

**PENGARUH IKAN TERI (*Stolephorus sp.*) TERHADAP
REGENERASI MANDIBULA TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus novergicus*)
MELALUI EKSPRESI OSTEOLAS DAN OSTEOKLAS
SEBAGAI UPAYA PENCEGAHAN STUNTING**

**ANCHOVY (*Stolephorus Sp.*) EFFECTS ON MANDIBULAR REGENERATION
OF MALE WISTAR RATS (*Rattus Novergicus*) THROUGH EXPRESSION OF
OSTEOBLASTS AND OSTEOCLASTS AS STUNTING PREVENTION**



**YEYEN MARWATY
J065211004**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
ILMU KEDOKTERAN GIGI ANAK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**PENGARUH IKAN TERI (*Stolephorus sp.*) TERHADAP
REGENERASI MANDIBULA TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus novergicus*)
MELALUI EKSPRESI OSTEOLAS DAN OSTEOKLAS
SEBAGAI UPAYA PENCEGAHAN STUNTING**

**YEYEN MARWATY
J065211004**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
ILMU KEDOKTERAN GIGI ANAK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**PENGARUH IKAN TERI (*Stolephorus sp.*) TERHADAP
REGENERASI MANDIBULA TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus novergicus*)
MELALUI EKSPRESI OSTEOLAS DAN OSTEOKLAS
SEBAGAI UPAYA PENCEGAHAN STUNTING**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar spesialis

Program Studi Kedokteran Gigi Anak

Disusun dan diajukan oleh

YEYEN MARWATY
J065211004

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI KEDOKTERAN GIGI ANAK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

TESIS

PENGARUH IKAN TERI (*Stolephorus sp.*) TERHADAP
REGENERASI MANDIBULA TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus novergicus*)
MELALUI EKSPRESI OSTEOLAS DAN OSTEOKLAS
SEBAGAI UPAYA PENCEGAHAN STUNTING

YEYEN MARWATY
J065211004

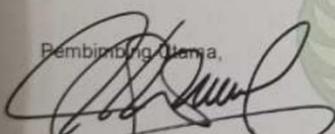
telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Hasil pada 8 Juli 2024 dan dinyatakan telah
memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Kedokteran Gigi Anak
Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan

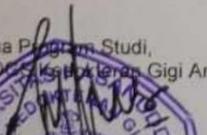
Bebimbing Utama,


Prof. Dr. drg. Muh. Harun Ahmad,
M. Kes., Sp. KGA, KKA (K), FSASS
NIP. 19710523 200212 1 002

Bebimbing Pendamping,


Dr. Letkol Laut (K) W) Lusy Damayanti,
drg., Sp. KGA
NIP. 19711006 202101 6 001

Ketua Program Studi,
PPD Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi Anak


drg. Syakrani Syahrir, Sp. KGA.,
Sub. Sp. AIBK (K)
NIP. 19860719 202107 4 001

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin,


drg. Irfan Sdqianto, M. Med. Ed., Ph.D
NIP. 19810215 200301 1 009



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "PENGARUH IKAN TERI (*Stolephorus sp.*) TERHADAP REGENERASI MANDIBULA TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus novergicus*) MELALUI EKSPRESI OSTEOKLAS DAN OSTEOKLAS SEBAGAI UPAYA PENCEGAHAN STUNTING" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Prof. Dr. drg. Muhammad Harun Ahmad, M.Kes., Sp.KGA.-(K)KKA, FSASS. sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Letkol Laut (K/W) Lusy Damayanti, drg., Sp.KGA sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 26 Juli 2024



UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan tesis ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Prof. Dr. drg. Muhammad Harun Achmad, M.Kes., Sp.KGA.-(K) KKA, FSASS. sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Letkol Laut (K/W) Lusy Damayanti, drg., Sp.KGA sebagai Pembimbing Pendamping. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka. Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada Kepala Klinik Hewan *La Coste* Gowa Sulawesi Selatan yang telah mengizinkan kami untuk melaksanakan penelitian di klinik hewan, kepada Kepala Laboratorium Pengujian Kimia Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian Politeknik Pertanian Negeri Pangkep dan Direktur Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin atas kesempatan untuk menggunakan fasilitas dan peralatan di Laboratorium. Terima kasih juga saya sampaikan kepada Ibu Maupe Rahma atas bantuan dalam pengujian statistik.

Kepada Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, saya mengucapkan terima kasih atas Bantuan Biaya Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Angkatan ke-28 yang diberikan (No.HK.01.07/V/840/2022) selama menempuh program pendidikan dokter gigi spesialis. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Studi Kedokteran Gigi Anak Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi saya menempuh program pendidikan dokter gigi spesialis serta para dosen dan rekan-rekan dalam tim penelitian.

Akhirnya, kepada ibunda tercinta, saya mengucapkan limpah terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasinya selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada dosen-dosen saya, drg. Syakriani Syahrir, Sp.KGA., (K) AIBK, drg. Wiwik Elnangti Wijaya, Sp.KGA, drg. Yayah Inayah, Sp.KGA, dan drg. Andi Sri Permata Sari, Sp.KGA atas dukungan dan bimbingannya; cinta yang tak terhingga untuk anak – anak saya atas doa dan pengertiannya; teman-teman Pedo 2 atas dukungan, motivasi, dan kekompakannya; dan kepada teman-teman Pedo 1 serta seluruh adik-adik Pedo 3-7 banyak terima kasih atas doa dan bantuannya yang tak ternilai.

Penulis,

Yeyen Marwaty

ABSTRAK

YEYEN MARWATY. **Pengaruh Ikan Teri (*Stolephorus Sp.*) Terhadap Regenerasi Mandibula Tikus Wistar Jantan (*Rattus Novergicus*) Melalui Ekspresi Osteoblas Dan Osteoklas Sebagai Upaya Pencegahan Stunting)** (dibimbing oleh Muhammad Harun Achmad dan Lusy Damayanti).

Latar Belakang. Banyak penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa ikan teri bermanfaat dalam meningkatkan kepadatan tulang. Namun bagaimana pengaruh ikan teri terhadap regenerasi tulang mandibula dan potensinya sebagai sumber kalsium terhadap pencegahan stunting belum diketahui. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan melihat pengaruh ikan teri terhadap ekspresi osteoklas dan osteoblas tulang mandibula dan potensinya sebagai salah satu sumber kalsium terhadap pencegahan stunting. **Metode.** Penelitian dilakukan selama 40 hari dengan menggunakan 32 ekor tikus wistar jantan dengan BB 200-300 gr yang dibagi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol (tanpa ikan teri) dan kelompok ikan teri (dengan penambahan ikan teri). Penelitian dibagi enam tahap, yaitu: 1) pembuatan (ekstrak) sediaan bubuk ikan teri; 2) penentuan dosis pemberian ikan teri; 3) persiapan hewan coba; 4) perlakuan hewan coba; 5) pembuatan dan pewarnaan slide preparat; dan 6) pemeriksaan histologi (penghitungan osteoblas dan osteoklas). **Hasil.** Jumlah osteoblas pada kelompok tikus wistar yang diberi perlakuan tambahan pakan ekstrak ikan teri lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol yang hanya mendapatkan pakan standar. Rata – rata jumlah osteoblas untuk kelompok ikan teri dan kelompok kontrol masing – masing sebesar 11,06 dan 7,31. Sementara nilai rata – rata jumlah osteoklas kelompok kontrol dan kelompok ikan teri masing – masing 9,56 dan 7,31. Dengan kata lain jumlah osteoklas kelompok kontrol lebih banyak daripada kelompok ikan teri. **Kesimpulan.** Ikan teri meningkatkan osteoblas dan menurunkan osteoklas sehingga merangsang regenerasi mandibula tikus wistar jantan.

Kata kunci: ikan teri; kalsium; regenerasi tulang; osteoblas osteoklas; stunting

ABSTRACT

YEYEN MARWATY. **Anchovy (*Stolephorus sp.*) Effects on Mandibular Regeneration of Male Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) Through Expression of Osteoblasts and Osteoclasts as Stunting Prevention** (supervised by Muhammad Harun Achmad and Lusy Damayanti).

Background. Many previous studies have proven that anchovies are useful in increasing bone density. However, the effect of anchovies on mandibular bone regeneration and their potential as a source of calcium in preventing stunting is not yet known. **Purpose.** This study aims to see the effect of anchovies on the expression of osteoclasts and osteoblasts in the mandibular bone and their potential as a source of calcium for preventing stunting. **Method.** The research was carried out for 40 days using 32 male Wistar rats with a body weight of 200-300 gr which were divided into two groups, namely the control group (without anchovies) and the anchovy group (with the addition of anchovies). The research was divided into six stages, namely: 1) making (extracting) anchovy powder preparations; 2) determining the dose of anchovy; 3) preparation of experimental animals; 4) treatment of experimental animals; 5) making and staining slide preparations; and 6) histology examination (counting osteoblasts and osteoclasts). **Result.** The number of osteoblasts in the group of Wistar rats that were treated with additional anchovy extract feed was greater than in the control group that only received standard feed. The average number of osteoblasts for the anchovy group and control group was 11.06 and 7.31 respectively. Meanwhile, the average value for the number of osteoclasts in the control group and anchovy group was 9.56 and 7.31, respectively. In other words, the number of osteoclasts in the control group was greater than that in the anchovy group. **Conclusion.** Anchovies increase osteoblasts and decrease osteoclasts thereby stimulating mandibular regeneration in male Wistar rats.

Keywords: anchovy; calcium; bone regeneration; osteoblast osteoclast; stunting

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.3.1 Tujuan Umum	7
1.3.2 Tujuan Khusus	7
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.4.1 Manfaat Iptek	7
1.4.2 Manfaat Klinis	7
1.5 Kerangka Teori	8
1.6 Kerangka Konsep	9
BAB II	10
METODE PENELITIAN	10
2.1 Jenis dan Desain Penelitian	10
2.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	10
2.2.1 Waktu Penelitian	10
2.2.2 Lokasi Penelitian	10
2.3 Populasi dan Sampel Penelitian	10
2.3.1 Populasi Penelitian	10
2.3.2 Sampel Penelitian	10
2.3.3 Perhitungan Besar Sampel	10
2.4 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional	11

2.4.1 Variabel Penelitian	11
2.4.2 Definisi Operasional	11
2.5 Alat dan Bahan	11
2.5.1 Alat	11
2.5.2 Bahan	12
2.6 Prosedur Penelitian	12
2.6.1 Pembuatan Ekstrak Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>)	12
2.6.2 Persiapan Hewan Coba	12
2.6.3 Penentuan Dosis Ikan Teri (<i>Stolephorus Sp.</i>)	12
2.6.4 Pembedahan dan Pengambilan Tulang Mandibula Wistar	13
2.6.5 Persiapan Jaringan Tulang Mandibula Wistar	13
2.7 Pengumpulan dan Analisis Data	13
2.8. Alur Penelitian	14
BAB III	15
HASIL DAN PEMBAHASAN	15
3.1 Hasil Pengamatan	15
3.1.1 Uji Normalitas	16
3.1.2 Uji Homogenitas	17
3.1.3 Uji <i>Independent Sample – T</i>	17
3.2 Pembahasan	19
BAB IV	23
KESIMPULAN DAN SARAN	23
4.1 Kesimpulan	23
4.2 Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	26

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 3. 1** Jumlah osteoblas dan osteoklas. Tanda panah hitam osteoblas; Tanda panah merah osteoklas; mikroskop Raxvision B-550 US 16
- Gambar 3. 2** Grafik rerata perbandingan jumlah osteoblas tulang mandibula tikus wistar jantan berdasarkan kelompok perlakuan. 18
- Gambar 3. 3** Grafik rerata perbandingan jumlah osteoklas tulang mandibula tikus wistar jantan berdasarkan kelompok perlakuan 18

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Penelitian yang memanfaatkan pengaruh ikan teri terhadap mandibula tikus wistar	6
Tabel 3.1 Kadar Kalsium dan Posfor Tepung Ikan Teri Kering	15
Tabel 3.2 Hasil uji normalitas pemeriksaan osteoblas dan osteoklas kelompok kontrol dan kelompok ikan teri setelah 40 hari perlakuan.....	17
Tabel 3.3 Hasil uji homogenitas rerata osteoblast dan osteoklas kelompok control dan kelompok ikan teri setelah 40 hari perlakuan.....	17
Tabel 3.4 Hasil uji Sample T, perhitungan rerata jumlah osteoblas dan osteoklas pada kelompok kontrol dan kelompok ikan teri setelah 40 hari perlakuan.....	18

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Waktu erupsi gigi menentukan tumbuh kembang anak, pertumbuhan kompleks kraniofasial, dan pemilihan makanan anak. Dalam kedokteran gigi anak, memprediksi kronologi dan waktu erupsi gigi sangat penting untuk menilai pertumbuhan dan perkembangan anak, memprediksi pola oklusi, mencegah maloklusi, dan menentukan rencana perawatan ortodontik. Erupsi yang tertunda adalah tanda potensi kondisi patologis dalam perkembangan maksilofasial. Salah satu faktor yang menyebabkan erupsi gigi terlambat adalah stunting. (Nelwan et al., 2022)

(Singh, 2015) membagi etiologi maloklusi menjadi faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor ekstrinsik termasuk keturunan, bawaan, gizi buruk, kebiasaan buruk, trauma dan kecelakaan. Faktor intrinsik antara lain karies gigi sulung, kelainan bentuk, ukuran atau jumlah gigi, kehilangan dini, retensi berkepanjangan dan ankilosis.

Stunting adalah masalah kurang gizi kronis yang disebabkan oleh kurangnya asupan gizi dalam waktu yang cukup lama, sehingga mengakibatkan gangguan pertumbuhan pada anak yakni tinggi badan anak lebih rendah atau pendek (kerdil) dari standar usianya. Kekurangan gizi dimulai sejak bayi dalam kandungan dan pada masa awal kelahiran, tetapi stunting baru muncul setelah anak berusia dua tahun. (Kemenkes RI, 2018).

Selama bertahun-tahun, Indonesia menghadapi sejumlah masalah gizi yang berdampak serius terhadap kualitas sumber daya manusianya. Salah satu masalah gizi yang paling menarik perhatian saat ini adalah peningkatan jumlah anak balita pendek, atau stunting, yang masih tinggi. (Kemendes PDTT, 2017)

Data WHO tahun 2020 menunjukkan bahwa 149,2 juta anak di bawah usia 5 tahun di seluruh dunia mengalami stunting, yang merupakan 22% dari total anak tersebut. Menurut Joint Child Malnutrition Estimates 2021 dari United Nations Children's Fund (UNICEF), WHO, dan World Bank Group, stunting di benua Asia mencapai 21,8% pada tahun 2020. (Kemenkes RI, 2018)

Berdasarkan data Hasil Survei Status Gizi Indonesia (SSGI), prevalensi stunting di Indonesia pada tahun 2022 adalah 21,6%. Namun, target pemerintah adalah 14% pada tahun 2024. Data menunjukkan bahwa Indonesia berada di urutan kedua di Asia Tenggara setelah Timor Leste, di urutan kelima di antara negara-negara Asia, dan di urutan ke-27 di dunia dari 154 negara dengan data stunting. (Fakhira., 2023; Paupedia, 2023)

Pertumbuhan bayi dan anak dapat dilihat dengan beberapa indikator status gizi. Secara umum, tiga indikator ini adalah berat badan menurut umur (BB/U), tinggi badan menurut umur (TB/U), dan berat badan menurut tinggi badan (BB/TB). Stunting merupakan salah satu masalah gizi yang diakibatkan oleh kekurangan zat gizi yang lama. Hal ini ditunjukkan dengan indikator TB/U dengan nilai skor-Z (Z- score) di bawah -2. Stunting dikaitkan dengan berbagai indikator kesehatan yang buruk, seperti penurunan berat badan, dan penurunan fungsi kognitif. (Kemendes PDTT, 2017)

Stunting merefleksikan gangguan pertumbuhan sebagai dampak dari rendahnya status gizi dan kesehatan pada periode pre- dan post-natal. UNICEF *framework* menjelaskan tentang faktor penyebab terjadinya malnutrisi. Dua penyebab langsung stunting adalah faktor penyakit dan asupan zat gizi. Kedua faktor ini berhubungan dengan faktor pola asuh, akses terhadap makanan, akses terhadap layanan kesehatan dan sanitasi lingkungan. Namun, penyebab dasar dari semua ini adalah terdapat pada level individu dan rumah

tangga tersebut, seperti tingkat pendidikan, pendapatan rumah- tangga. Banyak penelitian *cross-sectional* menemukan hubungan yang erat antara tingkat pendidikan ibu dengan status gizi anak.(Bloem et al., 2013)

WHO (2013) membagi penyebab terjadinya stunting pada anak menjadi 4 kategori besar yaitu: (Rahayu, 2018)

1. Keluarga dan faktor rumah tangga: faktor maternal (nutrisi yang kurang pada saat prekonsepsi, kehamilan, dan laktasi, tinggi badan ibu yang rendah, infeksi, kehamilan pada usia remaja, kesehatan mental, *intrauterine growth restriction* (IUGR) dan kelahiran preterm, jarak kehamilan yang pendek, dan hipertensi), dan faktor lingkungan rumah (stimulasi dan aktivitas anak yang tidak adekuat, perawatan yang kurang, sanitasi dan pasukan air yang tidak adekuat, akses dan ketersediaan pangan yang kurang, alokasi makanan dalam rumah tangga yang tidak sesuai, edukasi pengasuh yang rendah).
2. Makanan tambahan/komplemen yang tidak adekuat: kualitas makanan yang buruk meliputi kualitas mikronutrien yang buruk, kurangnya keragaman dan asupan pangan yang bersumber dari pangan hewani, kandungan tidak bergizi, dan rendahnya kandungan energi pada *complementary foods*.
3. Beberapa masalah dalam menyusui/pemberian ASI: pengetahuan ibu tentang kesehatan dan sosio-kultural, terbatasnya petugas kesehatan dalam memberikan makanan pendamping ASI yang terlalu dini, dan tidak lancarnya ASI setelah melahirkan. Masalah-masalah terkait praktik pemberian ASI meliputi delayed initiation, tidak menerapkan ASI eksklusif, dan penghentian dini konsumsi ASI.
4. Infeksi: malnutrisi dapat meningkatkan risiko infeksi, sedangkan infeksi dapat menyebabkan malnutrisi yang mengarahkan ke lingkaran setan. Anak kurang gizi, yang daya tahan terhadap penyakitnya rendah, jatuh sakit dan akan menjadi semakin kurang gizi, sehingga mengurangi kapasitasnya untuk melawan penyakit dan sebagainya. Ini disebut juga infection malnutrition.

Stunting dapat dikenali sejak dini dengan melihat ciri-ciri: (Kemendes PD TT, 2017)

1. Tanda pubertas terlambat
2. Usia 8-10 tahun anak menjadi lebih pendiam, tidak banyak melakukan *eye contact*
3. Performa buruk pada tes perhatian dan memori belajar
4. Pertumbuhan melambat
5. Pertumbuhan gigi terlambat
6. Wajah nampak lebih muda dari usianya

Stunting merupakan ancaman utama terhadap kualitas manusia Indonesia, juga ancaman terhadap kemampuan daya saing bangsa. Hal ini dikarenakan anak stunting, bukan hanya terganggu pertumbuhan fisiknya (bertubuh pendek/kerdil) saja, tetapi juga terganggu perkembangan otaknya, selain itu stunting pada masa tumbuh kembang anak memicu terjadinya maloklusi, seperti gigi berjejal dan gangguan pertumbuhan tulang, dan juga dapat mempengaruhi perkembangan struktur gigi, erupsi gigi dan peningkatan karies, yang mana tentu akan sangat mempengaruhi kemampuan dan prestasi di sekolah, produktivitas dan kreativitas di usia-usia produktif.(Kemenkes RI, 2018; Narmada et al., 2024; Rahmadhita, 2020). Perkembangan anak tidak selalu melulu tentang sifat dan karakter namun juga perkembangan fisiknya, salah satunya bisa terlihat jelas melalui tumbuh kembang tulang mereka.(Atin, 2004; Kemenkes RI, 2018)

Kekurangan gizi dapat terjadi sejak bayi dalam kandungan dan pada masa awal setelah anak lahir, tetapi baru nampak setelah anak berusia 2 tahun, di mana keadaan gizi ibu dan anak merupakan faktor penting dari pertumbuhan anak. Periode 0-24 bulan usia anak merupakan periode yang menentukan kualitas kehidupan sehingga disebut dengan periode emas. Periode ini merupakan periode yang sensitif karena akibat yang ditimbulkan terhadap bayi masa ini bersifat permanen, tidak dapat dikoreksi. Diperlukan pemenuhan gizi adekuat usia ini. (Black et al., 2008; Branca and Ferrari, 2002)

Gizi merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap proses tumbuh kembang anak. Sebelum lahir, anak tergantung pada zat gizi yang terdapat dalam darah ibu. Setelah lahir, anak tergantung pada tersedianya bahan makanan dan kemampuan saluran cerna. Hasil penelitian tentang pertumbuhan anak Indonesia menunjukkan bahwa kegagalan pertumbuhan paling gawat terjadi pada usia 6-18 bulan. Penyebab gagal tumbuh tersebut adalah keadaan gizi ibu selama hamil, pola makan bayi yang salah, dan penyakit infeksi. (Sunawang, 2009)

Nutrisi penting untuk seluruh proses metabolisme di dalam tubuh. Nutrisi dan diet intake sangat berhubungan dengan pertumbuhan dan perkembangan seluruh organ tubuh, termasuk pertumbuhan dan perkembangan tulang. Pemilihan jenis makanan sepanjang kehidupan akan menentukan status pertumbuhan dan perkembangan tulang, terutama makanan dengan kadar tinggi protein, fosfor dan kalsium. (Aryati, 2014)

Kalsium merupakan mineral yang penting untuk manusia, 99 persen kalsium di dalam tubuh manusia terdapat di tulang. Dan sebanyak 1 persen kalsium terdapat di dalam cairan tubuh seperti serum darah, di sel-sel tubuh, dalam cairan ekstraseluler dan intraseluler. Anak-anak memerlukan kalsium untuk pertumbuhan tulang dan gigi mereka. Kekurangan kalsium dapat mengakibatkan pertumbuhan tulang anak tidak sempurna dan menderita penyakit *rickets*. Asupan kalsium juga sangat penting untuk ibu hamil dan menyusui, sehingga anak-anaknya mempunyai gigi dan tulang yang sehat. Untuk tulang, anak-anak yang kekurangan kalsium dan vitamin D akan menjadi kurang kuat, bahkan bentuk kakinya bisa menjadi X atau O. (Harti, 2019; Shita, 2015)

Bila tidak mendapat cukup kalsium dari makanan, tubuh akan mengambilnya dari "bank kalsium" pada persendian tangan, kaki dan tulang panjang lainnya. Kekurangan konsumsi kalsium dalam waktu lama akan mengakibatkan tubuh mengambilnya langsung dari tulang-tulang padat. Hal ini mengakibatkan tulang keropos dan mudah patah (osteoporosis). (Shita, 2015)

Salah satu ion yang membentuk matriks tulang adalah kalsium, yang sebagian besar ditemukan dalam jaringan tulang dalam bentuk kalsium fosfat. Dalam beberapa cara, kalsium memengaruhi sel dan seluruh sistem kehidupan. Melalui proses yang dikenal sebagai kalsifikasi, kalsium memiliki kemampuan untuk menyebabkan pembentukan dan pematangan tulang. Kalsium juga memengaruhi regenerasi tulang melalui sinyal seluler. Ini merangsang pematangan tulang melalui pembentukan oksida nitrat dan mendorong sel-sel prekursor pertumbuhan tulang untuk regenerasi tulang baru. Kalsium juga merangsang jalur sintesis tulang osteoblasik dengan mengaktifkan ERK1/2 dan meningkatkan masa hidup osteoblas dengan mengaktifkan P13K/Akt. Kalsium juga mengatur pembentukan dan resorptif fungsi osteoklas. (Jeong et al., 2019)

Sifat osteoinduktif dan osteokonduktif kalsium fosfat juga penting untuk regenerasi tulang. Osteoinduksi adalah kemampuan untuk menginduksi sel-sel progenitor untuk berdeferensiasi menjadi turunan osteoblasik, sedangkan osteokonduksi adalah kemampuan tulang untuk bertumbuh pada permukaan material. Osteoinduksi dan osteokonduksi mendukung adhesi dan proliferasi sel. Adhesi sel sangat dipengaruhi oleh

kemampuan untuk menyerap protein matriks ekstraseluler. Adhesi juga dipengaruhi oleh karakteristik permukaan kalsium fosfat, seperti kekasaran permukaan, kristalinitas, kelarutan, kandungan fase, porositas, dan energi permukaan.(Jeong et al., 2019)

Tulang adalah jaringan ikat aktif yang secara metabolik mengalami regenerasi secara terus menerus yaitu pembentukan (formasi) dan penyerapan (resorpsi) tulang. Proses ini bergantung pada aktivitas osteoklas, osteoblas, dan osteosit. Tulang merupakan jaringan terkalsifikasi yang terdiri dari 5-10% air, 50-70% hidroksiapatit dan 20-40% komponen organik (termasuk kolagen tipe I dan 10% protein nonkolagen yang terlibat dalam mineralisasi tulang).(Chen G, 2012; Rinaldo, 2015; Zaneta, 2021)

Tulang harus berada dalam kondisi regenerasi yang konstan, ini penting untuk pemeliharaan struktur dan fungsi kerangka yang normal. Homeostasis tulang bergantung pada resorpsi tulang oleh osteoklas dan pembentukan tulang oleh osteoblas. Banyak jenis sel dan faktor yang terlibat dalam proses regenerasi tulang. Osteoblas dan osteoklas adalah dua sel utama yang berpartisipasi dalam kemajuan tersebut. Osteoklas bertanggung jawab atas resorpsi tulang yang menua dan osteoblas bertanggung jawab atas pembentukan tulang baru. Resorpsi dan pembentukan tulang akan stabil pada kondisi fisiologis. Namun, bila keseimbangannya terganggu, struktur atau fungsi tulang akan menjadi tidak normal dan akan terjadi penyakit metabolisme tulang seperti osteoporosis atau osteopetrosis.(Kazuhiko, 2014; Matsuo et al, 2008; Zaidi, 2007)

Meskipun tulang tampak seperti banda mati, konstituen-konstituennya secara terus menerus diperbarui. Deposisi tulang dan resorpsi tulang dalam keadaan normal berlangsung bersamaan sehingga tulang secara terus menerus mengalami regenerasi (*remodeling*), seperti orang merenovasi bangunan dengan merobohkan dinding dan menggantinya dengan yang baru. Melalui regenerasi, tulang manusia dewasa diganti seluruhnya setiap sekitar 10 tahun. Regenerasi tulang memiliki dua tujuan: menjaga tulang agar tetap efektif dalam fungsi mekanisnya, dan membantu mempertahankan kadar kalsium plasma.(Sherwood, 2014)

Proses regenerasi melibatkan osteoblas dan osteoklas melalui mekanisme signal parakrin dan endokrin. Osteoklas merupakan sel dengan beberapa inti sel dan berkembang dari *hematopoietic stem cells* serta memiliki fungsi dalam meresorpsi tulang, sedangkan osteoblas memiliki fungsi sebagai penghasil matriks organik yang terdiri atas protein kolagen dan nonkolagen serta mengatur proses mineralisasi kalsium fosfat pembentuk osteoid. Osteoblas berkembang dari osteoprogenitor yang terdapat di bagian dalam periosteum dan sumsum tulang. Proses diferensiasi osteoblas merupakan salah satu faktor penting dalam proses regenerasi tulang. Proses proliferasi dan diferensiasi osteoblas diatur oleh *growth factor* yang dihasilkan oleh osteoblas. *Growth factor* yang berperan diantaranya *Insulin Growth Factor* (IGF I dan II), *Bone Morphogenic Proteins* (BMPs), *Fibroblas Growth Factor* (FGF), dan *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) yang bekerja secara autokrin dan parakrin, serta hormon estrogen.(Xiao et al., 2015)

Osteoblas mengekspresikan dua sitokin yang penting untuk osteoklastogenesis, *Macrophage Colony-Stimulating Factor* (M-CSF) dan ekspresi RANKL. Osteoblas juga menghasilkan OPG, reseptor umpan untuk RANKL, yang menghambat interaksi antara RANKL dan RANK, reseptor RANKL. Faktor-faktor perangsang resorpsi tulang bekerja pada osteoblas untuk mengatur ekspresi RANKL dan OPG. *Nuclear factor* dari T-sel yang diaktifkan, sitoplasma 1 (NFATc1) adalah faktor transkripsi master untuk diferensiasi osteoklas.(Xiao et al., 2015)

Osteoklas muncul oleh bergabungnya myeloid hematopoietik prekursor yang terbentuk di sumsum tulang. Osteoklas prekursor ditarik dari sumsum tulang ke aliran darah oleh

chemokines (seperti M-CSF, RANKL) dan disirkulasi hingga osteoklas prekursor tertarik kembali ke tulang.(Eriksen, 2010)

Keseimbangan yang tepat antara pembentukan dan resorpsi tulang sangat penting untuk pemeliharaan kepadatan massa tulang dan homeostasis mineral sistemik. Gangguan keseimbangan ini dapat menyebabkan berbagai penyakit tulang, termasuk osteoporosis, yang secara khas didefinisikan sebagai penurunan kepadatan tulang yang berisiko tinggi menyebabkan terjadinya patah tulang. Osteoblas dan osteoklas mempunyai aktivitas yang terintegrasi erat meskipun mereka berasal dari garis keturunan seluler yang berbeda dan memiliki fungsi yang berlawanan dalam proses regenerasi tulang.(Kenkre, 2018)

Sumber kalsium terbagi menjadi dua, yaitu hewani dan nabati. Sumber kalsium dari hewani antara lain; ikan, udang, susu dan produk olahan susu (*dairy*) seperti yogurt, keju dan *ice cream*, kuning telur, ikan teri, udang rebon, dan daging sapi. Dari berbagai jenis ikan, ikan teri baik segar maupun kering mempunyai kandungan kalsium tertinggi. Makanan dengan kualitas dan konsentrasi kalsium yang tinggi mempunyai hubungan linier dengan pertumbuhan dan perkembangan tulang dan gigi.(Aryati, 2014; Shita, 2015)

Ikan teri merupakan sumber kalsium yang murah dan banyak tersedia hampir di seluruh Indonesia. Kalsium pada ikan teri berasal pada bagian tulang yang ikut termakan bersama-sama bagian daging. Seperti halnya pada manusia, kalsium pada ikan juga terakumulasi pada bagian tulang. Karena tulang pada ikan teri relatif kecil dan lunak dibandingkan jenis ikan lainnya maka memungkinkan untuk ikut dikonsumsi. Tubuh memerlukan kalsium untuk membentuk tulang dan gigi, mengatur proses biologis pada tubuh serta manfaat lainnya. Keperluan kalsium terbesar pada masa pertumbuhan dan masih diperlukan lebih lanjut walaupun telah mencapai tahap dewasa, pada proses pembentukan tulang baru dan penghancuran tulang yang telah tua.(Astawan, 2008; Wirakusuma, 2007)

Ikan teri memiliki keunggulan dibandingkan dengan sumber kalsium lain dikarenakan harganya yang ekonomis, mudah didapat dan banyak dikonsumsi oleh masyarakat kalangan menengah ke bawah, ikan teri juga mengandung mineral-mineral pendukung tulang yang dapat mencegah terjadinya pengeroposan tulang. Ikan teri banyak mengandung protein, fosfor dan kalsium. Kandungan kalsiumnya tahan dan tidak mudah larut dalam air. Zat gizi ini sangat diperlukan oleh tubuh untuk proses perbaikan dan membangun jaringan, terutama jaringan tulang dan gigi. Karena bentuk tubuhnya yang kecil sehingga mudah dan praktis dikonsumsi oleh semua umur. menjadikan ikan teri sebagai salah satu ikan favorit karena mulai dari kepala, daging sampai tulangnya dapat langsung dikonsumsi.(Fadhilah, 2013)

Kualitas dan konsentrasi kalsium yang tinggi dalam makanan merupakan faktor penting dalam proses fisiologis pertumbuhan perkembangan jaringan keras tubuh, terutama tulang rahang dan gigi. Kebutuhan nutrisi bergizi tinggi masyarakat, terutama ibu hamil dan balita mempunyai korelasi yang kuat dengan pertumbuhan dan perkembangan tulang pada gigi anak.(Mansur, 2019)

Penelitian ini ingin membuktikan melalui data laboratoris dan klinis tentang pengaruh dari ekstrak ikan teri terhadap regenerasi tulang. Agar ikan teri dapat menjadi sumber gizi alternatif untuk menghasilkan asupan nutrisi dan mineral yang baik, murah dan mudah diperoleh masyarakat luas, yang membantu dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tulang anak sehingga dapat mencegah stunting.

Tabel Sintesa

Tabel 2.1 Penelitian yang memanfaatkan pengaruh ikan teri terhadap mandibula tikus wistar

PENELITI	JUDUL	KESIMPULAN
Rizka Ayu Mei Wulaningtyas, 2012.	Kekuatan impact tulang mandibula tikus wistar jantan yang diberi tambahan ikan teri (<i>Stolephorus sp.</i>)	Pemberian diet tambahan ikan teri dapat meningkatkan kekuatan impact tulang mandibula tikus wistar jantan
Fadhilah R.N., Suhartini, Rahardyan P, 2013.	Perbandingan Pemberian Ikan Teri (<i>Stolephorus sp.</i>) dan Susu Kedelai terhadap Densitas Mandibula Tikus Wistar Jantan	Pemberian ikan teri (<i>Stolephorus sp.</i>) dan susu kedelai dapat meningkatkan densitas tulang mandibula. Akan tetapi dilihat dari hasil pengukuran densitas, ikan teri (<i>Stolephorus sp.</i>) lebih efektif meningkatkan densitas tulang mandibula tikus wistar jantan bila dibandingkan susu kedelai walaupun secara statistik tidak bermakna.
Nevi Yanti, Dina Keumala Sari, Ameta Primasari, Nenni Dwi Aprianti Lubis, dan Ika Astrina Tampubolon. 2018.	Pemanfaatan ikan teri medan dan jamur sebagai suplemen peningkatan densitas tulang mandibula <i>Rattus norvegicus</i> (Studi In Vivo)	Pemberian suplemen ikan teri dan jamur dapat meningkatkan densitas tulang mandibular
Astrina, Ika. 2019.	Pengaruh pemberian ikan teri nasi terhadap jumlah osteosit dan kepadatan tulang alveolar rahang bawah pada tikus wistar putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	Pemberian ikan teri nasi meningkatkan jumlah osteosit dan kepadatan tulang alveolar.
Khoirul Fardah Nasution. 2019	Pengaruh Pemberian Ikan Teri Nasi & Susu Kedelai Terhadap Densitas Tulang Mandibula Tikus Wistar Jantan	Dengan pemberian yang tepat ikan teri nasi dan susu kedelai dapat meningkatkan densitas tulang mandibula tikus wistar.

1.2 Perumusan Masalah

Selama pertumbuhan, kebutuhan mineralisasi tulang sangat tinggi. Rendahnya asupan kalsium mengakibatkan rendahnya mineralisasi matriks deposit tulang baru dan disfungsi osteoblas. Kadar kalsium yang rendah dapat menginduksi peningkatan aktivitas osteoklas sebagai proses homeostatis, sedangkan kadar kalsium yang tinggi dapat menyebabkan peningkatan proliferasi dan diferensiasi osteoblas. Tulang yang sehat dan kuat harus mempunyai massa dan kepadatan yang tinggi. Kepadatan tulang adalah kandungan mineral tulang pada suatu area tulang dengan satuan bentuk gram persentimeter persegi tulang. Kepadatan tulang bergantung dari jumlah kalsium, fosfor, mineral yang terkandung dalam tulang. Adanya ketidakseimbangan antara jumlah kalsium yang diserap dan jumlah kalsium yang dilepas dalam jangka waktu lama, dapat menyebabkan persediaan kalsium di dalam tulang akan menipis yang mengakibatkan

rendahnya massa dan kepadatan tulang. Defisiensi kalsium akan mempengaruhi pertumbuhan linier jika kandungan kalsium dalam tulang kurang dari 50%. Kalsium tidak dapat dihasilkan oleh tubuh, maka penting untuk mengkonsumsi makanan yang mengandung kalsium. (Fadhilah, 2013; Martony, 2020; Myneni and Mezey, 2017)

Ikan teri merupakan sumber kalsium yang murah dan banyak tersedia hampir di seluruh Indonesia. Kalsium pada ikan teri berasal pada bagian tulang yang ikut termakan bersama-sama bagian daging. Seperti halnya pada manusia, kalsium pada ikan juga terakumulasi pada bagian tulang. Karena tulang pada ikan teri relatif kecil dan lunak dibandingkan jenis ikan lainnya maka memungkinkan untuk ikut dikonsumsi.

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak ikan teri (*Stolephorus sp.*) terhadap ekspresi osteoblas dan osteoklas pada tulang mandibula tikus wistar jantan (*Rattus novvergicus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh ekstrak ikan teri (*Stolephorus sp.*) terhadap ekspresi osteoblas dan osteoklas tulang mandibula tikus wistar jantan (*Rattus novvergicus*).

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Melihat perubahan ekspresi osteoblas dan osteoklas tulang mandibula tikus wistar jantan (*Rattus novvergicus*) setelah pemberian ekstrak ikan teri (*Stolephorus sp.*).
- b. Melihat peningkatan ekspresi osteoblas dan penurunan osteoklas pada tulang mandibula tikus wistar jantan (*Rattus novvergicus*) setelah pemberian ekstrak ikan teri (*Stolephorus sp.*).

1.4 Manfaat Penelitian

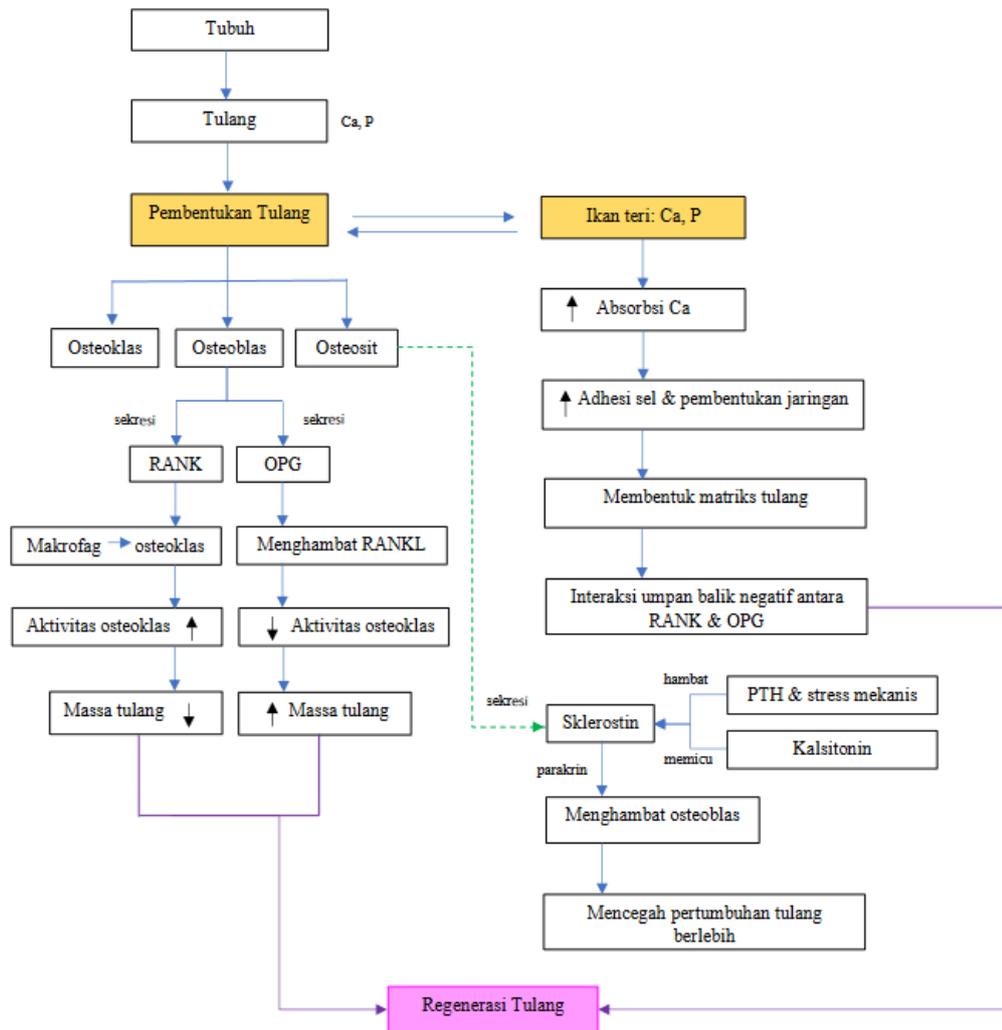
1.4.1 Manfaat Iptek

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai pengaruh pemberian ekstrak ikan teri (*Stolephorus sp.*) sebagai sumber kalsium yang berperan dalam regenerasi tulang mandibula tikus wistar jantan (*Rattus novvergicus*).

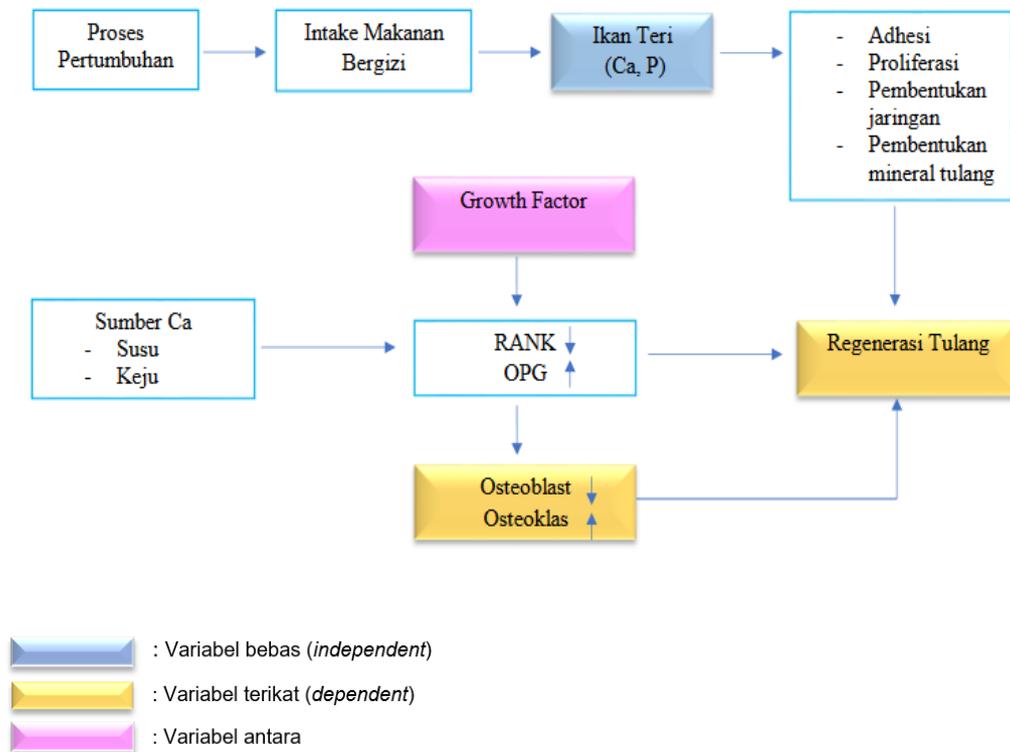
1.4.2 Manfaat Klinis

- a. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi dokter gigi dan dokter gigi spesialis kedokteran gigi anak pada khususnya mengenai pengaruh ekstrak ikan teri (*Stolephorus sp.*) sebagai sumber kalsium yang berperan dalam regenerasi tulang dalam masa tumbuh kembang anak
- b. Diharapkan dapat menjadi alternatif sumber nutrisi kalsium dalam pertumbuhan dan perkembangan tulang dan gigi anak.
- c. Hasil penelitian ini dapat dikembangkan untuk membuat bahan makanan yang membantu pertumbuhan dan perkembangan tulang dan gigi anak.
- d. Hasil penelitian ini dapat menjadi dasar penelitian lanjutan yang berhubungan dengan pemanfaatan sumber daya alam maritim dan pemanfaatan ekstrak ikan teri (*Stolephorus sp.*) dalam pertumbuhan dan perkembangan tulang dan g

1.5 Kerangka Teori



1.6 Kerangka Konsep



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan desain *posttest only control group design*.

2.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

2.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari – April 2024

2.2.2 Lokasi Penelitian

1. Laboratorium Pengujian Kimia, Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkep (pembuatan ekstrak ikan teri)
2. Klinik Hewan "La Coste" Hertasning, Makasssar (pemeliharaan hewan)
3. Laboratorium Patologi Anatomi FK Unhas Makassar (pembuatan dan pewarnaan slide preparat)
4. Laboratorium Biokimia FK Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Malang (penghitungan osteoblas dan osteoklas)

2.3 Populasi dan Sampel Penelitian

2.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah seluruh hewan coba galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang sehat dan beraktivitas normal, jenis kelamin jantan, berat badan 200-300 gr, umur 12-16 minggu. Seluruh hewan coba dipelihara dan diberi pakan dan air minum yang sama. Sebelum digunakan, hewan coba diadaptasikan dengan lingkungan penelitian selama 7 hari sebelum penelitian.

2.3.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang memenuhi kriteria inklusi dan menerima perlakuan pemberian ekstrak ikan teri.

Adapun kriteria inklusi dan eksklusi adalah sebagai berikut:

Kriteria Inklusi

1. Tikus wistar yang telah diperiksa oleh dokter hewan yang dalam keadaan sehat, aktif bergerak, mata jernih, berwarna putih mengkilap dan telah diadaptasikan selama 7 hari minggu.
2. Berat badan 200-300gr
3. Umur 12-16 minggu
4. Jenis kelamin jantan (karena efek hormonal lebih dominan pada wistar betina)

Kriteria eksklusi:

1. Tikus wistar tidak sehat ditandai dengan rambut kusam, rontok dan gerak tidak aktif serta konsumsi pakan tidak lancar
2. BB menurun drastis dibandingkan BB awal

2.3.3 Perhitungan Besar Sampel

Perhitungan besar sampel dalam penelitian ini menggunakan rumus Federer:

$$(n - 1) \times (t - 1) \geq 15$$

Keterangan:

n = jumlah sampel

t = jumlah kelompok penelitian

Cara perhitungan besar sampel:

t = 2 kelompok penelitian

$$(n-1) \times (2 - 1) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 15$$

$$n - 1 \geq 15$$

$$n \geq 15+1$$

$$n \geq 16$$

Kelompok 1: kontrol (tanpa perlakuan/pakan teri biasa)

Kelompok 2: perlakuan (pemberian tambahan ekstrak ikan teri)

2.4 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

2.4.1 Variabel Penelitian

Variabel bebas: ekstrak ikan teri (*Stolephorus sp.*), pakan teri biasa

Variabel terikat: regenerasi tulang

Variable kendali: waktu pengamatan, jenis kelamin, umur, berat badan, cara pemeliharaan, kesehatan dan jenis makanan

Variabel antara: *growth factor* (faktor pertumbuhan)

2.4.2 Definisi Operasional

1. Ekstrak ikan teri (*Stolephorus sp.*) adalah ikan teri yang dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C, selama kurang lebih 6 jam dan dihaluskan menggunakan blender.
2. Jumlah osteoblas dan osteoklas dihitung pada pemeriksaan imunohistokimia menggunakan mikroskop.
3. Waktu pengamatan adalah periode waktu yang digunakan untuk menghitung jumlah osteoblas dan osteoklas.

2.5 Alat dan Bahan

2.5.1 Alat

1. Wadah untuk mencuci ikan teri
2. Oven
3. Blender
4. Toples kaca
5. Scalpel
6. Scalpel holder
7. Handscoen
8. Masker
9. Box plastic
10. Botol minum tikus
11. Tissue
12. Container plastik (tempat sampel)

2.5.2 Bahan

1. Ikan teri
2. Formalin 10%
3. Eter
4. Kapas
5. Pakan standar
6. Sekam

2.6 Prosedur Penelitian

2.6.1 Pembuatan Ekstrak Ikan Teri (*Stolephorus sp.*)

Ekstrak ikan teri diambil dari ikan teri segar dan utuh tidak berbau menyengat, tidak berlendir lalu dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran. Kemudian ikan teri dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C selama kurang lebih 6 jam. Dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk dan disimpan dalam toples yang kedap udara.

2.6.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba tikus wistar jantan yang digunakan merupakan hewan coba jinak dengan perawatan sederhana yang memiliki fungsi metabolisme mirip manusia. Hewan coba dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok 1 sebagai kelompok kontrol dan kelompok 2 sebagai kelompok perlakuan. Kelompok 1 diberi makan pakan standar sebanyak 2 kali sehari (pagi dan sore) dan minum air biasa. Kelompok 2 diberi pakan standar (pagi) dan diberi tambahan ekstrak ikan teri sebanyak 0,00414 gr/BB (0,828 – 1,242 gr/ekor) pada sore hari serta minum air biasa. Perlakuan diberikan setiap hari sampai hari ke-40. Setelah 40 hari, tikus didekaputasi menggunakan eter kemudian diambil tulang mandibulanya dan dimasukkan ke dalam larutan formalin buffer netral 10%. Jumlah sampel dihitung menggunakan rumus Federer, diperoleh estimasi 16 sampel untuk tiap kelompok jadi total ada 32 sampel, dengan 1 ekor wistar cadangan tiap kelompok untuk menghindari kehilangan sampel selama penelitian. Wistar dipelihara dan diadaptasikan pada kandang kotak plastik berukuran 15x30x42 cm² dengan suhu ruang, dan ditutup dengan jaring kawat. Sekam diganti setiap minggu,

2.6.3 Penentuan Dosis Ikan Teri (*Stolephorus Sp.*)

Angka kecukupan konsumsi ikan laut = 46 gr/ hari
 Rata-rata BB manusia yang diambil = 70 kg
 Konversi dosis manusia (70 kg) ke tikus (200 gr) = 0,018
 (Berdasarkan Konversi Perhitungan Dosis *Laurence and Bacharach*, 1964)
 Dosis pada tikus = angka kecukupan ikan laut x 0,018
 = 46 gr x 0,018
 = 0,828 gr/200 gr BB

$$\frac{X}{\text{BB tikus}} = \frac{0,828 \text{ gr}}{200 \text{ gr}}$$

$$X = \frac{0,828 \text{ gr} \times \text{BB tikus}}{200} = \frac{0,00414 \times \text{BB tikus}}{\text{hari}}$$

2.6.4 Pembedahan dan Pengambilan Tulang Mandibula Wistar

Pembedahan dilakukan pada hari ke 40. Sebelum dilakukan dekaputasi dan pengambilan tulang mandibula, dilakukan pembiusan dengan inhalasi eter dengan dosis letal 0,9 ml. wistar yang mati diperiksa dengan cara mengecek tanda vitalnya (pernapasan). Jika pernapasannya tidak terdeteksi, maka kemudian seluruh spesimen tulang mandibula diambil. Tulang mandibula direndam dalam formalin buffer netral 10%.

2.6.5 Persiapan Jaringan Tulang Mandibula Wistar

2.6.5.1 Tahapan Pembuatan Sediaan Tulang Mandibula Wistar

Jaringan tulang yang telah difiksasi dengan larutan formalin buffer 10%, didekalsifikasi dengan HNO₃ 10%. Setelah tulang lunak, direndam dalam air sampai tidak terdapat lagi residu zat kimia.

2.6.5.2 Tahapan Prosesing Jaringan Tulang Mandibula Wistar

Jaringan tulang direndam dalam alkohol 70% (terendam seluruhnya) selama kurang lebih 1jam, kemudian direndam lagi dalam alkohol 80% selama 1, setelah itu direndam lagi dalam alkohol 95-96% juga selama 1 jam. Untuk perendaman dalam alkohol 95-96% dilakukan 3x perendaman dengan lama masing-masing 1 jam tetapi menggunakan cairan alkohol yang berbeda (3x ganti). Jaringan kembali direndam dalam alkohol 100% selama 1 jam dengan 2x perendaman (2x ganti cairan, masing-masing 1 jam). Jaringan direndam lagi dalam larutan *xylol* selama 1 jam (2x ganti cairan, masing-masing selama 1 jam). Kemudian dimasak dalam dalam paraffin selama masing-masing 4 jam (pertama) dan 2 jam (kedua) dengan suhu 58 °C. Diblok paraffin dalam cetakan (wadah jaringan menggunakan embedding kaset). Blok paraffin dimasukkan ke dalam lemari pendingin sampai mengeras. Pemotongan dilakukan dengan mikrotom. Jaringan yang dipotong diletakkan dalam objek glass. Pewarnaan dengan HE (*Hematoxylin Eosin*). Ditutup dengan *deck glass*. Preparat siap diamati di bawah mikroskop.

2.7 Pengumpulan dan Analisis Data

2.7.1. Jenis data: Data Primer

2.7.2. Pengelolaan Data: SPSS 24 untuk Windows 10

2.7.3. Analisis Data:

Independent sample t-test adalah uji yang digunakan untuk menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok pelakuan.

* Terlebih dahulu dilakukan uji *Shapiro-Wilk* untuk melihat data terdistribusi normal dan uji *levene test* untuk melihat homogenitas data sebagai syarat menggunakan uji parametrik (*Independent sample t-test*).

2.7.4. Penyajian Data: dalam bentuk tabel dan gambar

2.8. Alur Penelitian

