

PENGARUH INDEKS HEMOLISIS SERUM TERHADAP AKTIVITAS ENZIM ALKALINE PHOSPHATASE (ALP)

Effect of serum hemolysis index on alkaline phosphatase (ALP) enzyme activity

Aryha Reveza Malik¹, Dewi Nurhayati², Ani riyani³, Nani Kurnaeni⁴

^{1,2,3,4} Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung

Email : aryhareveza4@gmail.com

ABSTRACT

Hemolysis is one of the biggest mistakes in the pre-analytical stage. Hemolysis is a condition in which the membranes of red blood cells rupture and hemoglobin is released. Hemolysis specimens are often rejected for ALP activity testing because they may interfere with test results. The purpose of this study was to determine the effect of variations in serum hemolysis index on alkaline phosphatase (ALP) activity test results. The type of research used is experimental method. The research design used post test only control group design. The sample used is pooled sera. This research will be conducted on May 15 – June 5, 2023. Examination of ALP enzyme activity levels was carried out at the Clinical Chemistry Laboratory of Poltekkes Kemenkes Bandung. 60 data were obtained and the average value was obtained on the results of examination on serum on variations in the hemolysis index with Hb levels of 0, 20, 40, 60, 80, and 100 mg / dL respectively were 179, 169, 148, 135, 123, and 117 IU / L. Descriptive analysis showed that the results of ALP activity decreased when variations in serum hemolysis index were added. Statistical analysis shows $p(0.000)$ and < 0.05 can be interpreted as the effect of serum hemolysis index on the results of ALP enzyme activity studies. Variations in hemolysis index with Hb levels of 0, 20, 40, 60, 80, and 100 mg / dL can reduce the activity of ALP enzymes in serum.

Keywords : Hemolysis, Hemolysis Index, Alkaline Phosphatase (ALP)

ABSTRAK

Hemolisis adalah salah satu kesalahan terbesar dalam tahap pra-analitik. Hemolisis adalah suatu kondisi di mana membran sel darah merah pecah dan hemoglobin dilepaskan. Spesimen hemolisis sering ditolak untuk pengujian aktivitas ALP karena dapat mengganggu hasil tes. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh variasi indeks hemolisis serum terhadap hasil uji aktivitas alkaline phosphatase (ALP). Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen. Desain penelitian menggunakan post test only control grup design. Sampel yang digunakan merupakan *pooled sera*. Penelitian ini dilaksanakan pada 15 Mei – 5 Juni 2023. Pemeriksaan kadar aktivitas enzim ALP dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Poltekkes Kemenkes Bandung. Didapatkan data sebanyak 60 data dan didapatkan nilai rata-rata pada hasil pemeriksaan pada serum pada variasi indeks hemolisis dengan kadar Hb 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/dL berturut-turut ialah 179, 169, 148, 135, 123, dan 117 IU/L. Analisis deskriptif menunjukkan bahwa hasil aktivitas ALP menurun ketika variasi indeks hemolisis serum ditambahkan. Analisis statistik menunjukkan $p(0,000)$ dan $< 0,05$ dapat diartikan sebagai pengaruh indeks hemolisis serum terhadap hasil studi aktivitas enzim ALP. Pengaruh variasi indeks hemolisis dengan kadar Hb 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/dL dapat menurunkan aktivitas enzim ALP dalam serum..

Kata kunci : Hemolisis, Indeks Hemolisis, Alkaline Phosphatase (ALP)

PENDAHULUAN

Laboratorium klinik harus menjaga kualitas pelayanan dan pemeriksaan. Perlu dipastikan hasil pemeriksaan adalah hasil yang tepat dan akurat yang meminimalkan tingkat kesalahan dalam menentukan diagnosis penyakit dari hasil pemeriksaan¹

Di laboratorium, kesalahan pemeriksaan dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori. Kesalahan proses pra analitik dengan persentase kesalahan 60-70%, kesalahan analitik dengan persentase kesalahan 10-15%, dan kesalahan pasca analitik dengan persentase kesalahan 10-15% 15-18%. Faktor pra-analitik adalah sumber kesalahan terbesar di laboratorium diagnostik².

Elemen pra analitik yang harus diperhatikan di laboratorium adalah pengambilan sampel darah, penyiapan reagen, alat yang akan digunakan, dll. Kemungkinan hemolisis harus diminimalisir saat mengambil sampel. Hemolisis harus dihindari karena dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan². Hemolisis termasuk faktor kesalahan terbesar dalam pra analitik. Hemolisis adalah suatu kondisi di mana membran sel darah merah pecah dan hemoglobin dilepaskan. Hemolisis terjadi ketika konsentrasi hemoglobin serum melebihi 20 mg/dl³.

Indeks hemolisis adalah ukuran atau skala Secara visual ditentukan

METODE

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh suatu perlakuan dengan cara membandingkan satu atau lebih kelompok perbandingan yang menerima perlakuan lain. Desain penelitian ini menggunakan post test only control group design yaitu pengukuran setelah sampel diberi perlakuan dengan kontrol. Unit penelitian dalam penelitian adalah seluruh

Mahasiswa di kampus teknologi laboratorium medis Poltekkes Kemenkes Bandung. Sampel terdiri dari 6 kelompok perlakuan dengan variasi indeks hemolisis

berdasarkan intensitas warna dan pengukuran kadar hemoglobin yang terdapat pada sampel⁴. Hemolisis dapat menyebabkan gangguan terhadap pemeriksaan laboratorium⁵. Pemeriksaan aktivitas enzim Alkaline Phosphatase (ALP) ialah salah satu pemeriksaan yang terpengaruh oleh hemolisis.

ALP adalah keluarga metaloenzim seng yang berpusat pada serin. Enzim ini membebaskan fosfat anorganik dari berbagai ortofosfat organik dan terdapat di hampir semua jaringan⁶. Aktivitas enzim ALP meningkat hal ini disebabkan oleh peningkatan sintesis enzim ini oleh sel-sel yang melapisi saluran empedu, biasanya sebagai respons terhadap kolestasis⁷. Hemolisis menyebabkan keluarnya ion Mg^{2+} dan Zn^{2+} dalam sel menuju serum sehingga ion-ion tersebut meningkat kadarnya pada serum hemolisis⁸.

Penelitian oleh Mehmet dkk (2011) menyimpulkan bahwa hemolisis mempengaruhi aktivitas enzim ALP pada indeks hemolisis ringan (1+) tepatnya pada kadar hemoglobin 0,75 g/dL. Sedangkan Perović dan Dolčić (2019) menyatakan bahwa aktivitas enzim ALP sudah terpengaruh dengan indeks hemolisis ringan (1+) yaitu antara 0,5-0,99 g/L. Selain itu pada penelitian oleh Dwijayanti pada tahun 2020 menyimpulkan adanya pengaruh hemolisis terhadap aktivitas enzim ALP dimulai dengan kada Hb dalam serum sebesar 50 mg/dL.

pada serum 0 (kontrol) 20, 40, 60, 80, 100. Penelitian dilakukan pada bulan April - Mei 2023. Variabel dalam penelitian ini yaitu indeks hemolisis serum dan kadar aktivitas enzim ALP.

Penelitian ini menggunakan data primer, yang didapat dengan melakukan pemeriksaan bahan uji di laboratorium kimia klinik Poltekkes Kemenkes Bandung. Bahan uji yang digunakan ialah *pooled sera*. Data yang terkumpul dianalisis dengan aplikasi SPSS. Pertama, uji normalitas menggunakan *Shapiro-wilk*, Diperoleh data berdistribusi normal, maka dilanjutkan uji *One way anova* dan uji lanjutan dengan *Posy Hoc Tes*

HASIL

Setelah dilakukan pemeriksaan terhadap aktivitas enzim ALP pada serum

dengan variasi indeks hemolisis, didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan ALP

| Pengulangan | Variasi Penambahan Kadar Hb dalam Pooled Sera (mg/dL) | | | | | |
|-------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| | Aktivitas Enzim ALP (IU/L) | | | | | |
| 1 | 183 | 178 | 149 | 140 | 125 | 115 |
| | 178 | 165 | 148 | 141 | 115 | 120 |
| 2 | 178 | 166 | 144 | 137 | 129 | 114 |
| | 181 | 176 | 148 | 133 | 121 | 118 |
| 3 | 185 | 171 | 145 | 130 | 124 | 121 |
| | 175 | 166 | 152 | 139 | 120 | 116 |
| 4 | 179 | 170 | 148 | 128 | 124 | 118 |
| | 175 | 166 | 146 | 134 | 128 | 113 |
| 5 | 180 | 164 | 149 | 133 | 124 | 113 |
| | 178 | 170 | 152 | 137 | 120 | 120 |
| Rata - Rata | 179 | 169 | 148 | 135 | 123 | 117 |

Berdasarkan hasil pemeriksaan aktivitas enzim ALP pada Tabel 1. didapatkan 60 data. Seluruh pengulangan dilakukan duplo dan didapatkan rata-rata pemeriksaan pada variasi penambahan kadar Hb 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/dL berturut-turut adalah 179,0 IU/L, 169,2

IU/L, 148,0 IU/L, 135,0 IU/L, 123,2 IU/L, dan 116,8 IU/L. Nilai rata-rata hasil pemeriksaan aktivitas enzim ALP dari masing-masing kelompok mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya kadar Hb mg/dL dalam *pooled sera*.

Tabel 2. Hasil Uji Deskriptif

| | N | Mean | SD | Std. Error | Min | Max |
|-----------|----|--------|--------|------------|-----|-----|
| 0 mg/dL | 10 | 179.20 | 3.190 | 1.009 | 175 | 185 |
| 20 mg/dL | 10 | 169.20 | 4.756 | 1.504 | 164 | 178 |
| 40 mg/dL | 10 | 148.10 | 2.644 | .836 | 144 | 152 |
| 60 mg/dL | 10 | 135.20 | 4.315 | 1.365 | 128 | 141 |
| 80 mg/dL | 10 | 123.00 | 4.137 | 1.308 | 115 | 129 |
| 100 mg/dL | 10 | 116.80 | 3.011 | .952 | 113 | 121 |
| Total | 60 | 145.25 | 23.347 | 3.014 | 113 | 185 |

Berdasarkan Tabel 2. bahwa jumlah data valid pada setiap perlakuan berjumlah 10 data. Nilai rata rata yang didapat pada kadar Hb 0 mg/dL sebesar 179,2 IU/L dengan nilai minimal sebesar 175 IU/L dan nilai maksimal sebesar 185 IU/L, kadar 20 mg/dL sebesar 169,2 IU/L dengan nilai minimal sebesar 164 IU/L dan nilai maksimal sebesar 178 IU/L, kadar 40 mg/dL sebesar 148,1 IU/L dengan nilai minimal sebesar 144 IU/L dan nilai

maksimal sebesar 152 IU/L, kadar 60 mg/dL sebesar 135,2 IU/L dengan nilai minimal sebesar 128 IU/L dan nilai maksimal sebesar 141 IU/L, kadar 80 mg/dL sebesar 123,0 IU/L dengan nilai minimal sebesar 115 IU/L dan nilai maksimal sebesar 129 IU/L, dan kadar 100 mg/dL sebesar 116,8 IU/L dengan nilai minimal sebesar 113 IU/L dan nilai maksimal sebesar 121 IU/L.

Tabel 3. Hasil uji One Way ANOVA

| Hasil_ALP | | | | | |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Between Groups | 31397.950 | 5 | 6279.590 | 445.419 | .000 |
| Within Groups | 761.300 | 54 | 14.098 | | |
| Total | 32159.250 | 59 | | | |

Berdasarkan Tabel 3. diketahui hasil uji *one way anova* memiliki nilai Sig. sebesar 0,000. Hasil tersebut dapat diartikan *p value/* nilai *p* kurang dari 0,05 sehingga dapat dinyatakan terdapat perbedaan signifikan pada hasil pemeriksaan aktivitas enzim ALP dengan penambahan hemolisis pada serum dengan indeks hemolisis dari berbagai variasi kadar Hb dalam serum. Dapat diartikan terdapat pengaruh yang signifikan antara indeks hemolisis serum terhadap aktivitas enzim ALP.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa aktivitas enzim ALP dalam serum dengan variasi indeks hemolisis menurun dengan penambahan kadar Hb pada kisaran 20 mg/dl sampai 100 mg/dl. Hemolisis adalah kerusakan pada membran sel darah merah (eritrosit) yang menyebabkan hemoglobin serta komponen intraseluler lainnya terlepas ke dalam cairan di sekelilingnya⁹.

ALP adalah metaloenzim yang diaktifkan oleh ion Mg^{2+} dan Zn^{2+} . Ion Mg^{2+} dan Zn^{2+} merupakan kofaktor yang membantu mengaktifkan enzim ALP.

Ketika terjadi hemolisis, ion Mg^{2+} dan Zn^{2+} keluar dari sel eritrosit ke dalam serum. Ion Mg^{2+} dan Zn^{2+} memiliki konsentrasi yang optimal untuk mengaktifkan enzim ALP, tetapi dengan konsentrasi yang lebih tinggi menjadi inhibitor. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya ion Mg^{2+} akan menggeser ion Zn^{2+} dari situs katalitik karena ion logam dapat mengikat ke situs yang sama, sehingga terjadi penurunan aktivitas enzim ALP dalam serum¹⁰.

ALP adalah enzim yang diproduksi terutama oleh epitel hati dan osteoblas (sel yang membentuk tulang baru). Enzim ini juga berasal dari usus, tubulus proksimal ginjal, plasenta, dan kelenjar susu¹¹. Kehadiran enzim ALP dalam sel hati ditemukan di sinusoid dan membran saluran empedu, dan pelepasannya distimulasi oleh garam empedu. ALP diekskresikan melalui saluran empedu¹². ALP adalah sekelompok isoenzim, yang terletak di lapisan luar membran sel; mereka mengkatalisis hidrolisis ester fosfat organik yang ada di ruang ekstraseluler. Seng dan magnesium adalah faktor pendamping penting dari enzim ini¹³.

Magnesium adalah mineral terbanyak keempat dalam tubuh manusia dan merupakan kofaktor untuk lebih dari

325 enzim¹⁴. Magnesium berperan dalam ratusan aktivitas enzim yang mencakup sekitar 80% fungsi metabolisme. Magnesium berperan dalam metabolisme karbohidrat, lipid, protein juga sintesis ATP mitokondria¹⁵. Sekitar 40% magnesium sistemik intraseluler, 60% ditemukan di tulang dan gigi, dan kurang dari 1% ditemukan di sirkulasi darah¹⁶. Tubuh orang dewasa mengandung sekitar 24 g magnesium, dimana 99% disimpan secara intraseluler, terutama di tulang, otot, dan jaringan lunak, dengan hanya 1% disimpan di ruang ekstraseluler tubuh¹⁷. Kadar magnesium normal adalah 1,70 hingga 2,43 mg/dl¹⁵. Konsentrasi total magnesium dalam plasma adalah sekitar 1,8-2,5 mEq/L, lebih dari setengahnya terikat pada protein plasma, dan magnesium terionisasi bebas hanya sekitar 0,8 mEq/L¹⁸.

Ion seng merupakan komponen struktural yang penting, ion seng ditemukan di lebih dari 1000 protein, termasuk enzim antioksidan, metaloenzim, faktor pengikat, dan pengangkut seng, yang diperlukan untuk berbagai proses biologis seperti metabolisme karbohidrat dan protein, sintesis DNA dan RNA, dan pengaturan hormon¹⁹. Seng dalam serum manusia kira-kira 15 µM atau 100 µg/dL (75–125 µg/dL), dan seng dalam darah terikat oleh albumin dan α₂-makroglobulin.²⁰

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa variasi indeks hemolisis yang berbeda berpengaruh terhadap hasil aktivitas enzim ALP dalam serum. Uji one way ANOVA menunjukkan perbedaan hasil yang signifikan ketika pemeriksaan aktivitas enzim ALP dalam serum dengan variasi indeks hemolisis 0, 20, 40, 60, 80, dan 100. Data yang diperoleh dari hasil uji post hoc dengan Tukey's HSD menunjukkan adanya perbedaan signifikan. Pada pengujian ini terlihat bahwa konsentrasi indeks hemolisis terendah yaitu 20 dapat berpengaruh dalam menurunkan hasil pengujian aktivitas enzim ALP.

Hasil penelitian sesuai dengan penelitian "*Effect of Hemolysis Interference on Routine Biochemistry Parameters*", oleh Koseoglu et al (2011)., jurnal yang berafiliasi dengan Departemen Biokimia

dan Biokimia Klinis, Rumah Sakit Pendidikan dan Penelitian Izmir Atatürk Turki menyimpulkan bahwa hemolisis dapat mempengaruhi hampir semua parameter penelitian, salah satunya adalah enzim ALP. Hasil uji aktivitas enzim ALP menunjukkan penurunan yang signifikan dengan variasi indeks hemolisis dalam sampel serum dan plasma heparin.

Hasil penelitian yang telah dilakukan sesuai dengan studi berjudul "*Explanation of the Decrease in Alkaline phosphatase (ALP) Activity in Hemolysed Blood Samples from the Clinical Point of View: In vitro study*" oleh Farah dkk pada tahun 2012 dalam *Jordan Journal of Biological Sciences* milik Universitas Kairo, departemen biokimia, fakultas agrikultur, Kairo Mesir, menyimpulkan hemolisis dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan enzim ALP. Hasil studi aktivitas enzim ALP menunjukkan penurunan linier yang signifikan dalam konsentrasi hemoglobin bebas dalam sampel serum.

Hasil ini juga sesuai dengan penelitian yang berjudul "*Hemolysis indexes for biochemical tests and immunoassays on Roche analyzers*" oleh Monneret dkk pada tahun 2015 dalam jurnal milik Universitas *La Piti é Salp é tri è re-Charles Foix* Paris, departemen biokimia metabolisme, Paris Francis menyimpulkan hemolisis dapat mempengaruhi pemeriksaan biokimia termasuk enzim ALP. Hasil pemeriksaan aktivitas enzim ALP menunjukkan penurunan linier yang signifikan dalam konsentrasi hemoglobin bebas dalam sampel serum.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa serum hemolisis memberi pengaruh pada pemeriksaan aktivitas enzim ALP. Semakin tinggi indeks hemolisis serum, semakin rendah hasil uji aktivitas enzim ALP. Berdasarkan hasil tersebut, hemolisis pada serum harus dihindari dengan meminimalkan resiko kerusakan sampel berupa hemolisis dan proses preparasi sampel. Apa yang harus dilakukan jika anda menemukan serum hemolisis, lebih baik mengambil ulang sampel, kecuali dalam kondisi khusus, seperti pasien dengan kondisi klinis yang membuat serum hemolisis secara in vivo.

Dalam hal ini dimungkinkan untuk melakukan pengecekan, namun hasil yang dikeluarkan harus disertai dengan catatan.

SIMPULAN

Pengaruh variasi indeks hemolisis dengan kadar Hb 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/dL dapat menurunkan aktivitas enzim ALP dalam serum. Hasil rata-rata pemeriksaan ALP menurun berbanding lurus dengan peningkatan indeks hemolisis. Didapatkan hasil uji statistik *One Way Anova* dengan sig. 0,000 < 0,05 menunjukkan adanya pengaruh. Secara klinis pada kadar Hb 80 dan 100 mg/dL dengan TE% 35,12 dan 39,27 melebihi Tea pemeriksaan ALP sebesar 30% menunjukkan adanya pengaruh secara klinis. Bagi penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan penelitian mengenai kadar ion Mg²⁺ dan Zn²⁺ yang dapat mempengaruhi penurunan aktivitas enzim ALP dalam serum. Bagi Laboratorium sebaiknya penggunaan sampel hemolisis harus dihindari karena dapat mempengaruhi aktivitas enzim ALP dalam serum. Jika ditemukan sampel hemolisis maka harus dilakukan pengambilan sampel baru.

DAFTAR RUJUKAN

1. Kahar H. Pengaruh Hemolisis Terhadap Kadar Serum Glutamate Pyruvate Transaminase (SGPT) Sebagai Salah Satu Parameter Fungsi Hati. *Surabaya: The Journal of Muhamadiyah Medical Laboratory Technologist*. 2018;1(1):38-46.
2. Fadhilah F, Sari AB, Apriliani A. The Effect of Test Tube Sterilization from Serum Lipemic Against Level of Triglyceride GPO-PAP Method. *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology*. 2019;1. doi:10.33086
3. Budiyono, Imam, Ria Triwadhani, Indrayani. *Pengelolaan Tahapan Pemeriksaan Di Laboratorium Klinik*. Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2011.
4. Adiga U, Associate Professor U. *Hemolytic Index-A Tool to Measure Hemolysis in Vitro*. Vol 2.; 2016. www.iosrjournals.orgwww.iosrjournal.org49|Page
5. Nurmandari I, Nuryani S, Supriyanta B, Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta M, PENGARUH HEMOLISIS DALAM SERUM TERHADAP AKTIVITAS ENZIM ALANIN AMINOTRANSFERASE (ALT). *Jurnal Labora Medika*. 2019;3:41-44.
6. Adryan Fristiohady, Ruslin. *PENGANTAR KIMIA KLINIK DAN DIAGNOSTIK*. Wahana Resolusi Pandeyan; 2020.
7. Gaw A, Murphy MJ, Cowan RA, O'Reilly D, Stewart MJ, Shepherd J. *Biokimia Klinis*. Buku Kedokteran EGC; 2011.
8. Farah H, Al-Atoom A, Shehab G. Explanation of the Decrease in Alkaline phosphatase (ALP) Activity in Hemolysed Blood Samples from the Clinical Point of View: In vitro study. *Zagazig Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2011;20. doi:10.21608/zjps.2011.169352
9. Lippi G. Chapter Six - Systematic Assessment of the Hemolysis Index: Pros and Cons. In: Makowski GS, ed. Vol 71. *Advances in Clinical Chemistry*. Elsevier; 2015:157-170. doi:https://doi.org/10.1016/bs.acc.2015.05.002
10. Koseoglu Mehmet, Hur Aysel, Atay Aysenur, Çuhadar Serap. Effects of hemolysis interference on routine biochemistry parameters. *Biochem Med (Zagreb)*. Published online 2011:79-85.
11. Jeharu SA, Putu G, Ferry A, Putra S, Widayanti NP. Pengaruh Pemberian Variasi Dosis Rifampisin Terhadap Kadar Gamma Glutamyl Transferase

- dan Alkaline Phosphatase Pada Tikus Putih Galur Wistar. *Bali International Scientific Forum*. 2020;1.
12. Rosida A. *Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati.*; 2016.
 13. Green MR, Sambrook J. Alkaline phosphatase. *Cold Spring Harb Protoc.* 2020;2020(8):330-332. doi:10.1101/pdb.top100768
 14. Wyparło-Wszelaki M, Wąsik M, Machoń-Grecka A, et al. Blood Magnesium Level and Selected Oxidative Stress Indices in Lead-Exposed Workers. Published online 2021. doi:10.1007/s12011-020-02168-x/Published
 15. Malingkas C V, Paruntu ME, Assa YA. Gambaran Kadar Magnesium Serum Pada Orang Lanjut Usia Dengan Umur 60-74 Tahun. *eBiomedik.* 2015;3(1). doi:10.35790/ebm.3.1.2015.6617
 16. Ismail A, Ismail N. Magnesium: A Mineral Essential for Health Yet Generally Underestimated or Even Ignored. *J Nutr Food Sci.* 2016;6. doi:10.4172/2155-9600.1000523
 17. Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology.* 2015;10(7):1257-1272. doi:10.2215/CJN.09750913
 18. Guyton, Hall. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.* 12th ed. Elsevier; 2016.
 19. Wilson RL, Grieger JA, Bianco-Miotto T, Roberts CT. Association between maternal zinc status, dietary zinc intake and pregnancy complications: A systematic review. *Nutrients.* 2016;8(10). doi:10.3390/nu8100641
 20. O'Connor JP, Kanjilal D, Teitelbaum M, Lin SS, Cottrell JA. Zinc as a therapeutic agent in bone regeneration. *Materials.* 2020;13(10). doi:10.3390/ma13102211