

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG ALGA MERAH (*Eucheuma spinosum*) TERHADAP KADAR ALKALI FOSFATASE, FOTO X-RAY SERTA GAMBARAN HISTOLOGI TULANG MENCIT OSTEOPOROSIS

**JUSNIAR PATANDUNG
P062212002**



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

HALAMAN JUDUL

**PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG ALGA MERAH (*Eucheuma spinosum*) TERHADAP KADAR
ALKALI FOSFATASE, FOTO X-RAY SERTA GAMBARAN HISTOLOGI TULANG MENCIT
OSTEOPOROSIS**

JUSNIAR PATANDUNG
Nomor Induk Mahasiswa P062212002



PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024

HALAMAN PENGANTAR

**PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG ALGA MERAH (*Eucheuma spinosum*) TERHADAP KADAR
ALKALI FOSFATASE, FOTO X-RAY SERTA GAMBARAN HISTOLOGI TULANG MENCIT
OSTEOPOROSIS.**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

JUSNIAR PATANDUNG

Nomor Induk Mahasiswa P062212002

Kepada

PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK

SEKOLAH PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG ALGA MERAH (*Eucheuma spinosum*) TERHADAP KADAR ALKALI FOSFATASE, FOTO X-RAY SERTA GAMBARAN HISTOLOGI TULANG MENCIT OSTEOPOROSIS

JUSNIAR PATANDUNG

Nomor Induk Mahasiswa P062212002

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Ilmu Biomedik Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin pada tanggal 22 Januari 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc
NIP. 19770121 200312 2 003

Pembimbing Pendamping

Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D., Sp.Biok (K)
NIP. 19570326 198803 2 001

**Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik**

Prof. dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D. Sp.PD, K-HOM, FIN, JIM
NIP. 19680218 199903 2 002

**Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin**

Prof. dr. Budu, Ph.D. Sp.M(K).M.Med.Ed
NIP. 19861231 199503 1 009

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Jusniar Patandung
NIM : P062212002
Program Studi : Ilmu Biomedik

Menyatakan bahwa, tesis berjudul "Pengaruh pemberian tepung alga merah (*Euचेuma spinosum*) terhadap kadar alkali fosfatase, foto X-ray serta gambaran histologi tulang mencit osteoporosis" adalah benar karya ilmiah saya sendiri dengan arahan dari komisi pembimbing (Dr. dr. Ika Yustisia., M.Sc dan Prof. Dr. Rosdiana Natzir., Ph.D., Sp.Biok (K)). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

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

Makassar, 22 Januari 2024
Penulis



UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim,

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh. Ucapan syukur penulis ucapkan kepada Allah Subhana Wata'ala atas kelancaran penelitian sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul "Pengaruh pemberian tepung alga merah (*Eucheuma spinosum*) terhadap kadar alkali fosfatase, foto X-ray serta gambaran histologi tulang mencit osteoporosis". Penulis menyampaikan terima kasih secara khusus kepada:

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc.** selaku rektor Universitas Hasanuddin atas fasilitas yang diberikan untuk mendukung proses akademik selama pendidikan di Program Magister di Universitas Hasanuddin
2. **Prof. dr. Budu, Ph.D,Sp.M(K), M.MedEd** selaku dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin beserta staf program Pascasarjana yang telah memberikan bantuan dalam proses penyelesaian tesis ini.
3. **Prof. dr. Rahmawati Minhajat., Ph.D,Sp.PD, K-HOM, FINASIM** selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Hasanuddin beserta staf yang telah memberikan bantuan dalam proses penyelesaian tesis ini.
4. **Dr. dr. Ika Yustisia., M.Sc** selaku pembimbing utama yang telah banyak berkontribusi dalam proses penyusunan tesis serta dengan sabar membimbing penulis dari proses perencanaan penulisan hingga selesai.
5. **Prof. dr. Rosdiana Natzir., Ph.D.,Sp.Biok(K)** selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan untuk mendukung jalannya penelitian dan penyusunan tesis ini
6. **dr. Gita Vita Soraya., Ph.D, dr. Lia Hafiyani., M.Pharm,Sc, dan Dr. Sulfahri., S.Si., M.Si** sebagai tim penguji tesis yang banyak memberi masukan dan arahan, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis.
7. Penanggung jawab dan staf **Laboratorium Animal** Universitas Hasanuddin Makassar, penanggung jawab **Laboratorium Biokimia** Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, staf **Rumah Sakit Kedokteran Hewan** Universitas Hasanuddin, staf **Balai Besar Laboratorium Kesehatan** Kota Makassar atas kerjasamanya serta bantuan fasilitas semasa penelitian.
8. Kepada **BIMA Kemdikbudristek** yang telah memberikan bantuan dana selama proses penelitian.
9. Teman-teman seperjuangan prodi Ilmu Biomedik Konsentrasi Biokimia dan Biologi Molekuler, atas bantuan selama proses perkuliahan, penelitian dan penyusunan tesis.

Akhirnya, penghargaan dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua saya tercinta, Ayahanda **Samaruddin**, Ibunda **Intan** serta adik **Lismawati Patandung** atas doa, pengorbanan, banyak cinta dan kasih sayang, kesabaran, serta memberikan dukungan yang luar biasa baik berupa semangat maupun materi selama ini. Akhir kata, perkenankan penulis menyampaikan permohonan maaf yang sebesar-besarnya atas segala kesalahan dan kekhilafan baik yang disengaja maupun tidak disengaja selama proses menjalani pendidikan hingga terselesaikannya tesis ini. Penulis berharap karya akhir ini dapat memberikan manfaat serta pengetahuan di bidang ilmu biomedik di masa yang akan datang. Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Penulis,

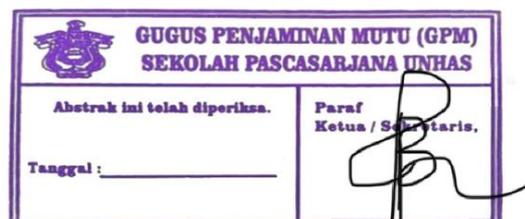
Jusniar Patandung

ABSTRAK

JUSNIAR PATANDUNG. Pengaruh pemberian tepung alga merah (*Eucheuma spinosum*) terhadap kadar alkali fosfatase, foto X-ray serta gambaran histologi tulang mencit osteoporosis (dibimbing oleh Ika Yustisia dan Rosdiana Natzir)

Makroalga merah seperti *Eucheuma spinosum* diketahui memiliki manfaat bagi kesehatan tulang karena senyawa bioaktifnya, termasuk protein, polifenol, polisakarida, vitamin, dan mineral. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi manfaat suplementasi tepung makroalga merah (*Eucheuma spinosum* = ES) pada mencit yang diinduksi osteoporosis. Tiga puluh ekor mencit tua dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol sehat (HC), kelompok kontrol negatif (NC), kelompok kontrol positif (PC), dan kelompok eksperimen (T1 = 1,25 mg, T2 = 2,5 mg, dan T3 = 5 mg per gram berat badan tepung ES yang dilarutkan dalam Na-CMC, masing-masing selama dua puluh hari). Fase induksi osteoporosis dengan deksametason (0,0029 mg/grBB) berlangsung selama 30 hari, dilanjutkan fase pengobatan menurut kelompok selama 20 hari). Kadar alkali fosfatase (ALP) diukur dengan metode kolorimetri sebelum dan sesudah intervensi. Struktur tulang dievaluasi menggunakan gambar x-ray dan pemeriksaan histologis. Kelompok PC, T1, T2, dan T3 menunjukkan penurunan kadar ALP serum yang signifikan ($p \leq 0,01$) dibandingkan kelompok NC yang mengalami peningkatan kadar ALP setelah intervensi. Gambar x-ray menunjukkan bahwa kelompok PC, T1, T2, dan T3 menunjukkan kepadatan tulang radiopak. Untuk histologi tulang pada kelompok PC, T2, dan T3 menunjukkan perbaikan dengan trabekula yang menebal dan utuh, namun kelompok T1 masih terlihat adanya rongga osteoporosis. Jadi, pemberian suplementasi tepung *E. spinosum* berpotensi memperbaiki struktur tulang pada osteoporosis.

Kata Kunci: *Eucheuma spinosum*, makroalga merah, alkali fosfatase, osteoporosis.

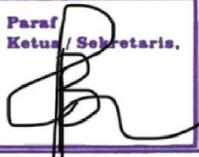


ABSTRACT

JUSNIAR PATANDUNG. *The effect of giving red algae (Eucheuma spinosum) flour on alkaline phosphatase levels, X-ray photos, and histological images of osteoporotic mice bones.* (supervised by Ika Yustisia and Rosdiana Natzir)

Red macroalgae, such as *Eucheuma spinosum*, have been found to have potential benefits for bone health due to their unique bioactive compounds, including proteins, polyphenols, polysaccharides, vitamins, and minerals. This study aimed to evaluate the benefits of powdered red macroalgae (*Eucheuma spinosum* = ES) supplementation in osteoporosis-induced mice. Thirty middle-aged mice were divided into 6 groups: the healthy control group (HC), the negative control group (NC), the positive control group (PC), and the experimental group (T1 = 1.25 mg, T2 = 2.5 mg, and T3 = 5 mg per gram body weight of ES powder dissolved in Na-CMC, respectively for twenty days). The induction phase of osteoporosis with dexamethasone (0.0029 mg/grBW) lasted for 30 days, followed by the treatment phase according to the groups for 20 days). Alkaline phosphatase (ALP) levels were measured by colorimetric methods before and after the intervention. Bone structures were evaluated using x-ray images and histological examination. The PC, T1, T2, and T3 groups showed a significant decrease ($p \leq 0.01$) in serum ALP levels compared to the NC group, which experienced an increase in ALP levels, after the intervention. The x-ray images revealed that the PC, T1, T2, and T3 showed radiopaque bone density. For bone histology, PC, T2, and T3 showed an improvement with thickened and intact trabeculae, but T1 still had visible osteoporosis cavities. *E. spinosum* powder supplementation can potentially improve bone structure in osteoporosis.

Keywords: *Eucheuma spinosum*, red macroalgae, alkaline phosphatase, osteoporosis.

 GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN TESIS.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN.....	xii
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II.....	4
TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Alga Merah (<i>Eucheuma spinosum</i>).....	4
2.1.1 Definisi <i>E. spinosum</i>	4
2.1.2 Kandungan nutrisi.....	4
2.2 Osteoporosis.....	5
2.2.1 Definisi osteoporosis.....	5
2.2.2 Klasifikasi osteoporosis.....	6
2.2.4 Penatalaksanaan osteoporosis.....	6
2.3 Osteoporosis pascamenopause.....	6
2.4 Enzim Alkali Fosfatase (ALP).....	7
2.5 Histologi Tulang.....	7
2.6 Kerangka Teori.....	8
2.7 Kerangka Konsep.....	9
2.8 Hipotesis Penelitian.....	9
BAB III.....	10
METODE PENELITIAN.....	10
3.1 Desain Penelitian.....	10
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	10

3.3	Populasi dan Sampel.....	10
3.4	Alat dan Bahan	11
3.5	Prosedur Perlakuan Alga Merah.....	11
3.6	Prosedur In Vivo.....	12
3.7	Alur Penelitian.....	13
3.8	Analisis statistik.....	14
BAB IV		15
HASIL DAN PEMBAHASAN		15
4.1	Hasil.....	15
4.2	Pembahasan.....	21
BAB V.....		25
KESIMPULAN DAN SARAN		25
5.1	Kesimpulan.....	25
5.2	Saran	25
DAFTAR PUSTAKA.....		26
LAMPIRAN		30

DAFTAR TABEL

1. Tabel 3 1 Parameter dan metode pengujian kandungan alga merah.....	10
2. Tabel 3 2 Kelompok eksperimen.....	11
3. Tabel 4 1 Hasil uji kandungan tepung dan ekstrak etanol alga merah.....	15
4. Tabel 4 2 Deskripsi kadar ALP antar kelompok eksperimen.....	16
5. Tabel 4 3 Keterangan gambar hasil x-ray mencit.....	17
6. Tabel 4 4 Representatif histologi tulang femur mencit setelah intervensi.....	18

DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 2 1 Struktur mikrografi tulang normal dan osteoporosis 5
2. Gambar 4 1Morfologi alga merah (*E. spinosum*) 15
3. Gambar 4 2 Data pengukuran selisih berat badan mencit setelah dan sebelum fase induksi deksametason..... 16

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/Singkatan	Keterangan
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
U/L	Unit Per Liter
ml	Mililiter
mg	Miligram
g	Gram
kg	Kilogram
ppm	<i>Parts Per Million</i>
rpm	<i>Rotation Per Minutes</i>
BB	Bobot Badan
ALP	<i>Alkaline Phosphatase</i>
BALP	<i>Bone Alkaline Phosphatase</i>
NF-B	<i>Necrosis Factor B</i>
MAPK	<i>Mitogen-activated Protein Kinases</i>
RANKL	<i>Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand</i>
BMD	<i>Bone Mineral Density</i>
T	Trabekula
Ob	<i>Osteoblast</i>
Oc	<i>Osteoclast</i>
Os	<i>Osteocyte</i>
Op	<i>Osteoporotic Cavity</i>
GC	<i>Glucocortikoid</i>
ALE	<i>Alendronate</i>
H&E	<i>Hematoxylin & Eosin</i>
KN	Kontrol Normal
KP	Kontrol Positif
KS	Kontrol Sakit
IOF	<i>International Osteoporotic Federation</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Osteoporosis adalah penyakit pada tulang yang ditandai dengan penurunan kepadatan dan kekuatan tulang, kerusakan mikroarsitektur jaringan tulang, serta patah tulang (LeBoff et al. 2022). Osteoporosis dikategorikan menjadi osteoporosis primer dan sekunder. Osteoporosis primer terjadi pada pria dan wanita di atas usia 70 tahun karena penuaan dan kekurangan estrogen. Osteoporosis primer dibedakan menjadi dua tipe yaitu: Tipe 1 disebut osteoporosis *postmenopause* pada wanita akibat penurunan hormon estrogen. Tipe 2 disebut osteoporosis *senile* dan terjadi pada pria usia lanjut (lebih dari 70 tahun) akibat penurunan kalsium. Sedangkan osteoporosis sekunder dapat berasal dari kondisi medis, penggunaan obat-obatan, atau keadaan idiopatik (Salari et al. 2021). Osteoporosis lebih banyak terjadi pada orang lanjut usia dan prevalensinya jauh lebih tinggi pada wanita pascamenopause yang mempengaruhi lebih dari 200 juta wanita di seluruh dunia rentan terhadap patah tulang osteoporosis. (Agostini et al. 2018) (Long et al. 2023) Pada osteoporosis pascamenopause, terjadi penurunan kadar hormon estrogen dan kalsium. Defisiensi estrogen memicu ketidakseimbangan antara pembentukan tulang dan pengeroposan tulang. Osteoporosis lebih banyak terjadi pada orang lanjut usia dan prevalensinya jauh lebih tinggi pada wanita pascamenopause. Kelainan ini mempengaruhi lebih dari 200 juta wanita di seluruh dunia yang menyebabkan peningkatan kerentanan terhadap patah tulang sehingga berdampak pada kualitas hidup penderitanya. (Agostini et al. 2018; Long et al. 2023) Pada osteoporosis pascamenopause, terjadi penurunan kadar hormon estrogen dan kalsium. Defisiensi estrogen memicu ketidakseimbangan dalam remodeling tulang yaitu antara pembentukan tulang dan pengeroposan tulang. Prevalensi di 27 negara Uni Eropa sekitar 21% wanita berusia 50–84 tahun menderita osteoporosis yang mencakup lebih dari 22 juta wanita di negara-negara tersebut. (Kanis et al. 2019) Di Indonesia, prevalensi osteoporosis sebesar 23% pada wanita berusia 50-80 tahun, dan 53% pada wanita berusia 80 tahun keatas. (Pusdatin.2020)

Saat ini, pengobatan lini pertama untuk osteoporosis adalah suplementasi kalsium dan vitamin D, yang merupakan elemen penting untuk menjaga kesehatan tulang. (Liang et al. 2022) Beberapa perawatan lainnya seperti terapi penggantian hormon, bifosfonat, modulator reseptor estrogen selektif, dan teriparatide telah terbukti secara efektif mengurangi risiko patah tulang dan keropos pada pasien osteoporosis. (Jin et al. 2023) Terapi farmakologis osteoporosis dibagi menjadi dua kategori utama yaitu sebagai obat anti-resorptif dan obat anabolik. (Hanley et al. 2012) Obat anti-resorptif diantaranya golongan bifosfonat (alendronate, risendronate, ibandronate), terapi hormonal (estrogen), kalsitonin, denosumab, suplemen kalsium dan vitamin D. Obat anabolik diantaranya teriparatide, romosozumab, natrium fluorida. Obat-obat tersebut memiliki efek samping pemberian jangka panjang meliputi osteonekrosis, gangguan esofagus, hipokalsemia, mual, muntah, diare, penyakit kardiovaskuler, nyeri muskuloskeletal. (Gera et al. 2022; Martiniakova, Babikova, and Omelka 2020) Tantangan didalam penatalaksanaan osteoporosis yang menyebabkan ketidak efektifan terapi farmakologi meliputi efek samping pengobatan, gangguan pencernaan pada pasien yang sudah ada sebelumnya, polifarmasi serta kesangsian pasien terhadap potensi manfaat meminum obat. Oleh karena itu, sebagai alternatif terapi farmakologi, pendekatan rasional dalam pencegahan dan penanganan osteoporosis adalah dengan suplementasi nutrisi fungsional pada kelompok rentan untuk menghambat atau memperbaiki kondisi kerapuhan tulang. (Weaver et al. 2017) Selain itu, kepatuhan yang buruk dan ketekunan yang buruk terhadap pengobatan osteoporosis sering terjadi dan mengakibatkan peningkatan risiko patah tulang, biaya pengobatan yang lebih tinggi, dan terjadi peningkatan rawat inap.

Salah satu bentuk nutrisi fungsional adalah golongan alga. Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan manfaat potensial dari suplementasi alga sebagai *anti-Postmenopausal Osteoporosis* (PMOP). Penelitian mengenai alga merah spesies *Lithothamnion calcareum* menunjukkan dampak positif yang bermanfaat sebagai suplemen makanan untuk pencegahan kehilangan mineral tulang pada tikus betina osteoporosis (Morris et al. and et al. 2015). Studi lain meneliti ekstrak dua spesies alga merah yaitu *Plocamium lyngbyanum* dan *Ceramium secundatum*, menunjukkan potensi osteogenik, baik in vitro maupun in vivo untuk pengobatan osteoporosis dan kondisi muskuloskeletal lainnya (Carson et al. 2018). Studi lain juga menggunakan ekstrak alga coklat jenis *Ishige sinicola*

menunjukkan bahwa ekstrak *I. sinicola* efektif dalam memperbaiki pengurangan *Bone Mineral Density* (BMD) yang disebabkan oleh ovariektomi serta memperbaiki hilangnya struktur tulang trabekuler pada tikus yang mengalami ovariektomi (M. Kim and Park 2022). Studi yang menggunakan senyawa *Phlorofucofuroeckol A* (PFF-A) dari *Brown Algae* menunjukkan peningkatan pembentukan tulang dengan peningkatan proliferasi osteoblas yang diikuti oleh peningkatan aktivitas ALP. Penelitian menunjukkan bahwa pengobatan PFF-A mampu meningkatkan proliferasi osteoblas yang berdiferensiasi, dan PFF-A disarankan untuk menjadi produk alami yang memiliki efek meningkatkan osteoblastogenesis yang dapat digunakan untuk mengobati ketidakseimbangan remodeling tulang. (Oh et al. 2019)

Di Indonesia, alga merah bernama *Eucheuma spinosum* telah dibudidayakan. Kandungan mineral, protein dan vitamin C dari golongan alga berpotensi sebagai nutrisi fungsional penting bagi kesehatan tulang. Studi sebelumnya menunjukkan serbuk alga merah spesies *Gracilaria asiatica* mengandung mineral utama seperti kalsium (6510 ppm), kalium (395000 ppm), magnesium (9180 ppm), dan natrium (37100 ppm). (Korivi et al. 2019) Kadar protein ekstrak alga merah spesies *Gelidium chilense* (20,26% g/100g berat kering. (Ortiz-Viedma et al. 2021) Selanjutnya, kadar vitamin C pada alga merah *Eucheuma cottonii* adalah 15,95 mg/kg dan *Sargassum plagyophyllum* 212,95% mg/kg berat kering. (Twentyna Dolorosa et al. 2017) Peneliti lain juga menemukan bahwa kadar vitamin C dari *Rhodophyta* spesies *Ceramiales* sebesar 0,720 mg g⁻¹. (Nielsen, Rustad, and Holdt 2021). Sehubungan dengan kombinasi nutrisi, seperti protein, vitamin C, kalsium, dan fosfor diketahui dapat menjaga kesehatan tulang. (Dolan and Sale 2019) (Darling, Millward, and Lanham-New 2021)

Tulang memberikan struktur bagi tubuh, melindungi organ, dan menyimpan mineral seperti kalsium dan fosfor. Semua fungsi ini sangat penting untuk pertumbuhan dan stabilitas tulang (Tu et al. 2018). Remodeling tulang adalah proses yang terjadi pada sistem rangka tulang secara fisiologis dimulai dengan resorpsi osteoklas, yang diikuti oleh pembentukan matriks tulang oleh osteoblas (W. Zhang et al. 2022). Massa tulang yang diresorpsi oleh osteoklas diganti dengan massa tulang baru oleh osteoblast untuk memelihara kepadatan tulang (Föger-Samwald et al. 2020). Wanita pascamenopause mengalami osteoporosis karena berkurangnya produksi hormon estrogen, yang mengganggu remodeling tulang (Vallibhakara et al. 2021).

Isoenzim alkali fosfatase yang bertanggung jawab atas remodeling tulang adalah alkali fosfatase (ALP) tulang. Dimana pengukuran ALP tulang telah terbukti menjadi indikator dalam penatalaksanaan osteoporosis pada wanita pramenopause dan pascamenopause. (Kuo and Chen 2017; Takehana et al. 2019) ALP tulang melekat pada membran sel osteoblas, dan hanya sejumlah kecil dilepaskan ke dalam serum. Konsentrasinya dalam serum meningkat jika terjadi peningkatan remodeling tulang. Peningkatan ALP terjadi karena aktivitas osteoblas yang meningkat. Peningkatan dapat membantu menentukan hilangnya kepadatan tulang pada wanita pascamenopause. (Tariq et al. 2019)

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi manfaat suplementasi tepung alga merah (*E. spinosum*) pada mencit model osteoporosis. Penelitian yang memanfaatkan alga merah (*E. spinosum*) sebagai nutrisi fungsional bagi kesehatan tulang masih belum banyak dilakukan. Namun, karena pada studi pendahuluan menunjukkan kandungan kalsium, fosfat, protein dan vitamin C yang tinggi dari alga merah ini maka kandungan tersebut dapat bermanfaat untuk penatalaksanaan osteoporosis.

1.2 Perumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah tepung *E. spinosum* mempengaruhi kadar ALP?
- 1.2.2 Apakah ada efek pemberian tepung *E. spinosum* terhadap struktur tulang mencit model osteoporosis?
- 1.2.3 Apakah ada pengaruh pemberian tepung *E. spinosum* terhadap histologi tulang mencit model osteoporosis?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Tujuan Umum
Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek suplementasi tepung *E. spinosum* pada mencit model osteoporosis.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1.3.2.1 Menganalisis senyawa yang terkandung dalam produk alam *E. spinosum*
- 1.3.2.2 Menganalisis kadar ALP mencit sebelum dan setelah pemberian *E. spinosum*
- 1.3.2.3 Menganalisis struktur tulang mencit dengan foto X-ray
- 1.3.2.4 Menganalisis histologi tulang mencit model osteoporosis.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Diharapkan penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar untuk pengembangan ilmu baru dibidang kesehatan mengenai dampak positif suplementasi tepung alga merah.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan manfaat bagi masyarakat tentang adanya produk alam alga merah yang berkhasiat dalam pengobatan osteoporosis.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Merah (*Euचेuma spinosum*)

2.1.1 Definisi *E. spinosum*

E. spinosum adalah alga merah yang penting secara ekonomi dan tumbuh secara alami di terumbu karang dengan arus cukup kuat di daerah tropis dan sub tropis. Spesies ini merupakan sumber utama iota-karagenan yang dimilikinya, dengan permintaan yang tinggi dalam bidang makanan, farmasi dan manufaktur di industri, oleh karena itu telah dibudidayakan secara luas. (Othman et al. 2019)

Menurut Sri Wahyuni (2016) pada skripsinya bahwa: Klasifikasi alga merah jenis *E. spinosum* adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Filum : *Rhodophyta*
Kelas : *Rhodophyceae*
Famili : *Solieraceae*
Genus : *Euचेuma*
Spesies : *Euचेuma spinosum*

2.1.2 Kandungan nutrisi

Menurut penelitian terdahulu, komposisi kimia *E. spinosum* terdiri dari 3,4% protein, 3,58% lemak, 40,2% karbohidrat, 23,28% abu, 29,72% air, dan 12,59% serat. (Sari et al. 2022) Kalsium (Ca) adalah salah satu mineral yang paling penting bagi makhluk hidup, bertanggung jawab atas pertumbuhan tulang dan gigi serta 1% kalsium dalam darah, menurut komposisi kandungan senyawa *E. spinosum* yang disebutkan di atas, yang berpotensi sebagai terapi pengobatan osteoporosis. (Hayati and Herwana2 2018) Kalsium berperan dalam meningkatkan kesehatan tulang dan meningkatkan kekuatan otot. (Kanis et al. 2019) Asupan protein yang tepat sangat penting untuk tulang karena sepertiga massa tulang terdiri dari protein dan terus mengalami proses perombakan. Dengan demikian, asupan protein yang lebih besar dapat menurunkan risiko patah tulang sebesar 85%. Selama proses remodeling tulang, proteolysis mengeluarkan banyak kolagen, yang tidak dapat digunakan kembali untuk membentuk matrik tulang baru. Risiko patah tulang meningkat jika asupan protein meningkat menjadi 1,0–1,2 g/kgBB/hari, yang meningkatkan kekuatan otot dan meningkatkan kesehatan tulang. (Noprisanti, et al., 2018) Untuk meningkatkan kekuatan otot dan kesehatan tulang, asupan protein harian antara 1,0 dan 1,2 g/kgBB diperlukan. (Kanis et al. 2019) Beberapa efek samping yang merugikan bila mengkonsumsi alga merah dalam dosis yang berlebihan menyebabkan sembelit, gas, dan kembung, hingga pembekuan darah. Suplemen alga merah mengandung vitamin K yang dapat mengganggu obat pengencer darah seperti warfarin, sehingga mengonsumsi dengan dosis berlebihan, dapat menghambat efektivitas obat anti-penggumpalan darah. (Millehan. 2018)

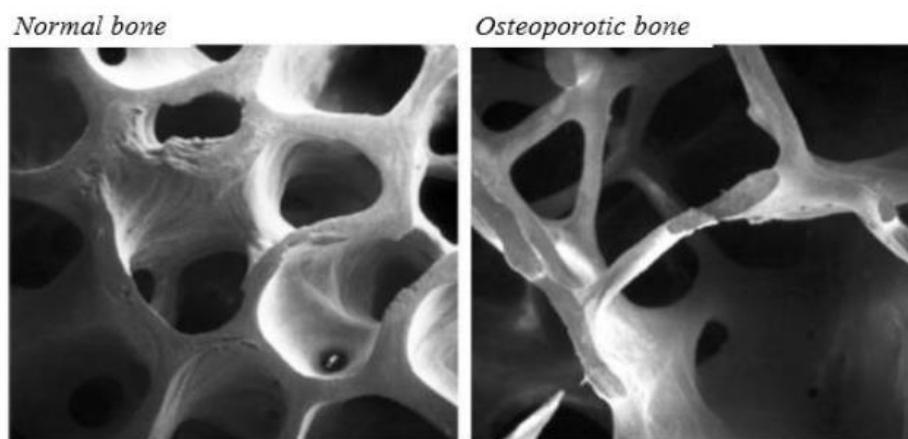
Menurut penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan produk alam untuk mempelajari anti-Postmenopausal Osteoporosis (PMOP). Senyawa *Echinacoside* (Ech) adalah salah satu komponen produk alam yang sangat efektif dalam pencegahan dan pengendalian PMOP. Ech juga dapat mengatur jalur NF-B dan MAPK untuk menghambat *autophagy* dan aktivasi jalur Wnt klasik. Namun, penelitian terdahulu meneliti efek osteogenik ekstrak dari dua spesies alga merah: *Plocamium lyngbyanum* dan *Ceramium secundatum*. Baik in vitro maupun in vivo, kedua ekstrak menunjukkan kemampuan osteogenik untuk mengatasi pertumbuhan tulang. Oleh karena itu, mereka dapat menjadi sumber baru terapi yang tersedia untuk pengobatan osteoporosis dan kondisi muskuloskeletal lainnya. (Carson et al. 2018) Dalam penelitian yang dilakukan dengan ekstrak alga coklat jenis *Ishige sinicola* (M. Kim and Park 2022), ditemukan bahwa ekstrak *I. sinicola* membantu memperbaiki pengurangan *Bone Mineral Density* (BMD) yang disebabkan oleh ovariektomi serta memperbaiki hilangnya struktur tulang trabekuler pada tikus yang mengalami ovariektomi. Studi menggunakan senyawa *Phlorofucofuroeckol A* (PFF-A) yang

berasal dari *Brown Algae* menunjukkan peningkatan pembentukan tulang dengan peningkatan proliferasi osteoblas yang diikuti oleh peningkatan aktivitas ALP. Penelitian menunjukkan bahwa pengobatan PFF-A dapat meningkatkan proliferasi osteoblas yang berdiferensiasi, dan PFF-A disarankan untuk menjadi produk alami dengan efek meningkatkan osteoblastogenesis yang dapat digunakan untuk mengatasi ketidakseimbangan remodeling tulang. (Oh et al. 2019) Meskipun demikian, dalam penelitian mengenai ekstrak rumput laut coklat *Laminaria digitata* dan *Ascophyllum nodosum*, serta *fucoxanthin* murni, menunjukkan sifat yang menghambat reabsorpsi tulang. Namun, senyawa *fucoxanthin* menunjukkan ketidakmampuan untuk memiliki efek pro-osteogenik yang kuat dalam penelitian ini. (Walsh et al. 2019)

2.2 Osteoporosis

2.2.1 Definisi osteoporosis

Osteoporosis adalah penyakit kerangka sistemik yang ditandai dengan gangguan kekuatan tulang, berkurangnya kepadatan mineral tulang (BMD), degenerasi mikroarsitektur, dan peningkatan kerapuhan. (M. Kim and Park 2022) Penurunan massa mineral tulang bersama dengan perubahan struktur mikro tulang, terutama pengurangan jumlah atau penipisan trabekula dengan hilangnya trabekular, penipisan kortikal, dan peningkatan porositas kortikal adalah tanda gangguan kerangka sistemik yang dikenal sebagai osteoporosis (Ferrari & Roux, 2019).



Gambar 2 1 Struktur mikrofografi tulang normal dan osteoporosis (Ferrari & Roux, 2019).

Osteoporosis adalah penyakit metabolisme tulang yang berlangsung lama yang ditandai dengan penurunan *Bone Mineral Density* (BMD) dan kerusakan mikroarsitektur tulang. Ini secara langsung meningkatkan kerapuhan tulang dan meningkatkan risiko patah tulang karena kekurangan asupan kalsium dan vitamin D yang diperlukan untuk mencegah patah tulang. (Jaul and Barron 2017)

Remodeling tulang adalah proses dinamis dan berkelanjutan yang menjaga kesehatan tulang. Proses ini melibatkan tiga fase berturut-turut: resorpsi yang dimediasi osteoklas; pembalikan, di mana osteoblas turunan mesenkim direkrut ke situs tulang resorpsi tulang; dan pembentukan yang dimediasi osteoblas. Oleh karena itu, osteoblas dan osteoklas adalah dua pemain utama dalam remodeling tulang. (W. Zhang et al. 2022)

Manifestasi klinis osteoporosis adalah fraktur kerapuhan, dan sekitar 80% dari semua fraktur berhubungan dengan osteoporosis. Karena fraktur terkait dengan penurunan kualitas hidup dan peningkatan prematur kematian, disabilitas, dan beban keuangan, itu penting untuk mengidentifikasi individu yang berisiko tinggi dan sangat tinggi patah tulang dan untuk memberi mereka pilihan terapi yang memadai. (Brown 2021)

Osteoporosis adalah penyakit tulang yang paling umum dan tidak menular yang menyerang satu dari tiga wanita dan satu dari lima pria di seluruh dunia yang berusia di atas 50 tahun. (Kanis et al. 2019) Lebih dari 200 juta wanita terkena osteoporosis. Persentase pria dan wanita dengan osteoporosis diperkirakan 16,0% dan 29,9% di Amerika Serikat, 6,8% dan 22,5% di Uni Eropa, 6% dan 23% di Australia, dan 6,46% dan 29,13% di Cina. (de Oliveira et al. 2022)

Di Asia, osteoporosis primer terjadi pada pria dan wanita Cina berusia lebih dari 50 tahun sebanyak 22,5% dan wanita berusia lebih dari 50 tahun sebanyak 50,1%. Di Jepang, osteoporosis pada wanita berusia 50 hingga 79 tahun diperkirakan sekitar 35% di tulang belakang dan 9,5% di pinggul. (IOF. 2022)

2.2.2 Klasifikasi osteoporosis

Osteoporosis pada dasarnya adalah gangguan remodeling tulang yang disebabkan oleh kekurangan estrogen/penuaan (osteoporosis primer) atau sekunder untuk penyakit/obat-obatan (osteoporosis sekunder). (W. Zhang et al. 2022) Penyebab osteoporosis dibagi menjadi penyebab primer (osteoporosis pascamenopause dan pikun) dan sekunder (osteoporosis diabetik, osteoporosis yang diinduksi glukokortikoid). Osteoporosis primer terdiri dari dua kategori: Tipe 1 dikenal sebagai *postmenopause osteoporotic* adalah osteoporosis pada wanita yang telah menopause, juga dikenal sebagai osteoporosis pascamenopause. Berkurangnya hormon estrogen menyebabkan tipe ini. Hormon estrogen membantu transportasi kalsium dalam tulang wanita. (Prieharti & Mumpuni . 2017) Perempuan secara alami akan mengalami menopause pada usia 45 hingga 50 tahun. Saat itu, produksi hormon estrogennya menurun secara signifikan. Ini mengakibatkan pengeroposan tulang pada wanita dimulai pada usia lima puluh tahun atau sepuluh tahun lebih cepat daripada pria. (Nurrahmani. 2015) Namun, osteoporosis tipe 2 terjadi pada orang yang lebih tua dari 70 tahun. *Kyphosis* pinggang dan sel-sel perangsang pembentukan vitamin D di daerah yang terkena, yaitu pinggang, bahu, dan tulang kering bagian atas, adalah penyebabnya. (Prieharti & Mumpuni. 2017) Osteoporosis senilis dan pascamenopause dapat terjadi pada wanita, yang membuat risikonya dua kali lipat. (Nurrahmani. 2015)

2.2.3 Diagnosis osteoporosis

Diagnosis osteoporosis terutama ditentukan dengan: **1)** Mengukur *Bone Mineral Density* (BMD) menggunakan *Dual Energy X-ray Absorptiometry* (DXA). Metode DXA menawarkan metode yang aman, non-invasif, dan dapat diandalkan untuk menemukan pasien yang berisiko mengalami fraktur kerapuhan. (Kanis et al. 2019; Tu et al. 2018) **2)** Riwayat medis, pengetahuan tentang riwayat medis sangat penting untuk diagnosis yang akurat dan untuk memperkirakan risiko patah tulang. Penyelidikan anamnesis harus bertujuan untuk menentukan faktor risiko seperti riwayat keluarga osteoporosis atau patah tulang, patah tulang sebelumnya, kebiasaan gizi dan gaya hidup, penggunaan obat-obatan yang memengaruhi metabolisme tulang, tingkat aktivitas fisik, dan hanya pada wanita dubur. (Tarantino et al. 2017) **3)** *peripheral Quantitative Computed Tomography* (pQCT) yang berfokus pada segmen perifer (misalnya, lengan bawah dan tibia) memungkinkan rekonstruksi tiga dimensi tulang trabekular dan memberikan informasi tentang mikroarsitektur tulang. QCT dengan resolusi ruang tinggi (HR-pQCT) adalah metode baru yang bahkan dapat menampilkan struktur mikro tulang trabecular. (Tarantino et al. 2017)

2.2.4 Penatalaksanaan osteoporosis

Terapi farmakologis yang disetujui FDA untuk osteoporosis dibagi menjadi dua kategori utama yaitu sebagai obat anti-resorptif dan obat anabolik. (Hanley et al. 2012) Obat anti-resorptif diantaranya: Golongan bifosfonat (alendronat, ibandronat, risedronat, asam zoledronat), terapi terkait estrogen (ET/HT, estrogen terkonjugasi raloxifene/ bazedoxifene), penghambat ligan RANK (denosumab), dan kalsitonin salmon. Sedangkan obat anabolik diantaranya: analog hormon paratiroid (teriparatide, abaloparatide), dan penghambat sklerostin (romosozumab). (LeBoff et al. 2022; Tu et al. 2018) Terapi non-farmakologis untuk mengelola nyeri persisten, termasuk terapi perilaku kognitif, hipnosis, pelatihan mindfulness, biofeedback, dan manajemen stres. (LeBoff et al. 2022)

2.3 Osteoporosis pascamenopause

Penuaan dan kekurangan estrogen menyebabkan osteoporosis pascamenopause. (W. Zhang et al. 2022) Semua jenis sel tulang dipengaruhi oleh estrogen, termasuk osteoklas, osteoblas, dan osteosit. Kekurangan estrogen menyebabkan pergantian tulang yang lebih banyak dan ketidakseimbangan antara resorpsi tulang dan pembentukan tulang. (Langdahl and Andersen 2018) Osteoporosis pascamenopause juga sering dikaitkan dengan usia dan kekurangan hormon seks.

Kerusakan trabekula tulang yang terus-menerus menyebabkan osteoporosis yang berkaitan dengan usia. Selain itu, keropos tulang meningkat pada wanita pasca-menopause karena penurunan produksi estrogen. Penurunan kadar estrogen menyebabkan percepatan pengeroposan tulang, sehingga meningkatkan risiko osteoporosis dan patah tulang pada wanita. (Ota et al. 2022) *Sex hormone binding globulin* menginaktivasi testosteron dan estrogen juga pada pria saat mereka menua, yang dapat menyebabkan penurunan BMD secara bertahap. (Tu et al. 2018)

2.4 Enzim Alkali Fosfatase (ALP)

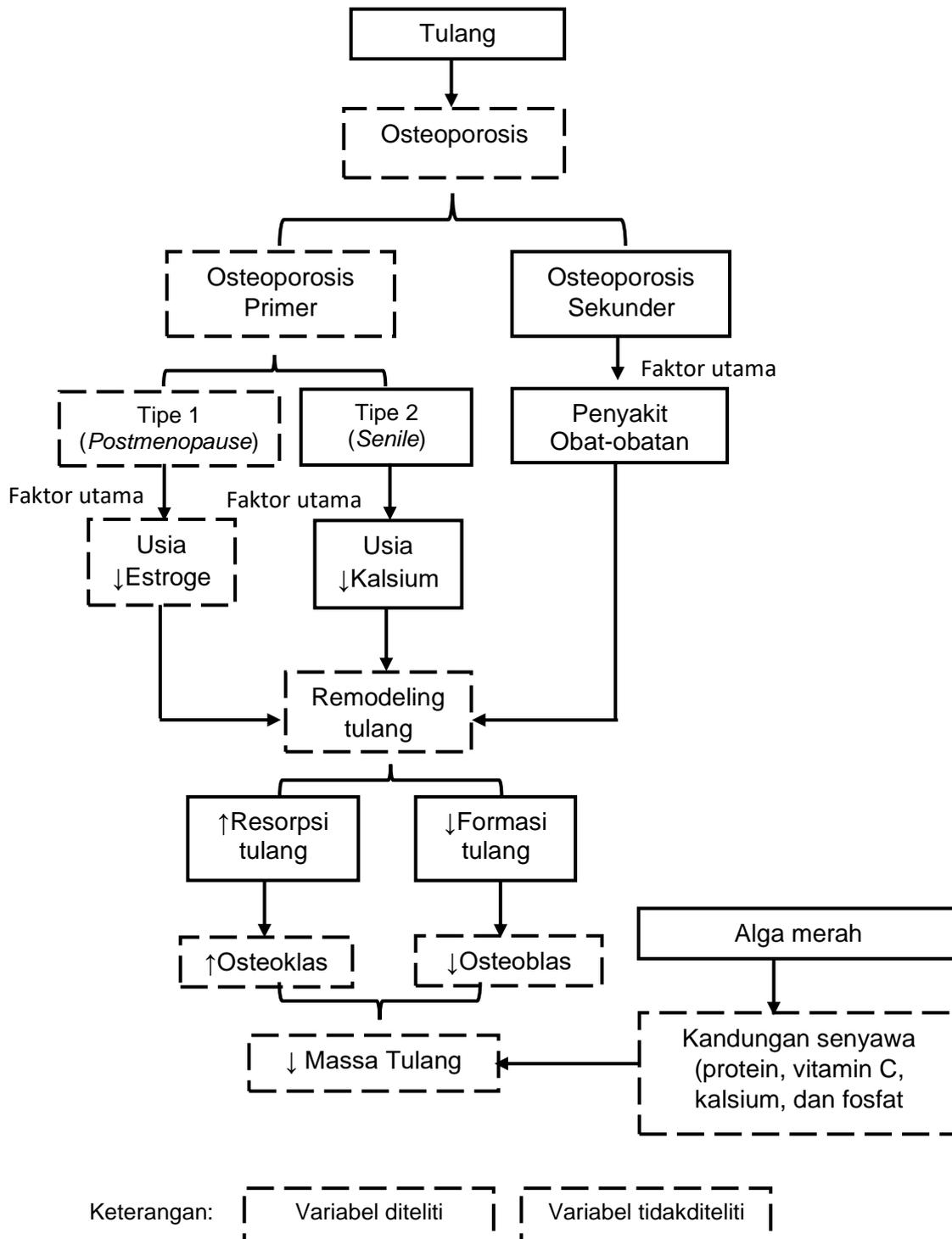
ALP merupakan salah satu biomarker yang banyak digunakan untuk menilai kondisi tulang. (Z. Zhang et al. 2020) Isoenzim alkali fosfatase yang bertanggung jawab atas remodeling tulang adalah alkali fosfatase (ALP) tulang. Dimana pengukuran ALP tulang telah terbukti menjadi indikator dalam penatalaksanaan osteoporosis pada wanita pramenopause dan pascamenopause. (Kuo and Chen 2017; Takehana et al. 2019) ALP tulang melekat pada membran sel osteoblas, dan hanya sejumlah kecil dilepaskan ke dalam serum. Konsentrasinya dalam serum meningkat jika terjadi peningkatan remodeling tulang. Peningkatan ALP terjadi karena aktivitas osteoblas yang meningkat. Peningkatan dapat membantu menentukan hilangnya kepadatan tulang pada wanita pascamenopause. (Tariq et al. 2019)

2.5 Histologi Tulang

Tulang adalah biomaterial yang kompleks dan canggih secara struktural. Tulang harus kaku untuk menahan gaya dan mengakomodasi beban, tetapi fleksibel dan luwes untuk merusak dan menyerap energi. (Hart et al. 2020) Tulang melakukan banyak tugas penting untuk tubuh, termasuk penyimpanan kalsium dan fosfat, penggerak, dukungan, dan perlindungan jaringan lunak, dan penyimpanan sumsum tulang. (Florencio-Silva et al. 2015) Tulang adalah jaringan aktif yang mengalami remodeling terus menerus oleh dua proses yang berbeda, pembentukan tulang dan resorpsi tulang. (Mori et al. 2015) Sel yang berperan penting dalam remodeling tulang diantaranya: **1) Sel Osteoklas (oc)**, sel katabolik bernama osteoklas dapat merusak, melarutkan, dan menyerap bahan tulang. (Hart et al. 2020) Sel osteoklas yang terlibat dalam resorpsi tulang berasal dari sel garis keturunan monosit atau makrofag yang berfusi untuk membentuk sel raksasa multiseluler yang mampu melakukan resorpsi tulang (Da, Tao, and Zhu 2021). *Macrophage Colony Stimulating Factor (M-CSF)* dan *Receptor-Activated Nuclear Ligan B (RANKL)*, yang diekspresikan pada permukaan osteoklas oleh RANK (reseptor RANKL), adalah dua faktor utama yang mendorong pematangan osteoklas. Dalam remodeling tulang, osteoklas berfungsi dalam beberapa fase: **a) Aktivasi dan rekrutmen preosteoklas dan membelahnya menjadi osteoklas, b) Resorpsi matriks termineralisasi oleh osteoklas dewasa melalui pengasaman lingkungan ekstraseluler, c) Pembalikan akhir proses resorpsi, apoptosis osteoklas dan perekrutan preosteoblas, dan d) Pengendapan osteoid oleh osteoblas dewasa dan mineralisasi berikutnya.** *Basic Multicellular Units (BMUs)* didistribusikan ke seluruh kerangka dalam berbagai tahap siklus remodeling, yaitu secara asinkron, dan sebagian besar pembentukan tulang baru terjadi pada permukaan tulang yang telah diresorpsi. (Bordukalo-Nikšić, Kufner, and Vukičević 2022) **2) Sel Osteoblas (Ob)**, osteoblas bersifat anabolik, mensintesis dan mengkalsifikasi kolagen yang baru dibuat untuk membuat sel lapisan tulang, yang terdiri dari matriks ekstraseluler (Hart et al. 2020). Osteoblas adalah sel kuboid yang terletak di permukaan tulang dan membentuk proses mineralisasi matriks tulang melalui sekresi kolagen tipe I dan pelepasan kalsium, magnesium, dan ion fosfat (Florencio-Silva et al. 2015). Sel induk *Mesenchymal (Msc)* menghasilkan osteoblast. Sintesis *Bone Morphogenetic Proteins (BMPs)* dan anggota jalur *Wingless (Wnt)* adalah beberapa tindakan terprogram yang membutuhkan ekspresi gen khusus untuk berkontribusi pada garis keturunan osteopro genitor. (Florencio-Silva et al. 2015) **3) Sel Osteosit**, adalah pusat perkembangan dan pembaharuan tulang. Ini adalah sel yang paling banyak di tulang, menyumbang 90-95% dari total sel tulang, dan adalah sel yang paling banyak. Mereka juga berumur panjang, hidup selama 25 tahun. Berbeda dengan osteoblas dan osteoklas, yang ditentukan oleh peran mereka selama pembentukan dan resorpsi tulang, osteosit lebih awal ditentukan oleh bentuk dan lokasinya. Osteosit memiliki morfologi dendritik di dalam lakuna yang dikelilingi oleh matriks tulang termineralisasi. Jenis tulang menentukan morfologi osteosit tertanam menurut. (Florencio-Silva et al. 2015) Osteosit berasal dari osteoblas yang terbentuk selama osteogenesis dan kemudian terkubur di dalam matriks kolagen termineralisasi. Selama proses pembuatan dan pemodelan tulang,

osteoklas dan osteoblas bekerja secara mandiri, tetapi juga bekerja sama dalam pemeliharaan tulang dan homeostasis (remodeling) melalui *Basic Multicellular Units* (BMU). (Hart et al. 2020)

2.6 Kerangka Teori



2.7 Kerangka Konsep

Berdasarkan uraian yang telah dikemukakan pada tinjauan pustaka, maka dirumuskan suatu kerangka konsep penelitian yang diuraikan secara singkat sebagai berikut:

Variabel Independen	Variabel Dependen	Variabel Kontrol
Tepung <i>E. spinosum</i> (kalsium, fosfat, protein, vitamin C)	Kadar ALP serum mencit Foto X-ray tulang mencit Histologi tulang mencit	Usia mencit Jenis kelamin Berat badan Pakan

2.8 Hipotesis Penelitian

2.8.1 Hipotesis nol (H_0)

- 2.8.1.1 Tidak ada pengaruh pemberian tepung alga merah (*E. spinosum*) pada kadar ALP mencit osteoporosis.
- 2.8.1.2 Tidak ada pengaruh pemberian tepung alga merah (*E. spinosum*) terhadap foto x-ray tulang mencit osteoporosis.
- 2.8.1.3 Tidak ada pengaruh pemberian tepung alga merah (*E. spinosum*) terhadap histologi tulang mencit osteoporosis.

2.8.2 Hipotesis alternatif (H_1)

- 2.8.2.1 Ada pengaruh pemberian tepung alga merah (*E. spinosum*) pada kadar ALP mencit osteoporosis.
- 2.8.2.2 Ada pengaruh pemberian tepung alga merah (*E. spinosum*) terhadap foto x-ray tulang mencit osteoporosis.
- 2.8.2.3 Ada pengaruh pemberian tepung alga merah (*E. spinosum*) terhadap histologi tulang mencit osteoporosis.