi dapat pertumbuhan panjang os femur, dan perubahan pada lempeng metafisis os femur yang diujikan pada hewan coba mencit betina galur DDY.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian berupa rancangan acak lengkap. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Unjani dan Bagian Patologi Anatomi Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: jarum *gavage*, bedah minor set, mikroskop Olympus CX 21, dan kaliper Vernier. Bahan penelitian, yaitu ekstrak teh hitam didapat dari Pusat Penelitian Teh dan Kina (PPTK, Gambung

Bandung), yang diekstraksi dengan pelarut etanol 96% di Fakultas Farmasi ITB Bandung. Hewan coba berupa mencit betina galur DDY yang didapatkan dari PT Biofarma Bandung. Selama masa adaptasi mencit diberi makan minum standar.

Subjek penelitian yang digunakan adalah mencit jantan galur DDY yang memenuhi kriteria inklusi penelitian mencit dalam keadaan sehat dengan ciriciri rambut sehat, aktif bergerak, memiliki respons yang bagus bila dikejutkan, tidak terdapat luka, jenis kelamin betina, umur 8-12 minggu, berat badan 20-30 gram. Kriteria eksklusi mencit dalam penelitian ini adalah penurunan berat badan lebih besar dari 10% dibandingkan dengan berat badan awal.

Jumlah Sampel

digunakan Sampel yang dalam penelitian ini 24 ekor mencit dengan jumlah setiap kelompok empat ekor mencit dihitung menggunakan yang rumus Federer. Objek dikelompokan menjadi enam kelompok yaitu: P₀ (n=4), kelompok kontrol negatif hanya diberikan makan dan minum standar dan tidak diberikan ekstrak P_{1-5} teh hitam. (n=20),kelompok perlakuan, yaitu P₁, diberikan ekstrak teh hitam dosis 40mg/kgBB/hari/peroral; P₂, diberikan ekstrak teh hitam dosis 60mg/kgBB/hari/peroral; P_3 , diberikan

hitam dosis ekstrak teh 80mg/kgBB/hari/peroral; diberikan P_4 teh ekstrak hitam dosis 100mg/kgBB/hari/peroral; P₅, diberikan teh hitam dosis ekstrak 120mg/kgBB/hari/peroral.

Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dibagi menjadi tiga tahapan, yaitu : tahap persiapan, tahap perlakuan, tahap pengambilan sampel, dan tahap pembuatan preparat.

Mencit diadaptasikan selama tujuh hari. Selama adaptasi, mencit diberikan antihelmin (pyrantel pamoat) per oral dengan dosis 11 mg dosis tunggal pada hari pertama adaptasi dan diberikan antibiotik (Amoksisilin) per oral dengan dosis 30 mg, pada hari kedua, ketiga, dan keempat adaptasi. Tujuan pemberian obat ini agar dapat menyingkirkan zoonosis dari hewan percobaan yang dapat memengaruhi hasil penelitian. Mencit diberi perlakuan selama masa remaja (umur 8–12 minggu) yaitu selama empat minggu. Pemberian perlakuan dilakukan dengan dosis tunggal. Ekstrak teh hitam dilarutkan dalam pelarut akuabides steril dengan perbandingan 1:1 dengan menggunakan sonde oral mencit. Proses Anestesi dilakukan dengan cara mencit menganestesi terlebih dahulu. Prosedur dilanjutkan dengan proses dekapitasi sebagai cara eutanasia mencit.

Cara pengambilan tulang dilakukan dengan teknik diseksi. Setelah tulang femur diambil maka dimasukkan ke dalam formalin 10%. 12,13

Tahapan Pembuatan Preparat

Melakukan dekalsifikasi tulang dengan merendam tulang femur mencit dalam larutan EDTA 4% 1M dengan pemanasan suhu 37°C selama 15 hari. Proses pembuatan blok preparat, yaitu memotong jaringan, proses dehidrasi, vakum, mencetak blok parafin, memotong cetakan, metode pewarnaan hematoksilin eosin, dan pembacaan preparat. 13,14

Analisis Data

Mengetahui efektivitas dari teh hitam dalam menambah ketebalan lempeng metafisis, dilakukan pengukuran dengan menggunakan mikrometer pada mikroskop yang diukur di sembilan lapang pandang besar (400x). Selanjutnya dilakukan uji beda (ANOVA), dan dilanjutkan dengan uji lanjut *Post-Hoc Duncan*. Derajat kepercayaan yang digunakan ialah 95%. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan program statistik SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Ekstrak Teh Hitam terhadap Tebal Lempeng Metafisis

Hasil penelitian terhadap tebal lempeng metafisis mencit tampak bahwa kelompok P_5 , yang diberikan ekstrak teh hitam dosis 120 mg/kgBB memiliki rerata tebal lempeng metafisis terbesar yaitu 123,94 μm (Tabel 1).

Tabel 1 Data Deskriptif Tebal Lempeng Metafisis Os Femur

Kelompok	n	Rerata (µm)	Min. (μm)	Max. (μm)	SD
P ₀ (Kontrol negatif)	4	107,25	100,56	112,89	5,19
P ₁ (Teh hitam 40mg/kgBB)	4	109,79	94,17	119,72	11,03
P ₂ (Teh hitam 60mg/kgBB)	4	107,73	103,28	113,78	4,84
P ₃ (Teh hitam 80mg/kgBB)	4	111,27	102,22	117,94	7,56
P ₄ (Teh hitam 100mg/kgBB)	4	109,15	103,61	118,94	6,78
P ₅ (Teh hitam 120mg/kgBB)	4	123,94	113,61	128,06	6.,91

kelompok negatif yaitu 107,25 µm lebih kecil tebalnya jika dibandingkan dengan

kelompok perlakuan lainnya. Melihat efektivitas serta pengaruh teh hitam terhadap densitas tulang, maka kelompok yang diberikan ekstrak teh hitam dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberikan ekstrak teh hitam. Melihat apakah ada perbandingan pengaruh yang

diperoleh dari tiap kelompok, dilakukan uji parametrik menggunakan Analisis *One Way ANOVA* (Tabel 2). Hasil dari uji *ANOVA* tampak terdapat perbedaan signifikan minimal diantara kelompok penelitian (p<0,05).

Tabel 2 Pengaruh Teh Hitam terhadap Tebal Lempeng Metafisis *Os Femur*

			Rerata			
	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	(µm)	F	Nilai p	
Antar kelompok	911,717	5	182,343	3,642	0,019*	
Dalam kelompok	901,216	18	50,068			
Total	1812,933	23				

Keterangan Uji *One Way ANOVA*, *p < 0,05 bermakna

Berdasarkan hasil uji ANOVA tersebut, dilakukan uji lanjut (*Post Hoc Test*) *Duncan* dengan tingkat kepercayaan

95% untuk mengetahui rerata kelompok yang memiliki nilai berbeda (Tabel 3).

Tabel 3 Perbedaan Antarkelompok Pengaruh Teh Hitam terhadap Tebal Lempeng Metafisis

Os Femur

Kelompok	N	Subkelom	pok alfa = 0,05
Kelompok	14	1	2
P ₀ (Kontrol negatif)	4	107,25	
P ₁ (Teh hitam 40mg/kgBB)	4	107,74	
P ₂ (Teh hitam 60mg/kgBB)	4	109,15	
P ₃ (Teh hitam 80mg/kgBB)	4	109,79	
P ₄ (Teh hitam 100mg/kgBB)	4	111,28	
P ₅ (Teh hitam 120mg/kgBB)	4		125,19
Nilai p		0,478	1,000

Keterangan Uji Duncan, *p < 0,05 bermakna

Berdasarkan analisis *Post Hoc Test Duncan* dapat dilihat di Tabel 3, data tebal lempeng metafisis dari masing-masing kelompok akan dikategorikan ke dalam 2 subset. Kelompok yang berada dalam satu subset menunjukkan adanya kemiripan atau perbedaan yang tidak signifikan, sedangkan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan akan berada di subset yang berbeda.

Pada Tabel 3 tampak kelompok P₅ yang merupakan kelompok perlakuan yang diberikan teh dosis 120mg/kgBB berada dalam subset kedua dan berbeda dengan subset pertama, sehingga dinyatakan ekstrak teh hitam dosis pemberian 120mg/kgBB menunjukkan hasil yang berpengaruh signifikan dibandingkan kelompok lainnya.

Secara teori dapat diduga senyawa yang terkandung didalam teh memicu osteoblastogenesis dengan cara peningkatan proliferasi osteoblas.

jumlah Peningkatan osteoblas pada akhirnya akan menekan produksi TNF-α dan IL-6 oleh osteoklas sehingga menekan proses apoptosis osteoblas. 12-14 Selain itu, senyawa yang terkandung di dalam teh di antaranya katekin, yaitu mencegah aktivasi osteoklas sehingga proliferasi osteoblas di lempeng metafisis terus berlangsung dan penebalan lempeng metafisis dapat teriadi.⁷⁻⁹

Pengaruh Ekstrak Teh Hitam terhadap Panjang Os Femur

Pengukuran panjang tulang pada femur kiri mencit betina pada hari ke-29 setelah perlakuan. Semua data dianalisis dengan statistika ANOVA karena hasil uji normalitas data dan homogenitas didapatkan normal. Nilai rerata terendah pada kelompok P₀ dengan nilai panjang tulang terendah 15,10 mm dan rerata tertinggi pada kelompok P₅ dengan nilai terendah 15,50 mm (Tabel 4).

Tabel 4 Deskripsi	Pengukuran	Panjang	Os Femur
-------------------	------------	---------	----------

Kelompok	N	Rerata (mm)	Min. (mm)	Max (mm)	SD
P ₀ (Kontrol negatif)	4	15,18	15,10	15,30	0,096
P ₁ (Teh hitam 40mg/kgBB)	4	15,23	15,10	15,40	0,150
P ₂ (Teh hitam 60mg/kgBB)	4	15,28	15,20	15,40	0,096
P ₃ (Teh hitam 80mg/kgBB)	4	15,30	15,20	15,40	0,096
P ₄ (Teh hitam 100mg/kgBB)	4	15,48	15,40	15,60	0,096
P ₅ (Teh hitam 120mg/kgBB)	4	15,58	15,50	15,70	0,096

Dari Tabel 4 tampak bahwa panjang tulang femur mencit kelompok P₀ lebih rendah dari kelompok perlakuan (P₁, P₂, P₃, P₄ dan P₅) setelah uji statistik. Data tersebut menunjukkan bahwa dosis

berdampak terhadap penambahan panjang os femur. Melihat pengaruh teh hitam terhadap panjang os femur, maka dilakukan uji beda menggunakan analisis One Way ANOVA (Tabel 5).

Tabel 5 Pengaruh Teh Hitam terhadap Panjang Os Femur

	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Rerata (mm)	F	Nilai p
Antar kelompok	0,479	5	0,096	8,727	0,000*
Dalam kelompok	198	18	0,011		
Total	0,676	23			

Keterangan Uji *One Way ANOVA*, *p < 0,05 bermakna

Hasil dari uji *ANOVA*, didapatkan nilai maka dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat pengaruh bermakna teh hitam terhadap panjang os femur diantara

semua kelompok perlakuan (p ≤ 0,05). Berdasarkan hasil tersebut dilakukan Uji Lanjut (*Post Hoc Test*) *Duncan* dengan tingkat kepercayaan 95% (Tabel 6).

Tabel 6 Perbedaan Antarkelompok Pengaruh Teh terhadap Panjang Os Femur

Volomnok	N	Subkelo	mpok alfa = 0,05
Kelompok	11	1	2
P ₀ (Kontrol negatif)	4	15,18	
P ₁ (Teh hitam 40mg/kgBB)	4	15,23	
P ₂ (Teh hitam 60mg/kgBB)	4	15,28	
P ₃ (Teh hitam 80mg/kgBB)	4	15,30	
P ₄ (Teh hitam 100mg/kgBB)	4		15,48
P ₅ (Teh hitam 120mg/kgBB)	4		15,58
Nilai p		0,138	0,194

Keterangan Uji Duncan, *p < 0,05 bermakna

Berdasarkan analisis *Post Hoc Test Duncan* dapat dilihat di Tabel 6, data
panjang femur dari masing-masing
kelompok akan dikategorikan kedalam 2
subset. Kelompok yang berada dalam satu

subset menunjukkan adanya kemiripan atau perbedaan yang tidak signifikan, sedangkan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan akan berada di subset yang berbeda. Dalam subset yang kedua

didapatkan dua kelompok yang termasuk kedalam kategori ini yaitu kelompok P₄, dosis 100 mg/kgBB dan P₅, dosis 120 mg/kgBB sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak teh hitam dosis 100 dan 120 mg/kgBB memberikan efek yang signifikan meningkatkan panjang tulang femur mencit.

Hal tersebut sejalan dengan hasil pada Tabel 4, dengan penambahan tebal lempeng metafisis maka memacu proses osifikasi pada tulang femur. Osifikasi endokondral yang terjadi pada tulang panjang, dalam hal ini tulang femur akan berdampak terhadap penambahan panjang tersebut. Kandungan tulang yang pertumbuhan tulang membantu vaitu katekin termasuk vang senyawa epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin gallate (EGC), dan epicatechin (EC) membantu osteoblastogenesis dan menekan osteoklastogenesis. Senyawa ini merupakan senyawa fitoestrogen yang memberikan efek seperti fungsi hormon estrogen pada proses pembentukan tulang. 15-17 Hasil tersebut sejalan dengan hasil penelitian Shen, et al pada tahun 2009 yang melaporkan bahwa teh dapat meningkatkan kepadatan tulang femur tikus.9

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak teh hitam dosis 120 mg/kgBB berpengaruh signifikan terhadap peningkatan tebal lempeng metafisis dan panjang *os femur* pada mencit betina galur DDY.

DAFTAR PUSTAKA

- Guyton AC, Hall JE. Bone and its relation to extracellular calcium and phosphate. Textbook of medical physiology. 12th Edition. USA: Saunders Elsevier; 2011.
- Ganong WF. Pengendalian hormonal pada metabolisme kalsium dan fisiologi tulang. Dalam: Widjajakusumah HMD, editor. Fisiologi kedokteran. Ed. 20. Jakarta: EGC; 2002.
- Sherwood L. Kontrol endokrin terhadap pertumbuhan. Dalam: Santoso BI, editor. Fisiologi manusia. Ed. 2. Jakarta: EGC; 2001.
- Tortora GJ, Derrickson B. Introduction to the human body. New York: John Wiley and Sons, Inc.; 2007.
- Rizzo DC. Delmar fundamentals of anatomy and physiology. Australia Canada Mexico Singapore Spain United Kingdom United States: Delmar Thomson Learning; 2001.

- Junquiera LC. Tulang. Dalam: Frans Dany, editor. Histologi dasar: teks & atlas. Edisi 10. Jakarta: EGC; 2007. hal.134-147.
- 7. Chaney SG. Principles of nutrition II: Micronutrients. Textbook of biochemistry: with clinical correlations. 5th Edition. 2015.
- 8. Martini F. Osseous tissue and bone structure. In: Martini F, Ober WC, Garrison C, Welch K, Hutchings RT. Fundamentals of anatomy & physiology.7th ed. USA: Pearson Education Inc.; 2006. p. 196-8.
- 9. Shen LC, Yeh KJ, Cao JJ, Wang SJ.
 Green tea and bone health: Evidence
 from laboratory studies. USA;
 Elsevier Science Direct; 2011.
- 10. Graham HN. Tea: Tea plant and its manufacture: chemistry and consumption of tea beverage. In: Liss AR. Tea Methylxanthine Beverages and Foods: Chemistry, Consumption, and Health Effects. Prog Clin Biol Rev; 1984.
- 11. Itoh Y, Yasui T, Okada A, Tozawa K, Hayashi Y, Kohri K. Preventive effect of green tea on bone metabolism and role of oxidative stress in bone. J Urol; 2005.; 173(1): 271-5.
- Ratri F. Perpustakaan MB IPB.
 Institut Pertanian Bogor. (Diunduh

dari:

- http://elibrary.mb.ipb.ac.id/files/disk1/11/mbipb-12312421421421412-fiananatri-542-10-r28-05-f-i.pdf)
 [Diakses pada tanggal 28 Agustus 2012].
- 13. Fawcett DW. Tulang. Dalam: Tambayong, editor. Buku ajar histologi. Edisi 12. Jakarta: EGC; 2002.
- 14. Callis GM. Bone. Dalam Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques. Edisi 6. Amerika Serikat: Elsevier; 2008. Hal 321-335.
- 15. Romas E, Gillespie MT, Martin TG. Involvement of receptor activator of TNF ligand and TNF alpha in bone. Bone; 2002.
- 16. Miyaura C, Inada M, Matsumoto C, Ohsiba T, Shimizu T. An Essential role of cytosolic phospholipase A2 alpha in PGE2 mediated bone resorption. Journal Exp Medical; 2003; 197:1303-10
- 17. Vali B, Rao LG, El-Sohemny A. Epigallocatechin 3 gallate increases the formation of mineralized bone nodules by human osteoblast. Journal nutrition biochemical; 2007;18 (5):341-7