

Efek Pemberian *Virgin Coconut Oil* Dan *Olive Oil* Dalam Pakan Terhadap Pertumbuhan Tulang Femur Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*)

Suhartatik*, Eddy Yusuf Wachidah Yuniwanti** dan Muhammad Anwar Djaelani**

Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedharto, SH, Tembalang, Semarang 50275

suhartatik77744@gmail.com*enny_yusuf@yahoo.co.id**

muhammadanwardjaelani@rocketmail.com**

Abstract

This research aimed to analyse the effects of virgin coconut oil and olive oil on the length, diameter and weight of the femur bone in white male rat (*Rattus norvegicus*). This research used 25 white male rats and consists of 5 treatments with 5 replications. This research used the treatment P0: as a control, P1: feed with an addition of 5 ml virgin coconut oil / kg feed, P2: feed with an addition of 10 ml virgin coconut oil / kg of feed, P3: feed with an addition of 5 ml olive oil / kg feed and P4: feed with an addition of 10 ml olive oil / kg feed. This research used a method called Completely Randomized Design (CRD). The variables measured in this research are the weight, length and diameter of white male rats. The data was analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) at 95% level. The results showed that the growth of femur bone in male rat does not have different response after giving virgin coconut oil and olive oil.

Keywords : VCO, olive oil, femur bone, rat

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek *virgin coconut oil* dan *olive oil* terhadap panjang, diameter dan berat tulang femur tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih jantan terdiri atas 5 perlakuan dengan 5 kali ulangan. Penelitian ini menggunakan perlakuan yaitu P0 : kontrol, P1 : pakan dengan penambahan *virgin coconut oil* 5 mL/kg pakan, P2 : pakan dengan penambahan *virgin coconut oil* 10 mL/kg pakan, P3 : pakan dengan penambahan *olive oil* 5 mL/kg pakan dan P4 : pakan dengan penambahan *olive oil* 10 mL/kg pakan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel yang diukur dalam penelitian ini adalah panjang, diameter dan berat tulang femur pada tikus putih jantan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan tulang femur tikus putih jantan tidak memberikan respon yang berbeda setelah pemberian *virgin coconut oil* dan *olive oil*.

Kata kunci :VCO, olive oil, tulang femur, tikus.

PENDAHULUAN

Tulang merupakan bagian tubuh yang memiliki fungsi membentuk rangka dan melindungi organ-organ dalam (Djuwita dkk., 2012). Kalsium merupakan sumber mineral yang penting bagi tulang. Nutrisi yang dibutuhkan untuk tulang tidak hanya berupa asupan kalsium yang cukup, tetapi juga harus mempertimbangkan efisiensi penyerapan kalsium (Mjyazawa and Yoshida, 1991). Perubahan kalsium dipengaruhi oleh lemak yang berperan sebagai pelarut vitamin D (Haag *et al.*, 2003). Lemak dapat melarutkan vitamin A, D, E, dan K (Iswari dan Yuniastuti 2006).

Virgin Coconut Oil (VCO) merupakan salah satu contoh senyawa asam lemak yang mengandung asam lemak jenuh. VCO mengandung asam lemak rantai medium yang berperan dalam memperbaiki penyerapan nutrisi, meningkatkan absorpsi kalsium (Francois *et al.*, 1998) dan meningkatkan penyerapan magnesium dan protein (Barlina, 2014) serta berfungsi sebagai antioksidan sehingga akan melindungi tulang dari radikal bebas perusak tulang (Sutarmi dan Rozaline, 2005).

Olive oil merupakan salah satu minyak yang mengandung asam lemak tak jenuh yaitu asam oleat sehingga termasuk dalam kelompok asam lemak tak

jenuh tunggal atau *mono unsaturated fatty acid* (MUFA). *Olive oil* berfungsi dalam proses mineralisasi dan perkembangan tulang, serta berperan sebagai antioksidan (Yuniwati, 2015). Asupan makanan berupa minyak nabati terutama *olive oil* lebih menguntungkan daripada minyak hewani, karena minyak nabati dapat meningkatkan kandungan mineral pada tulang tikus (Rezq *et al.*, 2010).

Pengaruh asam lemak esensial dapat dikaitkan dengan kemampuan individu untuk meningkatkan penyerapan kalsium dari usus dan deposisi kalsium, meningkatkan pembentukan tulang dan sintesis kolagen tulang, serta mengurangi resorpsi tulang dengan menurunkan ekskresi kalsium (Kruger dan Horrobin, 1997). Pertumbuhan tulang dapat dipengaruhi oleh asupan vitamin D yang dapat larut dalam lemak. VCO dan *olive oil* merupakan asam lemak yang dapat melarutkan vitamin D. Fungsi utama vitamin D adalah membantu pembentukan dan pemeliharaan tulang dengan cara mengatur agar kalsium dan fosfat tersedia di dalam darah (Combs, 1992).

Penyerapan kalsium dipengaruhi oleh adanya vitamin D. Vitamin D dapat meningkatkan penyerapan kalsium dalam usus dan menjaga keseimbangan kalsium. Penyerapan vitamin D oleh tubuh dibantu VCO dan *olive oil* karena komponen terbesar VCO dan *olive oil* adalah asam lemak. Vitamin D akan dilarutkan dalam misel lemak. Sintesis dari protein pengikat kalsium (*calbindin*) atau *calcium binding-protein* intraseluler akan diinduksi oleh vitamin D yang dapat mempengaruhi permeabilitas sel mukosa untuk kalsium dan penyerapan kalsium (Murray *et al.*, 2009). Peningkatan kalsium dan fosfor dalam tubuh dapat mempengaruhi laju pembentukan tulang (Suarsana dkk., 2011) dan pertumbuhan tulang (Ketaren dkk., 1998). Proses pertumbuhan tulang melibatkan proses kalsifikasi dan osifikasi. Kalsifikasi yaitu proses terjadinya endapan mineral kalsium fosfat dalam osteoid (Tortora and Derrickson, 2011).

Pembentukan tulang terjadi karena adanya endapan mineral kalsium dan fosfor sehingga dapat meningkatkan berat tulang yang masih dalam proses pertumbuhan (Sulistyoningsih dan Rakhmawati, 2014). Tulang panjang juga mengalami penambahan diameter dengan cara menambah jaringan tulang melalui penulangan oleh

periosteum yang disertai dengan pengikisan jaringan tulang dari permukaan dalamnya (Mulyani, 2003).

Berdasarkan uraian tersebut, hipotesis penelitian ini adalah pemberian VCO dan *olive oil* dapat meningkatkan panjang, diameter dan berat tulang femur tikus putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan masyarakat dalam meneliti respon tulang femur tikus putih (*Rattus norvegicus*) terhadap pemberian VCO dan *olive oil* dalam pakan sehingga menambah kajian bidang fisiologi hewan

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai Mei 2015 di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan, Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro menggunakan tikus putih jantan dan berumur 2 bulan sebanyak 25 ekor. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas 5 perlakuan dengan 5 kali ulangan. P0 adalah kelompok kontrol, P1 adalah kelompok yang diberi VCO 5 mL/kg pakan, P2 adalah kelompok yang diberi VCO 10 mL/kg pakan, P3 adalah kelompok yang diberi *olive oil* 5 mL/kg pakan, P4 adalah kelompok yang diberi pakan *olive oil* 10 mL/kg pakan.

Persiapan alat dan bahan dilakukan dengan tujuan untuk mempermudah dalam kegiatan penelitian dan pengambilan data di laboratorium. Pembersihan dilakukan pada kandang, tempat pakan dan tempat minum tikus. Area penelitian dibersihkan dengan air dan disemprotkan alkohol ke area penelitian. Tikus putih diaklimasi selama satu minggu.

Pencampuran pakan ayam CP 551 dengan VCO dan *olive oil* dilakukan dengan menimbang 1 kg pakan yang telah dikemas dalam kantong plastik kemudian pakan dikeluarkan untuk proses pencampuran dengan VCO dan *olive oil*. Pakan diletakkan di kertas koran yang telah diberi plastik dan pakan diratakan. VCO dan *olive oil* dituang ke dalam tabung ukur sesuai dosis yaitu 5 mL maupun 10 mL, kemudian diteteskan di atas pakan di berbagai sudut tempat yang berbeda. Pakan yang telah diberi tetesan VCO dan *olive oil* dicampur sedikit demi sedikit sampai merata, kemudian dicampurkan dengan semua pakan yang ada. Pakan

yang telah dicampur VCO dan *olive oil*, dimasukkan lagi ke dalam kantong plastik dan diletakkan di tempat yang terlindung dari sinar matahari. Setiap kantong plastik diberi label sesuai dengan dosis yang diberikan. Pakan ayam CP 551 yang telah ditambahkan *virgin coconut oil* dan *olive oil* diberikan pada hewan uji selama 28 hari berturut-turut. Pemberian pakan dan minum untuk setiap hewan uji dilakukan secara *ad-libitum*.

Pembedahan tikus dimulai dengan cara tikus dibius dengan menggunakan kapas yang telah diberi kloroform. Tikus yang telah pingsan kemudian dibedah. Pembedahan tikus putih dimulai dari bagian posterior tubuh sampai ke anterior tubuh untuk mengambil tulang femur. Tulang femur yang digunakan adalah tulang femur sebelah kanan bagian posterior dari hewan uji. Hal ini dikarenakan tulang femur lebih mudah cara pengambilannya dibandingkan tulang femur sebelah kiri. Pembedahan dan pengambilan tulang dilakukan menggunakan alat-alat bedah secara hati-hati agar organ yang diambil tidak rusak. Tulang femur kemudian dipisahkan dari otot.

Pengukuran berat femur dilakukan dengan menimbang femur yang telah dipisahkan dari otot

menggunakan timbangan analitik dengan ketelitian 0.01g. Panjang femur diukur dari bagian epifisis proksimal sampai ke epifisis distal menggunakan jangka sorong. Setengah dari panjang femur dipotong untuk pengukuran diameter femur. Pengukuran dilakukan dengan memotong pada bagian tengah diafisis. Diameter femur diukur menggunakan jangka sorong. Jangka sorong diletakkan pada perpotongan diafisis. Femur dicuci dengan larutan garam fisiologis dan dimasukkan ke dalam botol flakon berisi BNF 10%.

Variabel yang diamati yaitu panjang, diameter dan berat tulang femur. Data panjang, diameter dan berat tulang femur dianalisis menggunakan ANOVA dengan taraf signifikansi 5%. Perhitungan dilakukan menggunakan perangkat lunak program SPSS versi 16.0 (Santoso, 2010)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis rata-rata dari panjang, diameter dan berat tulang femur dari penelitian pengaruh VCO dan *olive oil* terhadap pertumbuhan tulang femur tikus putih (*Rattus norvegicus*) disajikan pada Tabel 1

Tabel 1. Hasil Analisis Rata-Rata Panjang, Diameter dan Berat Tulang Femur setelah Pemberian VCO dan *Olive Oil* dalam Pakan

Variabel Ukur	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Panjang Femur (cm)	3,32 ^a ±0,08	3,16 ^a ±0,08	3,26 ^a ±0,11	3,22 ^a ±0,16	3,28 ^a ±0,16
Diameter Femur (cm)	0,32 ^a ±0,04	0,42 ^a ±0,04	0,42 ^a ±0,08	0,40 ^a ±0,07	0,42 ^a ±0,04
Berat Femur (g)	0,73 ^a ±0,13	0,62 ^a ±0,06	0,68 ^a ±0,176	0,71 ^a ±0,13	0,68 ^a ±0,09

Keterangan: Angka yang ditunjukkan dengan superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$). P0 : kontrol, P1: pakan dengan pemberian VCO 5mL/kg pakan, P2 : VCO 10mL/kg pakan, P3 : pakan dengan pemberian *olive oil* 5 mL/kg pakan dan P4 : pakan dengan pemberian *olive oil* 10mL/kg pakan.

Hasil data panjang, diameter dan berat tulang femur setelah dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa panjang, diameter dan berat tulang femur tikus putih kontrol maupun perlakuan, baik yang menggunakan VCO maupun *olive oil* pada dosis 5 dan 10 mL/kg pakan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Hal ini diduga disebabkan oleh efek penyerapan kalsium belum mampu meningkatkan penyerapan kalsium mulai dari panjang, diameter dan berat tulang femur tikus putih.

Penyerapan kalsium dari usus halus ke dalam tubuh dapat dipengaruhi vitamin D. Penyerapan vitamin D oleh tubuh dapat dibantu VCO dan *olive oil* karena VCO dan *olive oil* merupakan asam lemak (Murray *et al.*, 2009) yang dapat menyerap vitamin D (Combs, 1992). Metabolit aktif dari vitamin D3 atau kolekalsiferol adalah hormon kalsitriol (Frandsen, 1996). Sumber vitamin D yang berasal dari makanan akan diserap oleh usus halus bagian proksimal, kemudian vitamin D bersama dengan kilomikron akan diangkut ke dalam sistem limfatik yang akan dilepaskan dan masuk ke pembuluh darah. Vitamin D di dalam plasma darah dibawa oleh suatu protein transport yaitu vitamin D-binding protein (DBP), selanjutnya vitamin D ditransportasikan ke liver. Vitamin D di mitokondria liver dihidroksilasi menjadi kalsidiol. Kalsidiol selanjutnya menuju ginjal. kalsidiol diserap masuk ke proksimal tubulus ginjal oleh megalin. Kalsidiol mengalami hidroksilasi menjadi kalsitriol melalui bantuan enzim 1 α -hydroxylase (Prasetyo, 2012). Peran utama hormon kalsitriol adalah meningkatkan absorpsi kalsium di dalam usus (Almatsier, 2010).

Hasil analisis penambahan VCO dan *olive oil* pada dosis 5 dan 10 mL/kg pakan terhadap panjang tulang femur tikus menunjukkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan tidak berbeda nyata. Tidak terdapatnya perbedaan yang nyata pada panjang tulang femur tikus disebabkan karena pertumbuhan tulang belum mencapai maksimal, sehingga perbedaannya belum dapat ditunjukkan secara nyata. Pertumbuhan tulang yang belum maksimal diduga disebabkan karena jangka waktu pemberian pakan selama perlakuan mempengaruhi asupan nutrisi di dalam tubuh. Jangka waktu selama 28 hari diduga kurang memberikan pengaruh yang nyata terhadap penambahan panjang tulang femur tikus putih. Dugaan ini sesuai dengan penelitian Yuniwarti (1998) yang menyatakan bahwa nutrisi akan nampak mempengaruhi performan dalam jangka

waktu yang lama. Pengaruh perlakuan diperkirakan baru akan nampak dalam waktu yang lebih lama dari 4 minggu.

Kadar kalsium yang terdapat di dalam pakan adalah sebesar 0,9% (Jaya dkk., 2015). Nutrien yang berperan pada proses pemanjangan tulang femur adalah kalsium. Kalsium berperan pada proses kalsifikasi dan osifikasi pada tulang yang baru dibentuk. Proses kalsifikasi yaitu terjadinya endapan mineral kalsium fosfat dalam osteoid. Endapan kalsium fosfat terjadi di permukaan serat-serat kolagen. Kalsifikasi sempurna biasanya memerlukan waktu beberapa bulan, karena kalsifikasi bergantung pada kadar kalsium dan fosfat ekstraseluler maka penurunan kadar kalsium dan fosfat akan mengakibatkan tidak terjadinya mineralisasi osteoid (Tortora and Derrickson, 2011). Osifikasi yang banyak terjadi pada proses perkembangan tulang femur adalah osifikasi endokondral, yaitu pembentukan tulang melalui suatu penggantian dengan kartilago, selanjutnya terjadi proses pengapuran tulang rawan yang diserap dan digantikan oleh tulang (Yuniwarti dan Saraswati, 2002).

Hasil analisis penambahan VCO dan *olive oil* pada dosis 5 dan 10 mL/kg pakan terhadap diameter tulang femur tikus menunjukkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan tidak berbeda nyata. Hal ini diduga disebabkan oleh penambahan diameter tulang femur telah optimal. Dugaan ini sesuai dengan penelitian Suteky dkk., (2006) yang menyatakan bahwa pertumbuhan tulang femur kearah memanjang menuju epifisis yang diikuti oleh pertumbuhan kearah pembesaran tulang telah optimal, akibatnya penambahan diameter tulang juga telah optimal. Mulyani (2003) menambahkan bahwa tulang panjang mengalami penambahan diameter dengan cara menambah jaringan tulang melalui penulangan oleh periosteum yang disertai dengan pengikisan jaringan tulang dari permukaan dalamnya.

Hasil analisis penambahan VCO dan *olive oil* pada dosis 5 dan 10 mL/kg pakan terhadap berat tulang femur tikus menunjukkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan tidak berbeda nyata. Berat femur yang tidak berbeda nyata diduga disebabkan karena VCO dan *olive oil* yang dicampurkan ke dalam pakan tikus tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap panjang dan diameter tulang femur tikus sehingga berat femur tidak berbeda nyata. Menurut Rizkuna dkk., (2014) berat tulang berkaitan dengan kandungan mineral yang terdapat di dalam tulang, seperti

kalsium dan fosfat. Kalsium dan fosfat menyusun kepadatan mineral tulang. Kepadatan tulang dapat menggambarkan berat tulang, semakin padat tulang maka semakin berat pula tulang tersebut

KESIMPULAN

Pertumbuhan tulang femur tikus putih jantan tidak memberikan respon yang berbeda setelah pemberian *virgin coconut oil* dan *olive oil* dalam pakan

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S. 2010. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Penerbit PT. Gramedia. Jakarta.
- Barlina, R. 2014. Pengaruh Penambahan *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan Minyak Kedelai terhadap Mutu dan Nilai Gizi Biskuit Bayi. *Jurnal Littri*. 20(1): 35-44.
- Combs, G. F. 1992. *The Vitamins, Fundamental Aspects in Nutrition and Health*. Academic press Inc. San Diego. 151-178.
- Djuwita, I., I. A. Pratiwi., A. Winarto dan M. Sabri. 2012. Proliferasi dan Diferensiasi Sel Tulang Tikus dalam Medium Kultur *In Vitro* yang Mengandung Ekstrak Batang *Cissus quadrangular* Salisb (Sipatah-Patah). *Jurnal Kedokteran Hewan*. 6(2):75-80.
- Francois, C. A., S. L. Connor., R. C. Wander and W. E. Connor. 1998. Acute Effects of Dietary Fatty Acids on the Fatty Acids of Human Milk. *American Journal of Clinical Nutrition*. 67(2): 301-308.
- Frandsen, R. D. 1996. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Diterjemahkan oleh Srigandono, B dan Praseno, K. Ed. 7. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Haag, M., O. N. Magada., N. Claassen., L. H. Bohmer and M. C. Kruger. 2003. Omega-3 Fatty Acids Modulate Atpases Involved in Duodenal Calcium Absorption. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 68 (6): 423- 429.
- Iswari, R. S dan A. Yuniastuti. 2006. *Biokimia*. Penerbit Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Jaya, K. I. P. G. A. S., I. G. Mahardika dan I. M. Suasta. 2015. Pengaruh Penggantian Ransum Komersial dengan Ampas Tahu terhadap Penampilan Babi Ras. *Jurnal Peternakan Tropika*. 3 (3): 482-491.
- Ketaren, P. P., M. Silalahi., T. Panggabean dan D. Aritonang. 1998. Estimasi Ketersediaan Fosfor dalam *Defluorinated Rockphosphate* dan Tepung Tulang dengan Metode *Slope Ratio Assay*. *Jurnal Ilrnu Ternak dan Veleriner*. 3 (2): 101- 105.
- Kruger, M. C and D. F. Horrobin. 1997. Calcium Metabolism, Osteoporosis and Essential Fatty Acids: A Review. *Prog. Lipid Res*. 36 (2-3): 131–151.
- Mjyazawa, E. T and Yoshida. 1991. Effect of Dietary Levels of Phytate and Inorganic Phosphate on Phytate Breakdown and Absorption of Calcium and Magnesium in Rats. *Nutr. Res*. 11 (7): 797-806.
- Mulyani, T. 2003. Pertumbuhan Tulang dan Rasio Otot-Tulang Ekstremitas Posterior Ayam (*Gallus* sp.) Setelah Pemberian Hormon Kalsitriol dalam Pakan. *Skripsi Biologi*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Murray, R. K., D. A. Bender., K. M. Botham., P. J. Kennelly., V. W. Rodwell and P. A. Weil. 2009. *Harper's Illustrated Biochemistry*. The Mcgraw-Hill Companies. United States.
- Prasetyo, Y. 2012. Perbedaan Jumlah Eosinofil, Neutrofil Sputum dan Volume Ekspirasi Paksa Detik Pertama pada Asma Terkontrol Sebagian dan Tidak Terkontrol terhadap Pemberian Kalsitriol. *Tesis Program Pendidikan Dokter Spesialis Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Rezq, A. A., F. A. Labib and A. E. M. Attia. 2010. Effect of Some Dietary Oils and Fats on Serum Lipid Profile, Calcium Absorption and Bone Mineralization in Mice. *Pakistan Journal of Nutrition*. 9 (7): 643-650.
- Rizkuna, A., U. Atmomarsono. dan D. Sunarti. 2014. Evaluasi Pertumbuhan Tulang Ayam Kampung Umur 0-6 Minggu dengan Taraf Protein dan Suplementasi Lisin dalam Ransum. *JITP*. 3 (3): 121-125.
- Santoso, S. 2010. *Statistik Multivariat*. Penerbit Gramedia. Jakarta.
- Suarsana, I. N., I. N. S. Dharmawan., I. W. Gorda dan B. P. Priosoeryanto. 2011. Tepung Tempe Kaya Isoflavon Meningkatkan Kadar Kalsium, Fosfor dan Estrogen Plasma Tikus Betina Normal. *Jurnal Veteriner*. 12 (3): 229-234.

- Sulistyoningsih, M dan R. Rakhmawati. 2014. Rekayasa Pakan Melalui Biofermentasi Limbah Ikan untuk Meningkatkan Bobot Badan dan Panjang Tulang Tungkai Ayam Broiler. *Seminar Nasional Biologi: "Biologi : Penelitian, Pengembangan, dan Pembelajarannya"*. Universitas Negeri Semarang. Semarang
- Sutarmi dan H. Rozaline. 2005. *Taklukkan Penyakit dengan VCO*. Penerbit Penebar Swadaya. Depok.
- Tortora, G. J and B. Derrickson. 2011. *Principles of Anatomy and Physiology Maintenance and Continuity of the Human Body 13th Edition*. John Wiley & Sons Inc. Amerika Serikat.
- Yuniwarti, E. Y. W. 1998. Peran Kalsium dalam Ransum terhadap Perkembangan Tulang Femur Ayam Broiler. *Sellula*. 6 (2): 7-12.
- _____. 2015. Kadar Trigliserid Tikus Putih Setelah Pemberian Berbagai Kadar VCO dan *Olive Oil*. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 23 (2): 67-71.
- Yuniwarti, E. Y. W dan T. R. Saraswati. 2002. Aktivitas Kalsifikasi Tulang Tibia Broiler Jantan dan Betina Setelah Pemberian 1,25-Dihidroxycholecalciferol. *Laporan Penelitian Fakultas Sains dan Matematika*. Universitas Diponegoro. Semarang.

