

N-MID Osteocalcin (N-MID Oc) dan β -Crosslaps (β -CTx) sebagai Penanda Biokimia Bone Turn Over pada Wanita Menopause

Eli Halimah¹, Wiwik Rositawati², Irma Pratiwi¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

²Laboratorium Klinik Prodia, Jakarta, Indonesia

Abstrak

Osteocalcin merupakan senyawa penanda untuk pembentukan tulang sedangkan *β -CrossLaps* (β -CTx) merupakan fragmen hasil pemecahan kolagen tipe 1. Tujuan penelitian ini yaitu untuk menentukan *N-MID osteocalcin* (N-MID Oc) dan β -CTx sebagai penanda biokimia *Bone Turn Over* untuk deteksi dini osteoporosis pada wanita menopause. Nilai N-MID Oc dalam serum ditentukan dengan pereaksi Elecsys N-MID Osteocalcin kit dan nilai β -CTx dalam serum ditentukan dengan pereaksi Elecsys β -CROSSLAPS kit yang bekerja berdasarkan prinsip *Electrochemiluminescence Immunoassay* (ECLIA). Data yang diperoleh diuji dengan menggunakan Uji-T. Sampel yang dikumpulkan berasal dari wanita normal, osteopenia, dan penderita osteoporosis pada wanita menopause. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan nilai N-MID Oc pada wanita menopause normal dengan wanita menopause osteopenia, wanita menopause normal dengan wanita menopause penderita osteoporosis dan wanita menopause osteopenia dengan wanita menopause penderita osteoporosis ($\alpha=0,05$), sedangkan pada nilai β -CTx terdapat perbedaan antara wanita menopause normal dengan wanita menopause osteopenia, wanita menopause osteopenia dengan wanita menopause osteoporosis, tetapi antara wanita menopause osteopenia dengan wanita menopause osteoporosis tidak menunjukkan perbedaan ($\alpha=0,05$). Penelitian ini menunjukkan bahwa N-MID Oc dan β -CTx dapat dijadikan parameter untuk deteksi dini osteoporosis.

Kata kunci: *N-MID Osteocalcin* (N-MID Oc), Osteoporosis, *β -CrossLaps* (β -CTx)

N-MID Osteocalcin (N-MID Oc) and β -Crosslaps (β -CTx) as Biochemical Markers of Bone Turnover in Menopausal Women

Abstract

Osteocalcin is a marker compound for bone formation while the β -crosslaps a fragment split from collagen type 1. The aims of this study were to determined of the value of N-MID osteocalcin (N-MID Oc) and β -CTx as a biochemical marker of Bone Turn Over as early detection of osteoporosis in postmenopausal women. The value of N-MID Oc in serum was determined by reagent Elecsys N-MID Osteocalcin kit and the value of β -CTx in serum was determined by reagent Elecsys β -Crosslaps kit which works with the principle of Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA). The data obtained were examined using T-test. The sample collected from normal, osteopenia, and osteoporotic in menopausal women. There were a significant difference N-MID Oc between normal, osteopenia, and osteoporotic in menopausal women ($\alpha=0,05$). There were significant differences of β -CTx between normal and osteopenia, normal and osteoporosis but between osteopenia and osteoporotic menopausal women not showed any difference ($\alpha=0,05$). N-MID Osteocalcin (N-MID Oc) and β -CTx can be used as parameter for early detection of osteoporosis.

Key words: N-MID Osteocalcin (N-MID Oc), Osteoporosis, β -CrossLaps (β -CTx)

Korespondensi: Dr. Eli Halimah, M.Si., Apt., Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia, email: elihalimah@yahoo.co.id.

Naskah diterima: 9 September 2015, Diterima untuk diterbitkan: 15 Februari 2016, Diterbitkan: 1 Maret 2016

Pendahuluan

Osteoporosis merupakan salah satu masalah kesehatan utama di dunia saat ini dan jumlahnya meningkat sejalan dengan meningkatnya populasi usia lanjut. *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa osteoporosis merupakan masalah kesehatan terbesar yang kita hadapi setelah penyakit kardiovaskular. Biaya yang harus dikeluarkan untuk penyakit ini diperkirakan mencapai 60 milyar dolar AS pada tahun 2020.¹ Prevalensi Osteoporosis di Amerika yaitu 28 juta orang atau 10,28% (10 juta dengan osteoporosis; 18 juta dengan massa tulang yang rendah); Prevalensi osteoporosis terjadi pada mereka yang berusia di atas 50 tahun yaitu 21,3% pada wanita dan 5,5% pada laki-laki.²

Osteoporosis ditandai dengan adanya pengurangan massa tulang dan gangguan mikroarsitektur tulang yang menyebabkan peningkatan kerapuhan pada tulang dan peningkatan risiko patah tulang (fraktur).³ Osteoporosis ini mengakibatkan berkurangnya densitas mineral tulang yang disebabkan kecepatan resorpsi lebih besar dari kecepatan pembentukan tulang. Dalam kasus ekstrim, ketidakseimbangan antara pembentukan dan resorpsi tulang menimbulkan kehilangan tulang 3% pertahun. Penurunan densitas mineral tulang menimbulkan peningkatan resiko fraktur.^{4,5}

Pemeriksaan penanda biokimia untuk *bone remodelling* merupakan pemeriksaan yang cepat dan sensitif untuk memantau perubahan *bone turnover* yang akut setelah terapi.^{6,7} Dalam tubuh kita terjadi proses yang berkesinambungan yaitu proses pembentukan tulang (*Bone Formation*, BF) dan penguraian tulang (*Bone Resorption*, BR), yang dimulai dengan aktivitas Osteoclast (Oc) menyerap tulang kemudian diikuti dengan aktivitas Osteoblast (Ob) untuk mengisi bagian yang diserap. Dengan demikian tulang akan diserap

dan dibentuk kembali selama hidup sehingga dapat mempertahankan keutuhan tulang. Beberapa penelitian sebelumnya untuk menilai *bone turnover* dengan menggunakan marker biokimia telah dilakukan terhadap marker absorpsi tulang seperti serum alkalin fosfatase (ALP), Osteocalcin (Oc) dan *Pro-collagen type I Ekstension Peptides* (PINP) dan marker resorpsi tulang seperti hidroksiprolin urin, plasma *Tartrate Resistant Acid Phosphatase* (TRAP) dan β -CTx.⁷

Osteocalcin merupakan senyawa penanda untuk pembentukan tulang yang dihasilkan oleh osteoblast dan merupakan protein bukan kolagen yang paling banyak terdapat di tulang, tetapi kadar serum osteocalcin mempunyai waktu paruh yang pendek dan dihidrolisis di ginjal dan hati. Hasil fragmentasi dari osteocalcin yaitu fragmen C-terminal dengan mudah membelah dan fragmen N-MID terminal menunjukkan kestabilan yang lebih besar dan bentuk yang paling banyak.⁸

β -CTx merupakan fragmen hasil dari pemecahan kolagen tipe 1 yang mengandung β -isomerisasi oktapeptida.⁹ β -CTx terutama cocok digunakan untuk mendeteksi kejadian pada tulang osteoporosis sebagai penanda resorpsi tulang.⁶ Wheeler dkk (2013) telah merekomendasikan parameter β -CTx sebagai parameter biokimia tulang untuk petanda resorpsi tulang, sedangkan N-MID Oc untuk petanda pembentukan tulang.

Berdasarkan hal tersebut, maka diperlukan penelitian untuk mengetahui hubungan antara petanda biokimia osteoporosis yang merefleksikan aktivitas dari osteoklas dan osteoblas, yaitu nilai N-MID Oc dan β -CTx pada wanita menopause normal, osteopenia dan osteoporosis sebagai deteksi dini osteoporosis.

Metode

Penelitian ini dilakukan dengan cara memeriksa kadar N-MID Oc dan β -CTx

dengan menggunakan reagen kit (Roche Diagnostics, USA) pada 37 orang responden yang berasal dari pasien salah satu Rumah Sakit Swasta di Jakarta, yaitu 20 orang wanita menopause yang memiliki nilai *T-score* normal, 12 orang wanita menopause yang memiliki nilai *T-score* osteopenia dan 5 orang wanita menopause yang memiliki nilai *T-score* osteoporosis. Kriteria inklusi yaitu wanita usia menopause masa transisi 45–55 tahun dan telah dilakukan pemeriksaan klinis dan masuk kategori menopause normal, osteopenia dan osteoporosis. Kriteria eksklusi yaitu wanita yang belum menopause.

Setelah pasien puasa selama 12 jam, pengambilan darah dilakukan dengan alat vacutainer lalu dipindahkan ke dalam tabung. Darah disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit dengan alat sentrifugasi standar, kemudian serum dipisahkan dengan mikropipet sebanyak 50 μ l, dimasukkan dalam sampel *cup*. Serum darah stabil pada suhu 2–8°C selama 3 hari dan pada suhu -20°C.

Pemeriksaan kadar β -CTx dan N-MID Oc dilakukan dengan menggunakan metode *Electrochemiluminescence Immunoassay* (ECLIA) pada Elecsys 2010 (Roche Diagnostic, USA) yang merupakan alat immunoassay Sandwich. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan Uji Kesamaan Dua Rata-Rata (Uji-t).

Hasil

Hasil penelitian terhadap pengukuran serum dari 37 orang wanita diperoleh data kadar N-MID Oc dan β -CTx yang berasal dari serum

20 orang wanita menopause yang memiliki nilai *T-score* yang normal, 12 orang wanita menopause yang memiliki nilai *T-score* osteopenia, dan 5 orang wanita menopause yang memiliki nilai *T-score* osteoporosis. Responden penelitian ini adalah wanita usia menopause masa transisi 45–55 tahun dan telah dilakukan pemeriksaan klinis.

Hasil nilai rata-rata N-MID Oc pada wanita kelompok normal, osteopenia, dan osteoporosis dapat dilihat pada Tabel 1. Nilai rata-rata β -CTx pada wanita kelompok normal, osteopenia, dan osteoporosis dapat dilihat pada Tabel 2. Tabel 3 menunjukkan hasil perhitungan statistik Uji Kesamaan Dua Rata-rata (*T-test*) dari nilai rata-rata β -CTx dan N-MID Oc pada wanita menopause normal, osteopenia, dan osteoporosis.

Pembahasan

Osteoporosis merupakan penyakit yang berkaitan dengan usia, ditandai dengan berkurangnya densitas mineral tulang yang disebabkan kecepatan resorpsi lebih besar dari kecepatan pembentukan tulang. Salah satu komplikasi dari penurunan densitas mineral tulang, yaitu terjadinya peningkatan resiko terjadinya fraktur. Berdasarkan studi sebelumnya melaporkan bahwa komplikasi osteoporosis selain dengan kejadian fraktur juga dikaitkan dengan kehilangan tulang, patah tulang, termasuk kualitas hidup yang buruk, kejadian penyakit kardiovaskular dan bahkan kematian. Kejadian fraktur juga berkaitan dengan terjadinya nyeri, kecacatan bahkan kematian bagi pasien yang terkena

Tabel 1 Hasil Pemeriksaan Nilai Rata-rata N-MID Oc pada Wanita Kelompok Normal, Osteopenia dan Osteoporosis (ng/mL)

Rata-rata	Kelompok		
	Normal (ng/mL)	Osteopenia (ng/mL)	Osteoporosis (ng/mL)
<i>x</i>	17,947	23,453	37,796
<i>S</i>	5,88	8,32	12,54

Tabel 2 Hasil Pemeriksaan Nilai Rata-rata β -CTx pada Wanita Kelompok Normal, Osteopenia, dan Osteoporosis

Rata-rata	Kelompok		
	Normal (ng/mL)	Osteopenia (ng/mL)	Osteoporosis (ng/mL)
x	0,303	0,454	0,558
S	0,13	0,18	0,16

serta berimbas pada biaya yang besar bagi masyarakat.^{3,5,10-12}

Meningkatnya usia harapan hidup dapat menyebabkan meningkatnya gangguan tulang dan metabolisme mineral tulang. Akibatnya minat dan kebutuhan terhadap skrining, diagnosis dan monitoring terhadap gangguan tulang, khususnya osteoporosis menjadi sangat penting. Oleh karena itu, pemeriksaan parameter biokimia tulang berperan penting dalam penilaian dan diagnosis diferensial terhadap osteoporosis.¹³

Deteksi dini osteoporosis dapat mencegah komplikasi osteoporosis dan pengobatan osteoporosis dapat dilakukan lebih efisien. Pemeriksaan penanda biokimia untuk bone remodelling merupakan pemeriksaan yang cepat dan sensitif untuk memantau perubahan bone turnover yang akut setelah terapi.⁶

Dalam tubuh kita terjadi proses yang berkesinambungan seumur hidup, yaitu proses pembentukan tulang (*Bone Formation*, BF) dan penguraian tulang (*Bone Resorption*,

BR), yang dimulai dengan aktivitas Osteoclast (Oc) menyerap tulang kemudian diikuti dengan aktivitas Osteoblast (Ob) untuk mengisi bagian yang diserap. Dengan demikian tulang akan diserap dan dibentuk kembali selama hidup sehingga dapat mempertahankan keutuhan tulang. Pada umur 40 tahun, proses *remodelling* mulai berjalan tidak seirama, artinya kecepatan pembentukan tidak dapat mengikuti kecepatan penyerapan tulang, dan merupakan salah satu wujud dari proses menua (*aging*) dan dapat terjadi pada wanita maupun pria.⁴

Parameter biokimia darah sebagai penanda biokimia untuk pembentukan tulang antara lain *Procollagen-1 Extension Peptides*, serum Alkali Fosfatase Total dan Isoenzim Alkali Fosfatase/Bone Alkali Phosphatase (BAP), Osteocalcin dan produk fragmentasinya *N-terminal middle fragment (N-MID-fragment, asam amino 1-43)/ N-MID Oc*.⁷

Pada penelitian-penelitian sebelumnya osteocalcin banyak digunakan sebagai

Tabel 3 Hasil Perhitungan Uji Kesamaan Dua Rata-Rata pada Wanita Menopause Normal dengan Osteopenia, Normal dengan Osteoporosis dan Osteopenia dan Osteoporosis untuk β -CTx dan N-MID Oc

	Status	S	t _{hitung}	t _{tabel} $\alpha = 0,05$	Simpulan
β -CTx	S ₁ - S ₂	0,15	2,75	2,04	Berbeda secara signifikan ($\alpha=0,05$)
	S ₁ - S ₃	0,13	3,92	2,07	Berbeda secara signifikan ($\alpha=0,05$)
	S ₂ - S ₃	0,18	1,08	2,13	Tidak berbeda secara signifikan ($\alpha=0,05$)
N-MID Oc	S ₁ - S ₂	6,88	2,19	2,04	Berbeda secara signifikan ($\alpha=0,05$)
	S ₁ - S ₃	7,48	5,31	2,07	Berbeda secara signifikan ($\alpha=0,05$)
	S ₂ - S ₃	9,63	2,80	2,13	Berbeda secara signifikan ($\alpha=0,05$)

Keterangan:

S: simpangan baku dari dua kelompok (S1, kelompok wanita menopause normal; S2, kelompok wanita menopause osteopenia; dan S3, kelompok wanita menopause osteoporosis)

parameter untuk pembentukan tulang. Parameter ini mempunyai kekurangan, yaitu kadar serum osteocalcin mempunyai waktu paruh yang pendek dan dihidrolisis di ginjal dan hati. Parameter untuk menilai pembentukan tulang yang digunakan pada penelitian ini yaitu N-MID Oc. N-MID Oc ini merupakan hasil fragmentasi dari osteocalcin menjadi fragmen C-terminal dengan mudah membelah dan fragmen N-MID terminal menunjukkan kestabilan yang lebih besar dan bentuk yang paling banyak.⁸

Darah yang diambil dari pasien pada penelitian ini merupakan darah puasa selama 12 jam. Hal ini dimaksudkan agar tidak adanya variabel lain terutama makanan yang dikonsumsi yang akan mempengaruhi pengukuran kadar N-MID Oc dan β -CTx. Pengelompokan wanita menopause normal, osteopenia dan osteoporosis diketahui dari data klinis dan pengukuran massa tulang dengan *bone densitometry* sehingga didapatkan nilai BMD yang digunakan sebagai *gold standard*. Masing-masing pasien serumnya digunakan untuk memeriksa nilai resorpsi dan pembentukannya dengan parameter biokimia N-MID Oc dan β -CTx.

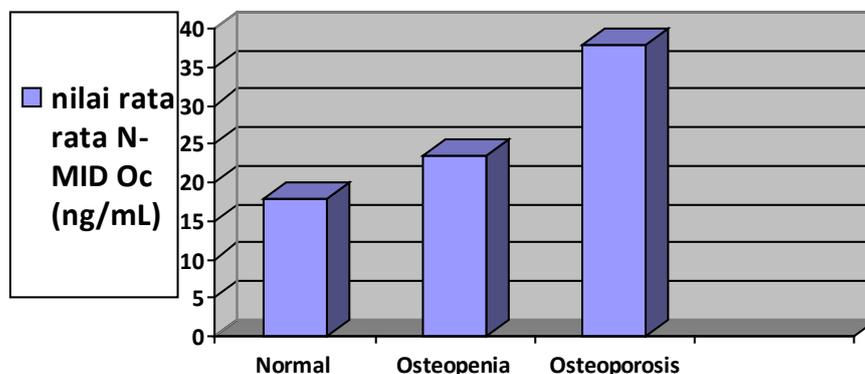
Osteocalcin dikenal juga sebagai *bone Gla protein* merupakan senyawa penanda untuk pembentukan tulang. Osteocalcin adalah protein yang tergantung pada vitamin K dan vitamin D dihasilkan oleh osteoblast

dan merupakan protein bukan kolagen yang paling banyak terdapat di tulang dan paling luas untuk dipelajari. N-MID Oc dipilih sebagai salah satu parameter penanda untuk pembentukan tulang karena mempunyai stabilitas yang lebih tinggi dibanding kadar serum osteocalcin yang mempunyai waktu paruh yang pendek. Selain itu osteocalcin dihidrolisis di ginjal dan hati sehingga lebih sebentar berada dalam darah. N-MID Oc juga merupakan bentuk yang paling banyak dan immunoreaktif pada orang sehat dan osteoporosis.^{8,14}

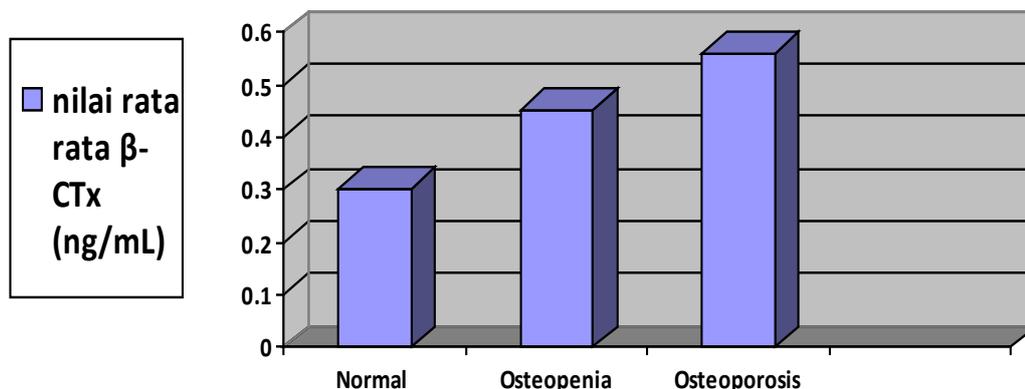
Berdasarkan hasil pada Tabel 1, nilai rata-rata N-MID Oc kelompok wanita menopause normal adalah 17,947 ng/mL; nilai rata-rata kelompok wanita menopause osteopenia adalah 23,453 ng/mL, dan nilai rata-rata wanita menopause osteoporosis adalah 37,796 ng/mL (Gambar 1).

Berdasarkan hasil pada Gambar 1 terlihat bahwa nilai rata-rata N-MID Oc akan semakin besar pada kelompok penderita osteoporosis dibanding kelompok kontrol normal maupun kelompok osteopenia.

Berdasarkan pengujian secara statistik menggunakan Uji-T atau uji kesamaan dua rata-rata (Tabel 3), terdapat perbedaan yang signifikan nilai rata-rata N-MID Oc pada kelompok menopause normal dengan penderita osteoporosis dan antara wanita menopause osteopenia dengan penderita



Gambar 1 Nilai Rata-rata N-MID Oc pada Wanita Normal, Osteopenia, dan Osteoporosis



Gambar 2 Nilai Rata-rata β -CTx pada Wanita Normal, Osteopenia, dan Osteoporosis

osteoporosis ($\alpha=0,05$). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa pada pasien osteoporosis terjadi peningkatan yang sangat signifikan dari N-MID Oc yang menunjukkan peningkatan pembentukan tulang; dan menurut Wheeler dkk (2013) merekomendasikan parameter N-MID Oc sebagai parameter biokimia tulang sebagai penanda pembentukan tulang.¹² Selain itu parameter N-MID Oc mempunyai korelasi yang sangat signifikan dengan parameter densitas mineral tulang.¹⁴⁻¹⁶

Parameter biokimia darah sebagai penanda biokimia untuk penguraian tulang antara lain Ca Urin, Hidroksiprolin, Hidroksilisin Glikosida; *Collagen Pyridinium Crosslink*, dan produk pemecahan telopeptida kolagen Tipe-1 (tartrat resistant acid phosphatase (TRAP) dan β -CrossLaps (β -CTx)).⁷

Kelebihan β -CTx sebagai parameter untuk penguraian tulang antara lain karena merupakan penanda resorpsi tulang pertama dalam serum yang dapat diperiksa dengan alat otomatisasi. β -CTx juga dapat diukur dalam serum dan plasma yang tidak memerlukan pengukuran tambahan kreatinin seperti yang diperlukan pada pengukuran penanda tulang dalam urin. Selain itu, pemeriksaan β -CTx juga meniadakan kebutuhan untuk menentukan sampel urin ideal (urin pertama atau kedua pada hari tersebut, atau urin

yang dikumpulkan selama waktu 24 jam). Berdasarkan hasil pada Tabel 2 tersebut di atas nilai rata-rata β -CTx kelompok wanita menopause normal adalah 0,303 ng/mL; nilai rata-rata kelompok wanita menopause osteopenia adalah 0,454 ng/mL, dan nilai rata-rata wanita menopause osteoporosis adalah 0,558 ng/mL (Gambar 2).

Nilai rata-rata β -CTx pada kelompok wanita menopause normal berbeda signifikan dengan kelompok osteopenia, begitu juga untuk wanita menopause normal dengan penderita osteoporosis. Akan tetapi, pada wanita menopause osteopenia dengan penderita osteoporosis tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($\alpha=0,05$). Berdasarkan hasil pada Gambar 2 terlihat bahwa nilai rata-rata β -CTx akan semakin besar pada kelompok penderita osteoporosis dibanding kelompok kontrol normal maupun kelompok osteopenia. Hal ini menunjukkan bahwa β -CTx sebagai salah satu penanda untuk penguraian/resorpsi tulang akan meningkat kadarnya ketika terjadi katabolisme tulang. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa pada pasien osteoporosis terjadi peningkatan yang signifikan dari β -CTx yang menunjukkan terjadinya peningkatan resorpsi tulang.^{14,15}

Berdasarkan uji kesamaan dua rata-rata ($\alpha=0,05$) diperoleh hasil nilai β -CTx

pada wanita menopause normal berbeda signifikan dengan nilai β -CTX osteopenia, begitu juga untuk wanita menopause normal dengan penderita osteoporosis. Pada wanita menopause osteopenia dengan penderita osteoporosis tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Wheeler dkk (2013) merekomendasikan parameter β -CTX sebagai parameter biokimia tulang sebagai penanda resorpsi tulang.¹³ Berdasarkan penelitian lain yang dilakukan oleh Bansal dkk (2011) yang meneliti tentang hubungan antara parameter biokimiawi tulang dengan parameter densitas mineral tulang menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang sangat kuat antara parameter biokimiawi tulang terutama antara Osteocalcin dengan densitas mineral tulang.¹⁶ Demikian juga penelitian yang dilakukan oleh Hysi (2014) yang menunjukkan β -CTX dan osteocalcin merupakan prediktor untuk menentukan perkembangan osteoporosis pada wanita postmenopause.¹⁷ Dengan demikian parameter biokimiawi *bone turn over* tulang merupakan parameter yang dapat diandalkan dalam deteksi dini untuk menetapkan diagnosis osteoporosis pada wanita menopause.

Simpulan

Nilai rata-rata N-MID Oc berbeda antara wanita menopause normal dengan wanita menopause osteopenia, wanita menopause normal dengan wanita menopause penderita osteoporosis, dan wanita menopause osteopenia dengan wanita menopause penderita osteoporosis. Nilai rata-rata β -CTX berbeda antara wanita menopause normal dengan wanita menopause osteopenia, wanita menopause normal dengan osteoporosis tetapi pada wanita menopause osteopenia dengan osteoporosis tidak menunjukkan perbedaan. N-MID Oc dan β -CTX dapat dijadikan parameter untuk deteksi dini terkena osteoporosis.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Klinik Prodia Jakarta, Jl. Kramat Raya No. 53 dan 150, Jakarta Pusat yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas untuk pelaksanaan penelitian ini.

Sumber Pendanaan

Penelitian ini dilakukan dengan sumber dana pribadi peneliti.

Konflik Kepentingan

Tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

Daftar Pustaka

1. Auxter S. Biochemical bone markers making inroads. New tools for osteoporosis disease management. *Clinical Laboratory News*. 1998; 24(5): 14–5.
2. Moayyeri A, Luben RN, Bingham SA, Measured height loss predicts fractures in middle-aged and older men and women: The EPIC-Norfolk prospective population study. *J Bone Miner Res*. 2008;23:425–32. doi: 10.1359/jbmr.071106
3. Ratti C, Vulcano E, Barbera G, Canton G, Murena L, Cherubino P. The incidence of fragility fractures in Italy. *Aging Clin Exp Res*. 2013; 25(1):13–4. doi: 10.1007/s40520-013-0071-4
4. Kanis JA. The pathophysiology of osteoporosis and bone disease. The Third International Training Course on Osteoporosis for Industry, Specialists and General Practitioners. The University of Melbourne; 2000.
5. Hernlund E, Svedbom A, Ivergård M, Compston J, Cooper C, Stenmark J, et

- al. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. *Arch Osteoporos*. 2013;8(1–2):136. doi: 10.1007/s11657-013-0136-1
6. Kaniawati M, Moeliandari F. Penanda biokimia untuk osteoporosis. *Forum Diagnosticum No.10, Laboratorium Klinik Prodia*. Jakarta; 2003.
 7. Gamero P, Delmas P. Biochemical markers of bone turnover: applications for osteoporosis. *The 2nd International Training Course on Osteoporosis for Industry, Specialists and General Practitioners*;1999.
 8. Lee AJ, Hodges S, Eastell R. Measurement of osteocalcin. *Ann Clin Biochem*. 2000; 37(4):432–46.
 9. Okabe R. Clinical evaluation of the elecsys β -CrossLaps serum assay, a new assay for degradation products of type I Collagen C-Telopeptides. *Clin Chem*. 2000;47(8):1410–4.
 10. Hadi H, Martono. *Buku ajar geriatri (ilmu kesehatan usia lanjut): Penyakit tulang dan patah tulang*. Edisi 3. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2004.
 11. Auyeung TW, Lee JS, Leung J, Kwok T, Leung PC, Woo J. Effects of height loss on morbidity and mortality in 3145 community-dwelling Chinese older women and men: a 5-year prospective study. *Age Ageing*. 2010; 39(6):699–704. doi: 10.1093/ageing/afq101.
 12. Wheeler G, Elshahaly M, Tuck SP, Datta HK, Laar JM. The clinical utility of bone marker measurements in osteoporosis. *J Transl Med*. 2013;11:201. doi: 10.1186/1479-5876-11-201.
 13. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover part ii: clinical applications in the management of osteoporosis. *Clin Biochem Rev*. 2006;27(3):123–38.
 14. Cepelak I, Cvori D. Biochemical markers of bone remodeling-review. *Biochemia Medica*. 2009;19(1):17–35
 15. Jovevska JM, Stratrova S, Gjorgovski I, Gruev T, Kotevska MN, Ivanovska DJ, et al. Bone turnover markers relations to postmenopausal osteoporosis. *JMB*. 2009;28(3):161–5. doi: 10.2478/v10011-009-0012-0,
 16. Bansal SC, Khandelwal, Sen R, Rai D, Bhadada SK, Goswami N, Sharma K. Correlation between biochemical bone markers and bone mineral density in the evaluation of osteoporosis. *J Pharm Res*.2011;4(8):2853.
 17. Hysi L, Rexha. The use of biochemical markers of bone turnover in the diagnosis of postmenopausal osteoporosis. *J Intl Academic Res Multidisciplinary*. 2014;2(5):462–7.