

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pertumbuhan merupakan proses fisiologis kompleks yang unik, diatur dengan ketat oleh faktor genetik, hormon dan lingkungan. Pertumbuhan merupakan proses dinamis yang ditandai dengan perubahan somatik pada tinggi badan, proporsi dan komposisi tubuh yang melibatkan hiperplasia sel (peningkatan jumlah sel), hipertrofi (peningkatan ukuran sel) dan apoptosis atau kematian sel yang terprogram (Wei & Gregory, 2009). Pertumbuhan bersifat kuantitatif dan dapat diketahui dengan melakukan pengukuran antropometrik, serta ditandai dengan bertambahnya ukuran fisik dan juga struktur tubuh. Hal yang memperlihatkan adanya pertumbuhan adalah perubahan jumlah dan besar yang dapat dilihat dari pertambahan angka, seperti bertambah besarnya organ, berat, panjang/tinggi badan, lingkaran kepala, dan indikator antropometrik lainnya (Oktiva & Adriani, 2017).

Pada anak, tulang mengalami pertumbuhan dan modeling secara kontinyu. Proses modeling tulang terjadi seumur hidup dan penumpukan massa tulang terbanyak terjadi pada masa pubertas. Sekitar 90% puncak massa tulang (peak bone mass) tercapai sebelum usia 20 tahun. Pencapaian Puncak Massa Tulang (PMT) di masa remaja merupakan faktor prediktor penting terjadinya Osteoporosis saat dewasa. Oleh karena itu waktu optimal untuk melakukan pencegahan Osteoporosis sebaiknya dilakukan pada masa remaja (Kemenkes, 2023).

Pertumbuhan lengkung mandibula dipengaruhi perubahan dimensi panjang, lebar dan kedalaman pada perkembangan oklusi. Perubahan dimensi itu berkaitan dengan erupsi dan pertumbuhan gigi geligi. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan maturasi adalah faktor genetik, kontrol neural, kontrol hormonal, nutrisi, trend selular dan irama sirkadian (Bishara, 2001).

Untuk memenuhi kebutuhan mineralisasi tulang yang meningkat selama periode pertumbuhan, sangat penting untuk mendapatkan asupan kalsium yang cukup. Defisiensi kalsium selama masa pertumbuhan dapat menyebabkan penurunan massa dan kekerasan tulang yang mengakibatkan terjadinya masalah pertumbuhan tulang, termasuk masalah pertumbuhan dentokraniofasial (Dermawan et al., 2018; Peacock, 2010; Sembiring et al., 2020; Zakiah et al., 2017).

Pemilihan jenis makanan sepanjang kehidupan akan menentukan status pertumbuhan dan perkembangan gigi dan tulang. Makanan dengan kualitas dan konsentrasi protein dan kalsium yang tinggi mempunyai hubungan linier terhadap pertumbuhan dan perkembangan tulang dan gigi. (Khurana, 2009). Makanan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat karena dianggap memiliki kandungan mineral kalsium yang baik untuk pertumbuhan antara lain ikan teri dan udang. Selain itu, masyarakat juga banyak yang beranggapan bahwa memberi susu setiap hari bermanfaat bagi anak-anak pada usia pertumbuhan dan dapat memenuhi kebutuhan nutrisi harian khususnya kalsium.

Kemajuan teknologi dewasa ini, memberi inovasi terbaru terkait pengolahan ikan teri dan kulit udang sebagai sumber mineral yang baik untuk pertumbuhan yang mudah ditemui dalam kehidupan sehari-hari. Kalsium ikan teri umumnya tersedia dalam ukuran mikro (μ) dan diduga dalam proses metabolisme tubuh hanya terserap 50% dari total kalsium yang dikonsumsi, demikian juga dengan kitosan dari kulit udang yang memiliki sifat antibakteri dan mempunyai afinitas yang besar terhadap enzim untuk pematangan jaringan dan remodeling tulang (Afaq & Iqbal, 2021), sehingga untuk memudahkan penyerapan, keduanya dapat diproses dalam bentuk nanopartikel yang dikenal dengan nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang yang sangat efisien dalam memasuki sel tubuh karena ukurannya yang super kecil (10-1000 nm) sehingga dapat diabsorpsi dengan cepat dan sempurna. Dalam ukuran nanopartikel, mineral ini dapat langsung terserap oleh tubuh dengan sempurna, hal tersebut lebih efisien dibandingkan yang biasa dikonsumsi masyarakat, serta sangat bermanfaat dalam pemenuhan kalsium dan mineral tubuh yang optimal dan dapat ditambahkan dalam produk makanan. (Arieska et al., 2019).

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa kombinasi nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang sebagai sumber pangan harian berpotensi meningkatkan kepadatan dan pertumbuhan tulang mandibula anak. Penelitian ini juga menggunakan susu sebagai pembanding karena merupakan sumber kalsium yang banyak dikonsumsi anak usia balita dan mudah diperoleh di pasaran. Pemeriksaan kepadatan tulang mandibula tikus wistar jantan dilakukan untuk mengetahui proses penyerapan kalsium oleh tubuh. Pertumbuhan tulang mandibula diperiksa melalui pengukuran panjang lengkung dan berat tulang mandibula tikus wistar jantan.

Belum ada penelitian sebelumnya yang menyelidiki kombinasi nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang terhadap kepadatan dan pertumbuhan tulang mandibula tikus wistar jantan. Diharapkan nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang ini dapat menjadi alternatif pilihan bagi orang tua dalam memenuhi angka kecukupan kalsium bagi pertumbuhan anak selama masa tumbuh kembang secara umum dan pertumbuhan rahang anak secara khusus.

1.2. Teori

1.2.1. Tulang

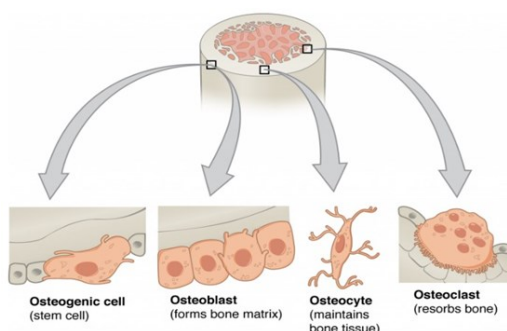
Tulang adalah jaringan ikat keras yang fungsi klasiknya sebagai penggerak, pelindung dan dukungan untuk organ lunak, hemopoiesis darah dan penyimpanan sumsum tulang. Selain itu, tulang memiliki fungsi endokrin yang mampu mempengaruhi organ lain. Tulang adalah jaringan ikat khusus yang terdiri atas matriks tulang dan komponen seluler. Komponen matriks tulang terdiri dari komponen anorganik (69%), dimana 99% mengandung hidroksiapatit, dan komponen organik (22%) yang terdiri dari protein kolagen (90%) dan protein non kolagen seperti proteoglikan, sialoprotein, protein yang mengandung glisarat-2-HS – glikoprotein. Kristal hidroksiapatit, mengandung kalsium dan fosfor sehingga mempengaruhi kekerasan dan kepadatan tulang (Kini and Bn, 2013).

Tulang merupakan bagian terkeras dari tubuh yang menempati kurang lebih seperenam dari berat tubuh dengan dua unsur penyusun utama yaitu kalsium dan fosfat, yang terikat dalam lempengan kristal heksagonal apatit berupa ikatan hidroksi apatit

dengan rumus kimia $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$. Penggabungan hidroksi apatit tulang dengan jaringan kolagen tulang membentuk kekerasan dan kelenturan tulang sehingga kekerasan yang didapat tidak kaku dan rapuh (Hardhani et al., 2014).

Komponen seluler tulang yaitu *osteogenic precursor cell*, osteoblas, osteoklas, osteosit.

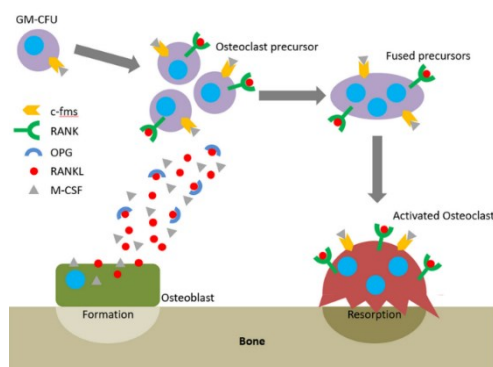
- a. *Osteogenic precursor cell* terdapat pada periosteum dan endosteum. Periosteum merupakan jaringan ikat yang menutupi tulang, yang terdiri atas lapisan luar dan lapisan dalam. Lapisan luar terdiri dari jaringan ikat padat yang iregular sedangkan lapisan dalam disebut juga osteogenic layer terdiri dari sel-sel osteogenic (Kini and Bn, 2013)
- b. Osteoblas merupakan sel tulang yang mensintesis dan menjadi perantara mineralisasi osteoid. Osteoblas berasal dari sel osteoprogenitor mesenchymal stem cells (MSC) dan jaringan ikat lainnya, yang berdiferensiasi dan berkembang menjadi osteoblas sebelum membentuk tulang. Beberapa fungsi dari osteoblas adalah mensintesis kolagen dan non-kolagen dari matriks tulang organik, mengarahkan susunan fibril matriks ekstraseluler, mineralisasi osteoid, memediasi resorpsi osteoblas melalui sintesis sitokin spesifik, dan mensintesis *growth factors*. Osteoblas bertahan selama 1- 10 minggu, memiliki tiga perjalanan perkembangan yaitu osteoblas inaktif menjadi *bone-lining cells*, matriks termineralisasi yang dihasilkan akan mengelilingi osteoblas dan menjadi osteosit, menghilang dari tempat pembentukan tulang sebagai hasil dari apoptosis (Kini and Bn, 2013)
- c. Osteosit merupakan osteoblas dewasa yang terjebak dalam matriks tulang. Setiap osteosit melakukan kontak dengan osteosit lain, sum-sum tulang, lapisan osteoblast, dan pembuluh darah melalui tubular kanalikuli. Osteosit berperan dalam regulasi konsentrasi kalsium dan fosfat ekstraseluler serta dalam reaksi adaptasi terhadap lingkungan lokal. Osteosit didefinisikan sebagai sel yang terletak di dalam matriks tulang, diturunkan dari sel punca mesenkim melalui diferensiasi osteoblas, berkomunikasi secara luas dengan populasi sel tulang lainnya untuk mengatur metabolisme tulang (Kini and Bn, 2013).
- d. Osteoklas (sel pemecah tulang) adalah sel terpenting pada resorpsi tulang yang berasal dari sel induk sumsum tulang (penghasil makrofag-monosit). yang diregulasi oleh mekanisme hormonal dan seluler. Pada proses resorpsi tulang tersebut osteoklas melekat pada permukaan tulang dan melepaskan enzim hidrolitik yang menyebabkan hidrolisis dari matriks tulang dan calcified cartilage. Proses tersebut menghasilkan terbentuknya cekungan pada tulang yang disebut lakuna *Howship*. Osteoklas merupakan sel besar berinti banyak yang berasal dari makrofag hematopoietik dan monocyte stem-cell line, Bila distimulasi sel ini berproliferasi dan bergabung membentuk *large multinucleated osteoclast*, biasanya memiliki 3– 20 nukleus dan sejumlah besar mitokondria, lisosom, dan memproduksi asam fosfatase yang berfungsi untuk melarutkan mineral dalam tulang. (Kini and Bn, 2013).



Gambar 1.1 Sel Tulang

Setiap tulang selalu mengalami perbaikan bentuk selama hidup untuk membantu adaptasi terhadap perubahan kekuatan biomekanik, proses penggantian tulang yang tua dan yang mengalami kerusakan mikro dengan tulang yang baru serta membantu menjaga kekuatan tulang. (Clarke, 2008).

Pembentukan tulang ada di bawah kendali osteoblas. Berikut ini digambarkan suatu proses remodeling tulang dalam suatu proses resorpsi. *Remodeling* tulang adalah proses di mana tulang lama atau yang rusak hilang karena osteoklas dan diganti dengan tulang baru yang dibentuk oleh osteoblas (Blake, 2008).



Gambar 1.2 Proses Remodeling Tulang (Bolamperti et al., 2022)

Remodeling tulang ditujukan untuk mengatur homeostasis kalsium, memperbaiki jaringan yang rusak akibat pergerakan fisik atau kerusakan minor karena faktor stres, dan pembentukan kerangka pada masa pertumbuhan. Kandungan mineral tulang adalah keseimbangan antara pembentuk tulang dan penyerapan tulang. Setiap tulang selalu mengalami perbaikan bentuk selama hidup untuk membantu adaptasi terhadap perubahan kekuatan biomekanik, proses penggantian tulang yang tua dan yang mengalami kerusakan mikro dengan tulang yang baru serta membantu menjaga kekuatan tulang. (Batan et al., 2018).

Di akhir masa kanak-kanak dan dewasa ada pembaruan terus menerus kerangka melalui proses yang disebut renovasi. Baik pemodelan maupun remodeling memerlukan dua proses terpisah yaitu resorpsi tulang dan pembentukan tulang terjadi secara bersamaan agar efektif. Persyaratan ini dikenal sebagai “kopling”.(Khurana, 2009). Pertumbuhan tulang dipercepat selama masa pubertas (masa pertumbuhan) dimana kadar hormon pada masa tersebut melonjak. Oleh karena itu diharapkan pertumbuhan tulang dapat terjadi dengan baik selama masa pertumbuhan. Apabila usia telah lanjut dan telah terjadi menopause maka kadar hormon estrogen menurun sehingga aktifitas osteoblas menjadi berkurang yang mengakibatkan resorpsi tulang meningkat.(Wydra et al., 2023).

Ketidakseimbangan antara resorpsi dan pembentukan tulang pada proses remodeling tulang dapat mengakibatkan kepadatan tulang berkurang sehingga dapat menimbulkan penyakit metabolik tulang. Berkurangnya kepadatan sel tulang dapat diakibatkan oleh berkurangnya jumlah osteosit atau kurangnya kadar mineral, namun keduanya dapat mengakibatkan kerapuhan tulang.(Appelman-Dijkstra & Papapoulos, 2015).

Sifat mekanik tulang sebagai organ (sifat struktural) adalah kekuatan yang dinilai sebagai kemampuan tulang untuk menerima beban. Sifat material tulang tidak terpengaruh oleh ukuran atau bentuk tulang, biasanya dievaluasi dengan menilai kekakuan jaringan mineralisasi (modulus young elastisitas) yang ditentukan oleh mineralisasi matriks serta faktor mikrostruktural lain yang tidak berhubungan dengan mineralisasi, seperti ukuran kristal dan disposisi serat kolagen.(Cointry et al., 2005).

1.2.2. Kalsium Tulang

Kalsium adalah mineral yang paling banyak terdapat dalam tubuh. Sekitar 99% total kalsium dalam tubuh ditemukan dalam jaringan keras terutama dalam bentuk hidroksiapatit, namun hanya sebagian kecil yang terdapat dalam plasma cairan ekstrasvaskuler (Bolland dkk, 2015).

Kalsium merupakan zat gizi penting dalam tumbuh kembang anak. Kalsium merupakan suatu elemen yang berperan dalam pembentukan tulang dalam proses mineralisasi tulang. Ukuran tulang, panjang tulang dan densitas tulang dapat dijadikan sebagai suatu indikator kualitas pertumbuhan dan pembentukan tulang pada balita. Bila mengalami defisiensi atau kekurangan kalsium maka mineralisasi tulang dan gigi akan terganggu dan pertumbuhan tulang akan mengalami penghentian pertumbuhan. (Shertukde et al., 2022).

Dalam tulang, kalsium ada dalam bentuk mineral sebagai hidroksiapatit $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$. Kalsium dalam tulang dapat mempengaruhi kekuatan tulang melalui masa tulang. Jumlah asupan kalsium yang memadai akan menjadi faktor penting untuk perkembangan tulang secara normal selama proses pertumbuhan dan pemeliharaan massa tulang. Kalsium tulang berada dalam keadaan seimbang dengan kalsium plasma pada konsentrasi kurang lebih 2,25 — 2,60 mmol/l (40,5-46,8 mg/dl). (K. Zhu & Prince, 2012).

Metabolisme kalsium dalam tubuh berkaitan erat dengan homeostasis kalsium, yaitu proses dimana tubuh menjaga agar kadar kalsium dalam tubuh tetap seimbang.

Homeostatis memiliki dua proses yaitu resorpsi kalsium dan deposisi kalsium. Resorpsi kalsium adalah proses pelepasan kalsium dan komponen organik lain dari tulang ke sirkulasi yang melibatkan sel osteoklas yang dibutuhkan pada saat kadar kalsium rendah. Deposisi kalsium adalah proses pengendapan kalsium dan komponen organik dari sirkulasi ke tulang yang melibatkan sel osteoblast dan terjadi saat kadar kalsium melebihi nilai normal (Permana, 2012).

Kalsium merupakan mineral makro yang penting untuk proses metabolisme tubuh. Kebutuhan kalsium setiap orang berkisar antara 400-1000 mg/hari. Jumlah kalsium di dalam tubuh manusia sebesar 1,5-2% dari berat badan orang dewasa. Kalsium banyak dibutuhkan pada masa pertumbuhan bayi dan anak. Semakin tua usia manusia, maka semakin banyak kalsium yang dibutuhkan (Kosnayani, 2007).

Kebutuhan kalsium pada manusia bergantung pada laju perkembangan tulang daripada kebutuhan metabolik. Kebutuhan maksimal terjadi selama puncak masa pertumbuhan cepat pada remaja yang mencapai 1200 mg/hari. Keseimbangan kalsium dapat dicapai pada berbagai tingkat asupan kalsium. Hal ini menunjukkan bahwa absorpsi kalsium dapat dikendalikan dengan baik untuk memenuhi kebutuhan tubuh, bahkan pada tingkat asupan kalsium yang rendah keseimbangan kalsium tetap terjaga. Pada remaja, kebutuhan kalsium meningkat dan terdapat keseimbangan positif yang disebabkan oleh peningkatan efisiensi absorpsi dan penurunan jumlah kalsium yang hilang melalui urin. Keseimbangan kalsium diregulasi oleh aktivitas saluran pencernaan (absorpsi), ginjal (ekskresi), tulang (mobilisasi dan deposisi) (Barasi, 2007).

Permasalahan kekurangan kalsium dalam tubuh disebabkan oleh kalsium yang umum ada di masyarakat adalah mikrokalsium, yang ternyata masih belum optimal terabsorpsi oleh tubuh. Jika asupan kalsium dari makanan berkurang, akan mempengaruhi penyerapan kalsium di sehingga kadar kalsium dapat menurun. Jika defisiensi kalsium terjadi secara terus menerus, dapat mengganggu remineralisasi tulang baru dan mengakibatkan gangguan pertumbuhan tulang.(Shlisky et al., 2022).

Beberapa penelitian telah menyepakati bahwa metabolisme tulang dapat dipengaruhi oleh unsur mineral atom didalamnya. Kalsium dan fosfor merupakan dua elemen yang paling tinggi persentasenya. Keduanya merupakan kandungan dari hidroksiapatit sebagai komponen utama tulang.(Tzaphlidou et al., 2006).

Tabel 1.1. Kebutuhan Kalsium berdasarkan Tingkat Usia

No.	Usia	Jumlah Kalsium yang Dibutuhkan
1	0 – 6 bulan	200 mg
2	1 – 3 tahun	650 mg
3	4 – 9 tahun	1000 mg
4	10 – 18 tahun	1200 mg
5	19 – 29 tahun	1100 mg
6	30 – 80 tahun	1000 mg
7	80 + tahun	1000 mg
8	Ibu Hamil	1200 mg
9	Ibu Menyusui	1200 mg

Sumber: Permenkes no. 75 tahun 2013 tentang Angka Kecukupan Gizi yang Dianjurkan bagi Bangsa Indonesia (Kemenkes RI, 2013)

Tersedianya kalsium di dalam tubuh berasal dari beberapa bahan makanan yang dikonsumsi yang menjadi sumbernya. Sumber kalsium terbagi dua, yaitu kalsium alami dan kalsium sintetis. Kalsium alami berasal hewani dan nabati, sedangkan kalsium sintetis berupa suplemen kalsium. Umumnya, kalsium dari sumber-sumber makanan diabsorpsi lebih baik daripada yang berasal dari suplemen. Asupan kalsium yang kurang dari kebutuhan dapat menyebabkan penurunan kepadatan tulang (Chen dkk, 2002 ; Rose dkk, 2011).

Tabel 2.2. Bahan Makanan Sumber Kalsium Tinggi

Bahan Makanan Sumber Hewani	Kandungan Kalsium per 100 mg	Bahan Makanan Sumber Nabati	Kandungan Kalsium per 100 mg
Ikan bandeng presto	1422	Kacang tanah	316
Udang kering	1209	Bayam	267
Ikan teri kering	1200	Sawi	220
Keju	777	Selada air	182
Tepung susu	770	Daun singkong	165
Sarden kaleng	354	Tempe	129
Susu kental manis	300	Tahu	124
Kuning telur bebek	150	Oncom	96
Kuning telur ayam	147	Kacang merah	84
Susu sapi	143	Singkong	77
Udang segar	136	Biskuit	62
Es krim	123	Susu kedelai	50
Yoghurt	120	Jeruk	33
Belut	48	Toge	29
Ikan rebon segar	31	Jambu biji	28
Daging ayam	13	Pepaya	12
Daging sapi	3	Roti	10

Sumber: Tabel Komposisi Pangan Indonesia 2017 (Kemenkes RI, 2017)

1.2.3. Pertumbuhan Tulang Mandibula

Pertumbuhan tulang merupakan proses pertambahan dalam ukuran atau perpanjangan tulang dan mineralisasi pada masa kanak-kanak dan remaja. Massa tulang bertambah dari sekitar 80 gram saat lahir hingga 3000 gram pada puncak tertinggi massa tulang yaitu sekitar umur 25 tahun. (Bayliss et al., 2012).

Massa tulang bertambah 2 kali lipat antara pubertas dan dewasa muda. Puncak pertumbuhan tulang remaja terjadi pada usia 9 - 12 tahun (perempuan) dan 11 - 14 tahun (laki - laki). Sekitar 80 - 85% puncak massa tulang diperoleh pada saat pubertas setelah pertama kali *menarche*. (Sharlin and Edelstein, 2011) Hampir setengahnya diperoleh selama pertumbuhan prepubertas (10 - 12 tahun) dan sebagian lagi pada saat growth spurt di fase pubertas. Sekitar 15 - 20% dari total puncak massa tulang diperoleh setelah fase pubertas hingga akhir puncak massa tulang (Warren and Constantini, 2010).

Mandibula terdiri atas dua bagian yaitu corpus mandibula dan ramus mandibula. Corpus adalah bagian horisontal dibagian anterior, corpus kanan dan kiri bergabung pada garis tengah sehingga membentuk tulang berbentuk huruf "V". Mandibula

merupakan tulang kraniofasial yang sangat penting karena terlibat dalam fungsi-fungsi vital antara lain pengunyahan, pemeliharaan jalan udara, berbicara dan ekspresi wajah. Mandibula menjadi tempat perlekatan otot-otot dan gigi (Rahardjo, 2008).

Saat lahir, mandibula terbagi menjadi dari dua bagian, karena tidak bersatu di garis tengah. Ramus mandibula pendek dan perkembangan kondilar minimal. Pada akhir tahun pertama, kedua bagian bersatu untuk membentuk tulang mandibula tunggal. Mandibula merupakan bagian dari tulang wajah yang menunjukkan pertumbuhan postnatal terbesar dengan tingkat pertumbuhan mengikuti kurva pertumbuhan umum dengan *growth spurts* yang signifikan selama masa pubertas. Pertumbuhan mandibula sebagian besar terjadi karena osifikasi intramembran. Namun, beberapa tulang rawan sekunder, terutama tulang rawan kondilar, mempercepat pertumbuhannya setelah lahir (Phulari, 2017).

Mekanisme pertumbuhan mandibula melalui proses osifikasi endokondral dan aposisi periosteal (osifikasi intramembranous). Sedangkan pola pertumbuhan mandibula ada dua macam. Pola pertama, bagian posterior mandibula dan basis kranium tetap, sementara dagu bergerak ke bawah dan depan. Pola kedua, dagu dan korpus mandibula hanya berubah sedikit sementara pertumbuhan sebagian besar terjadi pada tepi posterior ramus, koronoid dan kondilus mandibula (Bishara, 2001). Dengan pola ini, pertumbuhan mandibula akan mengarah ke bawah dan ke depan. Pertumbuhan panjang ini disebabkan adanya aposisi di sisi posterior ramus dan terjadi resorpsi di sisi anterior ramus, sedangkan untuk pertambahan tinggi korpus mandibula sebagian besar disebabkan adanya pertumbuhan tulang alveolar (Phulari, 2017).

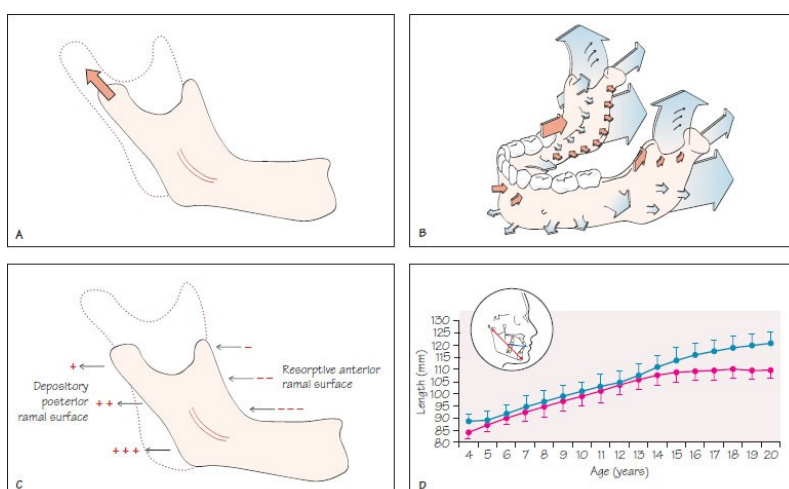
Resorpsi tulang di perbatasan anterior dan deposisi di perbatasan posterior ramus menyumbang pertumbuhan anteroposterior ramus dan korpus mandibula. *Remodeling* ini merubah bekas tulang ramus menjadi bagian posterior korpus mandibula dengan meningkatkan panjang lengkung mandibula untuk mengakomodasi gigi molar permanen yang erupsi. *'Drift'* ramus dalam arah posterior juga menyediakan area untuk insersio peningkatan massa otot mastikasi (Phulari, 2017). Pada usia 4,5 tahun, tinggi ramus telah mencapai sekitar 64% dan 70% dari ukuran dewasa masing-masing untuk laki – laki dan perempuan. Saat mencapai usia 17 tahun, tinggi ramus sekitar 14 mm dan 17 mm untuk perempuan dan laki – laki, masing – masing (Istindiah, 2021).

Remodeling tulang selektif pada angulus mandibula, menyebabkan *flaring* sudut seiring bertambahnya usia. Pada sisi lingual angulus mandibula, resorpsi terjadi pada aspek posteroinferior, sedangkan deposisi terjadi pada aspek anterosuperior. Namun, di sisi bukal, resorpsi terjadi pada aspek anterosuperior, sedangkan deposisi terjadi pada aspek posterosuperior, menyebabkan *flaring* sudut mandibula (Phulari, 2017).

Kondilus menunjukkan pertumbuhan minimum saat lahir. Bagian ini merupakan area utama pertumbuhan mandibula. Pertumbuhan tulang rawan kondilus akan meningkatkan panjang dan tinggi mandibula. Pertumbuhan jaringan lunak, termasuk otot dan jaringan ikat (matriks fungsional) membawa mandibula ke depan dan ke bawah, dengan ekspansi pertumbuhan matriks jaringan lunak yang terkait dengannya. *Remodeling* kondilus bukanlah kekuatan pendorong pertumbuhan, tetapi lebih merupakan perubahan adaptif sekunder akibat perpindahan mandibula oleh matriks fungsional. Setelah mandibula mengalami *displacement*, terjadi pertumbuhan dan *remodeling* kondilus dan seluruh bagian mandibula mengalami pertumbuhan. Prinsip ini yang menjadi dasar untuk

dilakukan modifikasi pertumbuhan mandibula pada perawatan maloklusi klas II dan III skeletal (Phulari, 2017). Selama masa kanak-kanak dan remaja, kondilus menunjukkan pertumbuhan superior dalam jumlah yang jauh lebih besar daripada pertumbuhan posterior. Untuk setiap 1 mm pertumbuhan posterior, ada 8 - 9 mm pertumbuhan superior. Diperkirakan bahwa kondilus perempuan dan laki - laki tumbuh 2 – 2,5 mm dan 2,5 – 3,0 mm/ tahun, masing-masing, selama masa kanak-kanak dan remaja, dengan angka tertinggi terjadi selama remaja (Istindiah, 2021).

Pertumbuhan prosesus koronoid mengikuti prinsip perluasan 'V'. Bagian vertikal melalui ramus – prosesus koronoid menunjukkan pola pertumbuhan karakteristik yang melibatkan deposisi periosteal pada permukaan lingual prosesus koronoid bersama dengan resorpsi permukaan bukal. Bagian basal ramus menunjukkan deposisi pada sisi bukal dengan resorpsi kontralateral dari permukaan lingual. Renovasi ini menyebabkan peningkatan ketinggian prosesus koronoid dengan bagian puncak yang tumbuh lebih jauh (Phulari, 2017).



Gambar 1.3. Pola dan Arah Pertumbuhan Mandibula

Sumber : (<https://pocketdentistry.com/1-craniofacial-growth-and-development-2/2015>)

Pada korpus mandibula, perubahan pertumbuhan terbesar adalah pertumbuhan appositional tulang alveolar yang berhubungan dengan perkembangan dan erupsi gigi. Simfisis, terutama aspek superior, menjadi lebih luas karena adanya drift superior dan posterior dari aspek posteriornya. Panjang korpus saat usia 17 tahun sekitar 18 mm dan 22 mm masing – masing untuk perempuan dan laki – laki, dengan panjang total mandibula sekitar 25 mm dan 30 mm masing masing untuk perempuan dan laki – laki (Istindiah, 2021). Bertambahnya panjang dan lebar korpus mandibula tersebut dapat digunakan untuk tempat tumbuhnya gigi-gigi dalam lengkung yang benar. Dengan demikian, dapat menurunkan tingkat prevalensi kelainan susunan gigi geligi dan pertumbuhan rahang yang disebabkan oleh faktor Disharmoni Dento Maksila (DDM) karena ketidakseimbangan pertumbuhan rahang terhadap gigi geligi, sehingga dapat menurunkan tingkat kerusakan gigi yang disebabkan oleh *gigi crowding*, dan dapat meningkatkan kesehatan gigi dan mulut (Lestari et al., 2010).

Pertumbuhan alveolar terjadi di sekitar benih gigi. Ketika gigi berkembang dan mulai erupsi, prosesus alveolar meningkat dalam ukuran dan tinggi. Pertumbuhan tulang alveolar yang berkelanjutan seiring dengan pertumbuhan gigi yang berkembang meningkatkan ketinggian tubuh mandibula. Prosesus alveolar tumbuh ke atas dan ke luar pada lengkung yang berkembang. Hal ini memungkinkan lengkung gigi untuk mengakomodasi gigi permanen yang lebih besar (Phulari, 2017).

Area dagu tidak berkembang dengan baik saat lahir. Pertumbuhan dagu yang signifikan terjadi pada masa pubertas seiring bertambahnya usia, dan dipengaruhi oleh faktor seksual dan genetik. Daggu menjadi menonjol pada masa pubertas terutama pada pria, dengan *remodeling* tulang selektif. Resorpsi tulang terjadi di daerah alveolar di atas *prominence*, menciptakan kecekungan. Aposisi terjadi pada aspek inferior (Phulari, 2017).

Pertumbuhan lengkung mandibula dipengaruhi perubahan dimensi panjang, lebar dan kedalaman pada perkembangan oklusi. Perubahan dimensi itu berkaitan dengan erupsi dan pertumbuhan gigi geligi. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan maturasi adalah faktor genetik, kontrol neural, kontrol hormonal, nutrisi, trend selular dan irama sirkadian (Bishara, 2001).

1.2.4. Kepadatan Tulang

Mineralisasi tulang adalah proses penempatan kalsium ke dalam tulang. Proses ini sangat penting untuk menjaga kekakuan dan kepadatan tulang. Proses mineralisasi tulang dimediasi 2 komponen, yaitu vesikel matriks dan kolagen template. Proses mineralisasi tulang juga dimediasi kolagen, dimana terdapat lubang 40 nm dalam fibril kolagen yang memungkinkan akumulasi Ca^{2+} dan Pi , mengendap dan membentuk kristal hidroksiapatit. Struktur dan perakitan serat kolagen kemudian menentukan pertumbuhan kristal hidroksiapatit yang akan membentuk matriks tulang mineralisasi (Bourne et al., 2021).

Massa tulang adalah berat tulang per unit volume eksternal. Massa tulang pada bagian tertentu dari kerangka secara langsung bergantung pada volume, ukuran dan kepadatan jaringan mineral yang terkandung dalam amplop periosteal. Sekitar 50 – 70% dari kadar tulang adalah mineral terutama hidroksiapatit. Massa tulang berkaitan dengan kepadatan tulang atau kepadatan mineral tulang (*Bone Mineral Density/ BMD*) (Khwanchuea, 2014).

Kepadatan tulang (*bone density*) akan terus meningkat dan puncak kepadatan masa tulang (*peak bone density*) biasanya berakhir pada usia sekitar 30 tahun. (Kretchmer, 1997). Kepadatan tulang adalah kandungan mineral tulang pada suatu area tulang dengan satuan bentuk gram persentimeter persegi tulang (Prasetyastuti, 2010).

Banyak faktor yang berperan terhadap kepadatan tulang. Homeostasis mineral tulang, termasuk pengaturan kadar kalsium dalam darah yang melibatkan asupan kalsium, hormon paratiroid dan vitamin D, mempengaruhi remodeling tulang dan berdampak pada kepadatan tulang. Asupan kalsium yang rendah menyebabkan penurunan kadar kalsium dalam darah akan memicu sekresi hormon paratiroid sehingga

mengakibatkan peningkatan resorpsi tulang yang menjadi salah satu faktor risiko terjadinya osteoporosis. (Santoro & Randolph, 2011).

Ketidakseimbangan antara resorpsi dan pembentukan tulang pada proses remodelling tulang adalah konsekuensi dari ketidakseimbangan antara aktivitas relatif osteoblas dan osteoklas. Hasilnya adalah berkurangnya kepadatan tulang dan berkurangnya kebutuhan metabolisme. Sebagai hasil dari peningkatan aktivitas osteoklas, ada pengurangan kekuatan tulang yang tidak proporsional untuk kehilangan relatif tulang massa, dikombinasikan dengan pembentukan penambah stres di dalam matriks trabekular, hal ini meningkatkan risiko patah tulang osteoporosis. Penurunan aktivitas osteoblastik secara merata akan berkontribusi terhadap penurunan kadar osteocalcin (penanda aktivitas osteoblas). (Shertukde et al., 2022).

Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa asupan kalsium berhubungan dengan kepadatan tulang disertai korelasi positif yang kuat antara jumlah asupan kalsium dan kepadatan tulang. (Jackson RD, LaCroix AZ, 2006). Hasil penelitian lain memperlihatkan bahwa konsumsi susu bersama 250 mg kalsium selama 18 bulan menghambat penurunan kepadatan tulang yang lebih tinggi daripada konsumsi susu kedelai. Hasil pengukuran kepadatan tulang didapatkan lebih tinggi pada panggul dan leher mandibula perempuan pasca menopause di Cina. (Gui JC, Brasie JR, 2012)

Menurut Faibish et al. (2006) kekuatan tulang meningkat sebanding dengan kandungan mineral yang ditemukan. Penelitian oleh Tangalayuk et al (2015) bahwa asupan kalsium dan fosfor dalam tepung tempe rendah lemak ikut berperan mempertahankan kadar kalsium dan fosfor dalam tulang, terutama pada hewan muda atau sedang dalam masa pertumbuhan. Peningkatan kadar kalsium dan fosfor tulang pada tikus perlakuan yang diberi ekstrak tempe sangat menguntungkan untuk pertumbuhan dan kekuatan tulang.

Rendahnya kepadatan tulang mengakibatkan terjadinya osteopenia dan osteoporosis. Osteopenia yaitu berkurangnya kepadatan tulang, merupakan peringatan awal pada kelompok dewasa atau sebelum memasuki usia 35 tahun. Osteopenia merupakan prediktor awal terjadinya osteoporosis. Osteoporosis adalah suatu kondisi berkurangnya massa tulang dan gangguan struktur tulang (perubahan mikroarsitektur jaringan tulang) sehingga menyebabkan tulang mudah patah (Hirschfeld et al., 2017).

1.2.5. Nanoklasium Ikan Teri

Ikan teri banyak dijumpai di perairan Indonesia, khususnya Sulawesi Selatan, terutama di Luwu, Luwu Utara, Palopo, Bone dan Sinjai. Data Biro Pusat Statistik Propinsi Sulawesi Selatan menyebutkan rata — rata produksi ikan teri di wilayah Sulawesi Selatan selama tahun 2018 — 2021 sebesar 2.809 ton. Angka ini menunjukkan bahwa Sulawesi Selatan memiliki potensi laut yang besar berupa ikan teri, yang merupakan sumber kalsium harian yang baik bagi anak-anak pada masa tumbuh kembang. (BPS Sulawesi Selatan, 2022).

Ada beberapa jenis ikan teri yang terdapat di Indonesia antara lain *Stolephorus* dan *Heterolobus*, *S. insularis*, *S. tri*, *S. baganensis*, *S. zolingeri*, *S. commersonii* dan *S. Indicus* (Rauf et al., 2019).



Gambar 1.4 Ikan Teri (*Stolephorus sp.*)

Taksonomi Ikan Teri. Menurut Dharmayanti (2014), klasifikasi ikan teri (*Stolephorus sp.*) adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Sub-filum i	: Vertebrata
Kelas i	: Pisces
Sub-kelas	: Teleostei
Ordo	: Malacopterygii
Famili	: Clupeidae
Genus	: <i>Stolephorus</i>
Spesies	: <i>Stolephorus sp.</i> (Aryati and Dharmayanti, 2014)

Ikan teri merupakan makanan berkualitas tinggi karena seluruh bagian tubuhnya dapat dikonsumsi. Tulang ikan teri banyak mengandung protein dan kalsium. Tiap 100 gram teri segar mengandung energi 77 kkal; protein 16 gr; lemak 1,0 gr; kalsium 500 mg; fosfor 500 mg; besi 1,0 mg; Vit. A 47 mg; dan Vit. B 0,1 mg. (Aryati & Dharmayanti, 2014)

Permasalahan kekurangan kalsium dalam tubuh disebabkan oleh kalsium yang umum ada di masyarakat adalah mikrokalsium, yang masih belum optimal terabsorpsi oleh tubuh, akibatnya dapat menimbulkan defisiensi kalsium yang berdampak pada berbagai keluhan pada tulang, gigi, darah, syaraf, dan metabolisme tubuh (Tongchan et al., 2009).

Kalsium umumnya tersedia dalam ukuran mikro (μ), yang diduga dalam proses metabolisme tubuh hanya terserap 50% dari total kalsium yang dikonsumsi (Guyton, 1987). Diperlukan teknologi terbaru untuk mengubah kalsium dalam ukuran nanopartikel. Teknologi nano menjadi salah satu alternatif untuk meningkatkan penyerapan kalsium secara maksimal dengan membentuk nanokalsium, kalsium dengan ukuran yang sangat kecil (10- 1000 nm). Nanokalsium dapat langsung terserap oleh tubuh dengan sempurna, hal tersebut lebih efisien dibandingkan dengan kalsium yang biasa dikonsumsi masyarakat, serta sangat bermanfaat dalam pemenuhan kalsium tubuh yang optimal dan dapat dikonsumsi untuk segala usia (Suptijah 2009).

Nanokalsium yang potensial digunakan dan mudah ditemui dalam kehidupan sehari-hari dapat berasal dari ikan teri (*stolephorus sp.*) memiliki keunggulan dibandingkan dengan bahan makanan lain. Dari komposisi gizi, ikan teri memiliki kandungan kalsium tinggi. Dari segi ekonomi, ikan teri merupakan bahan pangan yang tergolong murah, mudah diperoleh dan melimpah di perairan Indonesia. (Ramadhan et al., 2019).



Gambar 1.5 Nanokalsium Ikan Teri (*Stolephorus sp.*)

Nanokalsium merupakan mineral predigestif yang sangat efisien dalam memasuki sel tubuh karena ukurannya yang super kecil (nanometer) sehingga dapat diabsorpsi dengan cepat dan sempurna. Nanokalsium memiliki bioavailabilitas yang lebih tinggi dibandingkan kalsium yang berukuran makro, sehingga nanokalsium yang terbuang melalui urin lebih rendah. Menurut peneliti terdahulu aplikasi teknologi nano dalam bahan pangan meliputi peningkatan rasa, warna, flavour, tekstur, dan konsistensi produk pangan, serta meningkatkan penyerapan bioavailabilitas nutrisi dan senyawa bioaktif. Nanokalsium dapat ditambahkan dalam produk makanan. (Arieska et al., 2019).

1.2.6. Nanokitosan Kulit Udang

Udang merupakan salah satu komoditas perikanan andalan Indonesia yang sangat potensial untuk diekspor. Indonesia menjadi salah satu dari 5 penghasil udang terbesar di dunia. Sulawesi Selatan merupakan provinsi ke 7 penghasil udang terbanyak di Indonesia. Berdasarkan data komoditi unggulan Sulawesi Selatan dari Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Sulawesi Selatan tahun 2013-2016, udang vannamei menempati urutan pertama sebagai komoditi unggulan udang di Sulawesi Selatan. (Dinas Kelautan Dan Perikanan Provinsi Sulawesi Selatan)



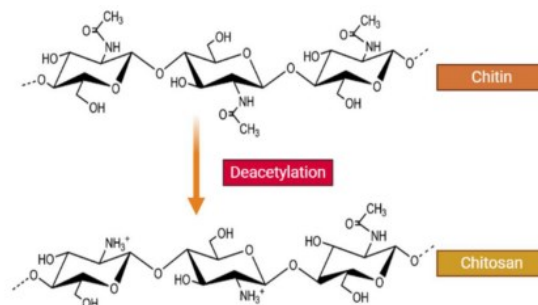
Gambar 1.6 Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*.)

Klasifikasi dari udang putih atau udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Arthropoda</i>
Kelas	: <i>Crustacea</i>
Ordo	: <i>Decapoda</i>
Famili	: <i>Penaeidae</i>
Genus	: <i>Litopenaeus</i>
Spesies	: <i>Litopenaeus vannamei</i> (Galil et al. (2011))

Kitosan merupakan senyawa golongan polisakarida yang dihasilkan dari limbah hasil laut, khususnya golongan crustacea seperti udang, kepiting, kerang dan ketam. Kitosan adalah produk terpenting dari kitin, yang merupakan material yang berasal dari arthropoda dan juga ditemukan pada dinding sel jamur. Kitin juga banyak ditemukan pada cangkang crustacea laut (khususnya kepiting dan udang). (Agrawal, 2023).

Kitosan merupakan senyawa golongan polisakarida yang dihasilkan dari limbah hasil laut, khususnya golongan crustacea seperti udang, kepiting, kerang dan ketam. Limbah kulit udang mengandung 3 komponen utama yaitu protein (25-40%), kalsium karbonat (45-50%), dan kitin (15-20%). Kitin inilah yang akan diproses menjadi kitosan. (Chou et al., 2003)



Gambar 1.7 Struktur kimia kitin dan kitosan. (Boroumand, 2021)

Nanokitosan merupakan polisakarida dengan berat molekul besar yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4 glikosida dan tersusun atas N-asetil- glukosamin dan glukosamin. Struktur kitosan memiliki gugus -OH dan -NH₂ yang dapat menghasilkan ikatan hidrogen intra dan intermolekul sehingga menyebabkan kitosan tidak larut dalam air. Nano kitosan mempunyai beberapa keuntungan yaitu mudah didapat, prosedur isolasinya mudah, tidak beracun dan tidak membahayakan. Nano kitosan memiliki sifat yang menguntungkan antara lain *hydrophilicity*, *biocompatibility*, *biodegradability*, sifat anti bakteri dan mempunyai afinitas yang besar terhadap enzim. (Afaq & Iqbal, 2021).

Beberapa penelitian, diketahui bahwa kitosan mempercepat migrasi sel dan membantu pematangan jaringan. Kitosan mempengaruhi diferensiasi sel osteogenik dan memiliki efek penyembuhan yang cepat bagi jaringan serta berpengaruh pada remodeling tulang (Sularsih & Soeprijanto, 2012).

Secara *invivo*, penelitian menunjukan bahwa implan membran kitosan pada kranial kucing mampu menstimulasi atau memberikan efek pada sel stroma disekeliling jaringan. Kitosan juga digunakan *carrier growth factors* untuk meningkatkan pembentukan tulang pada calvaria tikus. Pada penelitian ini, pengaruh antiosteoporosis dari kitosan diberikan secara oral (personde). Penelitian pada tikus post ovariectomy yang diberikan kitosan dengan dosis tunggal 45 mg/BBtikus/hari membuktikan terjadinya penurunan jumlah osteoklas dan peningkatan jumlah osteoblas. (Honarkar & Barikani, 2009).



Gambar 1.8 Nanokitosan Kulit Udang

Jang dan Lee melaporkan bahwa ukuran partikel dalam skala nano menjadi penting dalam peningkatan penghantar nutrisi seperti vitamin C, mempunyai aktivitas antibakteri terhadap berbagai macam mikroorganisme (Qi et al., 2004).

Nano kitosan berbentuk kristal hidroksiapatit yang merupakan 70% dari seluruh komponen regenerasi tulang, banyak mengandung mineral kalsium, magnesium, fosfor sebagai rangsangan pembentukan jaringan baru setelah terjadinya kerusakan pada jaringan lunak maupun keras seperti jaringan mukosa dan jaringan tulang. Regenerasi jaringan keras, tidak terlepas dari peranan osteoblas, osteoklas, trombosit, makrofag, stimulating faktor, IL-1, IL-6, TNF dan *growth factor*. (Lunquerira 1992).

Berikut ini adalah beberapa penelitian mengenai pengaruh pemanfaatan nano kalsium ikan teri maupun nanokalsium kulit udang terhadap pertumbuhan tulang dilihat dari berbagai jenis parameter:

PENULIS	JUDUL ARTIKEL	KESIMPULAN
(Zhu et al., 2020)	Pengaruh pemberian biomaterial berskala nano/mikro pada regenerasi tulang	Biomaterial berskala nano/mikro memiliki penetrasi lebih dalam dan meningkatkan pertumbuhan, proliferasi, diferensiasi osteogenik, mineralisasi pada pembentukan tulang.
(Yordan et al., 2018)	Analisis <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) Mikroarsitektur Daerah Metafisis Os Femur Tikus Putih (<i>Rattus Novergicus</i>) Ovariohisterektomi dengan Pemberian Madu Lebah (<i>Apis Dorsata</i>) Hutan Sumbawa	Pemberian madu lebah (<i>apis dorsata</i>) dapat mencegah penurunan kepadatan tulang femur yang dilihat dengan menggunakan <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)
(Titin Widy, 2018)	Regenerasi Tulang Femur Kelinci (<i>Lepus Negricollis</i>) Melalui Penggunaan <i>Bone Graft</i> Nano-Hidroksiapatit/Kitosan/ <i>Carboxymethyl Cellulose</i>	<i>Bone Graft</i> Nano-Hidroksiapatit/Kitosan/ <i>Carboxymethyl Cellulose</i> memenuhi syarat dan dapat digunakan untuk aplikasi pada jaringan untuk regenerasi tulang.
(Rahmitasari et al., 2022)	Kitosan Ayam Sebagai Scaffold Melalui Proliferasi Sel Limfosit dalam Proses Regenerasi Tulang	Kitosan ayam yang digunakan sebagai perancah dapat meningkatkan proses regenerasi tulang melalui peningkatan proliferasi sel limfosit
(Tutik Iusya, 2013)	Pemberian Kalsium Nano $Ca_3(PO_4)_2$ Terhadap Efektivitas Penyerapan Kalsium Tulang Hewan Model Tikus Putih (<i>Rattus Novergicus</i>)	Pemberian kalsium nano, secara kualitatif tulang bagian luar terkrystalisasi lebih baik hasil analisis menggunakan <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM).

(Yanti et al., 2018)	Pemanfaatan Ikan Teri Medan dan Jamur sebagai Suplemen Peningkatan Densitas Tulang Mandibula <i>Rattus Norvegicus</i> (Studi <i>In Vivo</i>)	Pemberian suplemen ikan teri dan jamur dapat meningkatkan densitas tulang mandibular
(Astrina, 2019)	Pengaruh Pemberian Ikan Teri Nasi Terhadap Jumlah Osteosit dan Kepadatan Tulang Alveolar Rahang Bawah pada Tikus Wistar Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	Ada pengaruh ikan teri nasi terhadap jumlah osteosit tulang alveolar rahang bawah tikus Wistar jantan putih (<i>Rattus norvegicus</i>). Jumlah osteosit kelompok tikus Wistar jantan putih yang diberi tambahan makan ikan teri nasi lebih tinggi secara signifikan daripada tikus yang hanya diberi pakan standar Ada pengaruh ikan teri nasi terhadap kepadatan tulang alveolar rahang bawah tikus Wistar jantan putih (<i>Rattus norvegicus</i>). Kepadatan tulang alveolar tikus pada kelompok ikan teri nasi lebih tinggi namun tidak signifikan.
(Mulyaningsih et al, 2018)	Analysis of Nano Ca ₃ (PO ₄) ₂ on Bone's Calcium Deficiency at Peak Age	Pemberian diet Ca ₃ (PO ₄) ₂ yang dimurnikan dalam ukuran nano memberikan serapan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ukuran biasa, sehingga menunjukkan bahwa pemberian nano Ca ₃ (PO ₄) ₂ pada tikus yang dicurigai berada pada masa puncak massa tulang yang mengalami defisiensi kalsium berpotensi mencegah terjadinya osteoporosis.

Kebaruan dari penelitian ini karena belum ada penelitian di Indonesia yang menyelidiki potensi kombinasi nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang terhadap kepadatan dan pertumbuhan tulang mandibula anak. Tulang manusia dapat disamakan dengan tulang tikus karena secara biologis sangat mirip, yaitu dalam hal anatomi, fisiologi, dan genetika.

Penelitian ini juga menggunakan susu pabrikan merk *HL* sebagai pembanding karena susu merupakan sumber kalsium yang banyak dikonsumsi anak usia balita dan mudah diperoleh di pasaran.

Tikus wistar jantan dipilih sebagai hewan coba karena tidak memiliki kantung empedu, yang menghalangi mereka untuk memuntahkan kembali apa yang mereka makan. Makanan yang dibutuhkan tikus untuk pertumbuhan hampir sama dengan yang dibutuhkan manusia, termasuk karbohidrat, minyak, lemak, protein, mineral, dan vitamin. Tikus jantan memiliki metabolisme yang lebih cepat, yang memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak terpengaruh oleh siklus menstruasi dan kehamilan. (Modlinska & Pisula, 2020)

1.3. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah pemberian kombinasi nanokalsium ikan teri (*stolephorus sp.*) dan nanokitosan kulit udang (*litopenaeus vannamei*) berpotensi meningkatkan kepadatan tulang mandibula tikus wistar jantan (*rattus novergicus*)?
2. Apakah pemberian kombinasi nanokalsium ikan teri (*stolephorus sp.*) dan nanokitosan kulit udang (*litopenaeus vannamei*) berpotensi meningkatkan pertumbuhan tulang mandibula tikus wistar jantan (*rattus novergicus*)?

1.4. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi nanokalsium ikan teri (*stolephorus sp.*) dan nanokitosan kulit udang (*litopenaeus vannamei*) terhadap kepadatan tulang dengan menilai ukuran mineral hidroksiapatit pada tulang mandibula tikus wistar jantan (*rattus novergicus*).
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi nanokalsium ikan teri (*stolephorus sp.*) dan nanokitosan kulit udang (*litopenaeus vannamei*) terhadap pertumbuhan tulang mandibula dengan menilai panjang dan berat tulang mandibula tikus wistar jantan (*rattus novergicus*).

1.5. Manfaat Penelitian

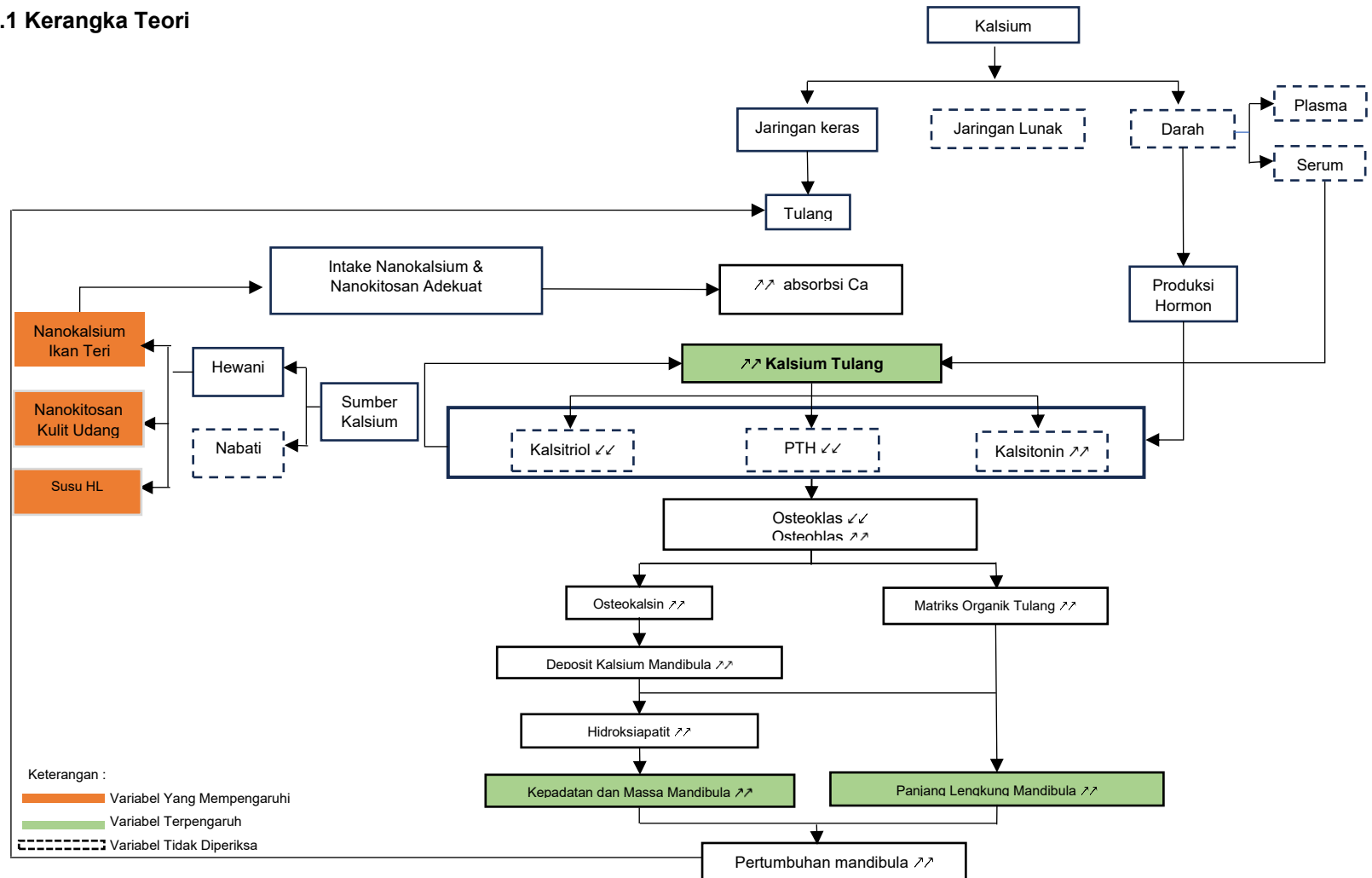
1. Penelitian ini memberikan kontribusi keilmuan bahwa ikan teri (*stolephorus sp.*) dan kulit udang (*litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu sumber pangan tinggi kalsium yang memiliki potensi dapat meningkatkan regenerasi tulang mandibula pada anak masa tumbuh kembang.
2. Penelitian ini memberikan gambaran untuk mengoptimalkan potensi ikan teri (*stolephorus sp.*) dan kulit udang (*litopenaeus vannamei*) sebagai sumber pangan yang murah dan mudah diperoleh di wilayah Sulawesi Selatan dalam meningkatkan regenerasi tulang mandibula pada anak masa tumbuh kembang
3. Penelitian ini membuka peluang usaha alternatif bagi masyarakat lokal untuk mengembangkan diversifikasi ikan teri (*stolephorus sp.*) dan kulit udang (*litopenaeus vannamei*) sebagai optimalisasi pemanfaatan sumber pangan tinggi kalsium.
4. Penelitian ini dapat sumber informasi yang digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam membuat kebijakan pemangku jabatan dalam pengembangan usaha diversifikasi ikan teri (*stolephorus sp.*) dan kulit udang (*litopenaeus vannamei*) bagi masyarakat.

1.6. Hipotesis

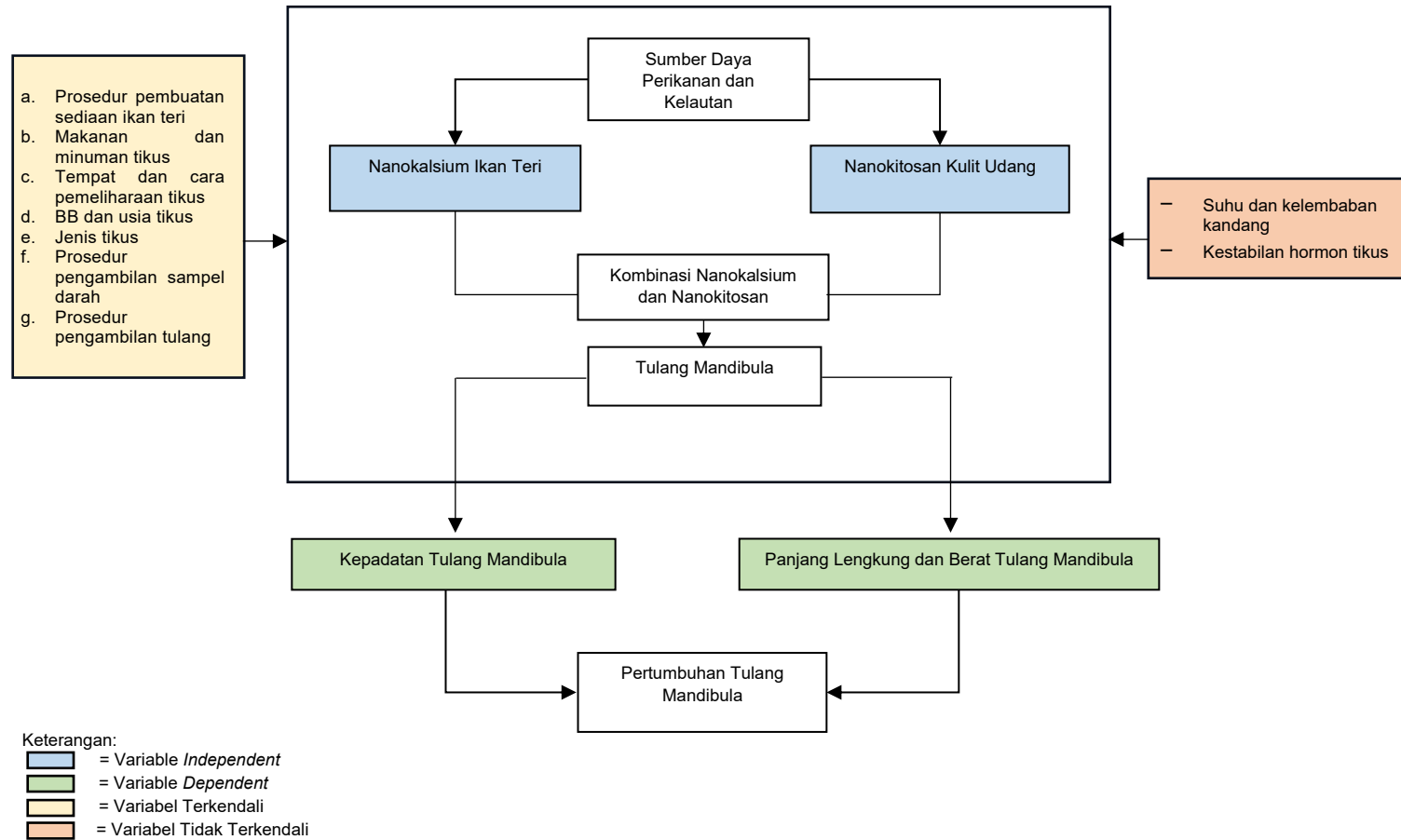
1. Kombinasi nanokalsium ikan teri (*stolephorus sp.*) dan nanokitosan kulit udang (*litopenaeus vannamei*) berpotensi meningkatkan kepadatan tulang mandibula tikus wistar jantan.
2. Kombinasi nano kalsium ikan teri (*stolephorus sp.*) dan nanokitosan kulit udang berpotensi meningkatkan pertumbuhan panjang dan peningkatan berat tulang mandibula tikus wistar jantan.

1.7 Kerangka Berpikir

1.7.1 Kerangka Teori



1.7.2 Kerangka Konsep



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental laboratories* secara *in vivo* dengan desain penelitian *the post test only control group design*. Pengambilan data dilakukan hanya pada saat akhir penelitian setelah dilakukannya perlakuan dengan membandingkan hasil kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. (Notoatmojo, 2010).

2.2. Lokasi dan Waktu Penelitian

2.2.1. Lokasi Penelitian

- Pembuatan dan pengukuran nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang dilakukan di Laboratorium Pengujian Kimia, Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkep.
- Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba di Klinik Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin.
- Pengukuran panjang dan berat tulang mandibula tikus wistar jantan di Klinik Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin
- Pengukuran kepadatan mineral tulang mandibula tikus wistar jantan dilakukan dengan metode SEM (*Scanning Electron Microscope*) di Laboratorium Mikrostruktur, Fakultas Teknik, Universitas Muslim Indonesia

2.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli sampai September 2024.

2.3. Populasi dan Sampel Penelitian

2.3.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah seluruh hewan coba galur wistar (*rattus novergicus*) yang sehat dan beraktifitas normal, jenis kelamin jantan, berat badan 150-200 gr, umur 8-10 minggu. Seluruh hewan coba dipelihara dan diberi pakan dan air minum yang sama. Sebelum digunakan, hewan coba diadaptasikan pada lingkungan penelitian selama 7 hari sebelum perlakuan dalam penelitian.

2.3.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah tikus wistar (*rattus norvegicus*) yang memenuhi kriteria inklusi. Adapun kriteria inklusi dan eksklusi adalah sebagai berikut:

Kriteria Inklusi:

- *Rattus novergicus* jantan jantan umur 8-10 minggu
- Berat badan rata rata 150-200 gram
- Tikus wistar yang diperiksa oleh dokter hewan yang dalam keadaan sehat (rambut tidak kusam, rontok, botak, gerak aktif, konsumsi pakan lancar) dan telah diadaptasi selama 7 hari
- Jenis kelamin Jantan

Kriteria Eksklusi:

- Tikus wistar nampak sakit ditandai dengan rambut kusam, rontok, dan gerak tidakaktif, serta konsumsi pakan tidak lancar
- Terdapat penurunan berat badan > 10 % setelah masa adaptasi di laboratorium
- Tikus wistar mati selama penelitian

Perhitungan sampel dilakukan dengan menggunakan rumus *Federer* :

$$\begin{aligned}(n - 1) (k - 1) &\geq 15 \\(n - 1) (5 - 1) &\geq 15 \\(n - 1) (4) &\geq 15 \\4n - 4 &\geq 15 \\4n &\geq 15+4 \\4n &\geq 19 \\n &= 4,7 \sim 5\end{aligned}$$

Keterangan :

n : Jumlah sampel

k : Jumlah kelompok

Berdasarkan hasil perhitungan, jumlah sampel dalam 1 kelompok perlakuan sebanyak 5 ekor tikus, total jumlah sampel sebanyak 25 ekor tikus, yang terdiri dari 5 kelompok perlakuan:

- Kelompok kontrol negatif : tikus dengan pemberian pakan standar dan minum
- Kelompok kontrol positif : tikus dengan pemberian pakan standar, minum dan susu
- Kelompok perlakuan 1 : tikus dengan pemberian pakan standar, minum dan nanokalsium ikan teri
- Kelompok perlakuan 2: tikus dengan pemberian pakan standar, minum dan nanokitosan kulit udang
- Kelompok perlakuan 3: tikus dengan pemberian pakan standar, minum dan kombinasi nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang

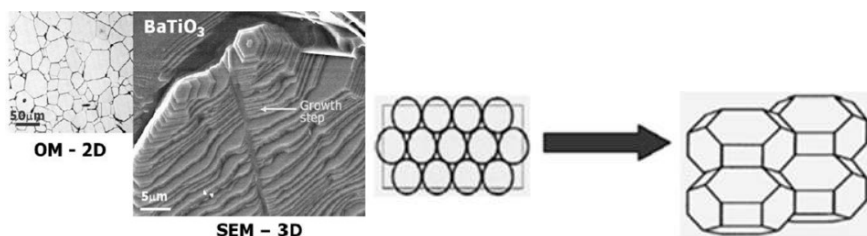
2.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional**2.4.1. Variabel Penelitian**

- Variabel Dependen
Kepadatan mineral kalsium tulang, panjang tulang dan berat tulang mandibula.

- Variabel Independen
Nanokalsium ikan teri, nanokitosan kulit udang, susu HL
- Variabel Terkendali
Makanan dan minuman tikus, tempat dan cara pemeliharaan tikus, berat badan, usia tikus, prosedur pembuatan sediaan nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang, prosedur pengambilan tulang mandibula, prosedur pemeriksaan kepadatan kalsium tulang dan pengukuran panjang dan berat tulang.
- Variabel Tidak Terkendali
Suhu dan kelembaban kandang, kestabilan hormon tikus

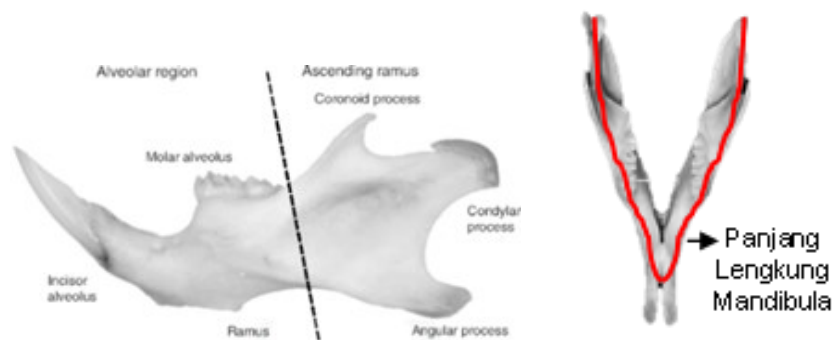
2.4.2. Definisi Operasional

- Nanokalsium ikan teri adalah ikan teri segar yang dikeringkan untuk mengurangi kandungan airnya kemudian dihancurkan dan dilakukan proses dekalsifikasi serta presipitasi untuk dikonversi menjadi nanokalsium dengan menggilingnya hingga menjadi partikel ukuran nanometer sehingga dapat diabsorpsi dengan cepat dan sempurna.
- Nanokitosan kulit udang adalah kulit udang segar yang dikeringkan lalu dilakukan proses demineralisasi dan deproteinasi serta deasetilasi hingga menjadi serbuk partikel ukuran nanometer.
- Susu adalah cairan berwarna putih, yang disekresi oleh kelenjar susu mamalia yang mengandung berbagai nutrisi lengkap dan seimbang seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral, dan vitamin yang merupakan sumber kalsium yang banyak digunakan sehari-hari.
- Kepadatan tulang adalah ukuran mineral hidroksiapatit penyusun tulang, semakin besar mineral hidroksiapatit pada tulang maka tulang akan menjadi lebih padat dan kuat, dapat dilakukan dengan pemeriksaan *scanning electron microscopy* (SEM). SEM adalah salah satu mikroskop elektron yang digunakan untuk menyelidiki permukaan dari sebuah objek solid secara langsung. yang dapat memberikan informasi tentang struktur mikro permukaan sampel, karakterisasi komposisi kimia dan melihat morfologi serbuk hidroksiapatit. SEM memiliki kedalaman bidang yang besar, yang memungkinkan sejumlah besar sampel menjadi fokus pada satu waktu dan menghasilkan gambar yang merupakan representasi yang baik dari sampel tiga dimensi. SEM juga menghasilkan gambar dengan resolusi tinggi, memungkinkan identifikasi mineral dan analisis struktur tulang pada perbesaran tinggi. (Inkson, 2016).



Gambar 2.1 Perbedaan tampilan hasil gambar dari mikroskop optikal dan scanning electron microscopy (SEM)

- Pertumbuhan tulang mandibula adalah perubahan somatik yang ditandai dengan adanya penambahan dalam ukuran baik panjang lengkung mandibula dan peningkatan berat mandibula. Panjang lengkung mandibula diukur menggunakan kawat menyusuri lengkung mandibula tikus mulai dari distal kondilus kiri menyusuri mandibula melewati labial infradental sampai distal kondilus kanan. Kemudian kawat diluruskan dan diukur panjangnya menggunakan penggaris. Berat mandibula diukur dengan menimbang tulang mandibula tikus yang telah dipisahkan dari tubuh menggunakan timbangan digital.



Gambar 2.2 Pengukuran Lengkung Mandibula

2.5. Alat dan Bahan Penelitian

2.5.1. Alat Penelitian

1. Alat untuk membuat nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang
 - Blender atau Alat Penghancur
 - Alat Penggiling (*Ball Mill* atau Alat Penggilingan Nano)
 - Saringan
 - *Moisture Balance (Citizen)*
 - *Centrifuge*
 - *Hot Plate* atau Pemanas
 - *Beaker*
 - *Magnetic Stirrer*
 - Pipet
 - pH meter
 - Filter dan Kertas Saring
 - *Glassware set*
 - Kaca pembesar/mikroskop cahaya
 - Timbangan digital
 - Oven (*Memmert*)

2. Alat untuk perlakuan hewan uji
 - Kandang plastik
 - Kawat
 - Tempat makan dan minum tikus
 - Timbangan untuk menghitung dosis nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang
 - Sonde lambung
 - Gelas ukur
3. Alat untuk dekaputasi
 - *Overdose anastesi*
 - Gunting bedah
 - Scalpel
 - Pinset cirurgis
 - Retraktor
 - Forceps
 - Gergaji bedah atau bone cutter
 - Petri dish
 - Gauze dan cotton swabs
 - Formalin
 - Alat penyimpanan
 - Marker dan label
 - Cooler box
 - Steril surgical gloves
4. Alat untuk pengukuran panjang dan berat tulang mandibula tikus wistar
 - Jangka sorong
 - Timbangan Digital
5. Alat untuk analisis mineral tulang mandibula tikus wistar
Mikroskop elektron (*Scanning Electron Microscope/SEM*)



Gambar 2.3 Perangkat *Scanning Electron Microscope/SEM*

2.5.2. Bahan Penelitian

- Ikan teri
- Kulit udang
- Susu
- Pakan tikus
- NaCl
- Asam klorida (HCL)
- Natrium Hidroksida (NaOH)
- Air distilasi atau deionisasi
- Asam asetat (CH₃COOH)
- Sodium tripolifosfat (STPP)
- Ethyl alkohol
- Buffer larutan
- Formalin
- Sekam padi
- Sarung tangan
- Masker
- Kertas Tissue
- Spidol warna

2.6. Prosedur Penelitian

2.6.1. Pembuatan Sediaan Nanokalsium Ikan Teri

- Menimbang 100 gr ikan teri kering segar
- Mencuci ikan teri hingga bersih
- Ikan teri ditiriskan kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 50° hingga kadar airnya hilang
- Ikan teri dihaluskan dengan alat penggiling sampai mencapai ukuran partikel sangat kecil
- Dekalsifikasi dengan larutan asam klorida untuk menghilangkan kalsium karbonat dan mengubahnya menjadi kalsium klorida yang larut dalam air lalu dicuci dengan air untuk menghilangkan sisa asam dan kotoran lainnya
- Presipitasi kalsium dengan penambahan larutan kalsium klorida ke dalam larutan natrium hidroksida untuk mengendapkan kalsium dalam bentuk kalsium hidroksida.
- Endapan kalsium hidroksida dipisahkan dengan cara disaring dan kemudian dicuci dengan air untuk menghilangkan sisa basa.
- Endapan kalsium hidroksida dikeringkan menggunakan oven atau metode pengeringan lainnya lalu dikonversi menjadi nanokalsium digiling lagi hingga mencapai ukuran nano (kurang dari 100 nm) menggunakan alat penggiling nano seperti ball mill
- Nanokalsium yang dihasilkan dikemas dalam wadah yang bersih dan kering untuk menghindari kontaminasi dan penyerapan kelembaban.

2.6.2. Pembuatan Sediaan Nanokitosan Kulit Udang

- Menimbang 100 gr kulit udang segar atau yang sudah dikeringkan
- Mencuci kulit udang hingga bersih
- Kulit udang dimasukkan ke dalam oven pada suhu 50° hingga kadar airnya hilang
- Demineralisasi dalam larutan asam klorida 1-2% selama beberapa jam untuk menghilangkan mineral, terutama kalsium karbonat diikuti dengan pencucian dengan air untuk menghilangkan sisa asam
- Deproteinisasi dalam larutan natrium klorida 1-5% pada suhu tinggi untuk menghilangkan protein. Proses ini diikuti dengan pencucian dengan air untuk menghilangkan sisa basa
- Deasetilisasi kitin dalam larutan natrium hidroksida 40-50% pada suhu tinggi kemudian dicuci dengan air untuk menghilangkan sisa basa dan dikeringkan
- Konversi Kitosan Menjadi Nanokitosan dilakukan dengan Pembuatan Larutan Kitosan
- Kitosan yang telah diekstraksi dilarutkan dalam asam asetat 1-2% untuk membuat larutan kitosan yang kemudian diubah menjadi nanopartikel menggunakan metode tertentu seperti gelasi ionik, sonikasi, atau penguapan pelarut (kitosan dilarutkan dalam larutan sodium tripolifosfat) untuk membentuk nanopartikel melalui proses pengadukan cepat.
- Nanokitosan dikemas dalam wadah kedap udara untuk menghindari kontaminasi dan penyerapan kelembaban.

2.6.3. Penentuan Dosis

Dosis Nanokalsium Ikan Teri dan Nanokitosan Kulit Udang

Berdasarkan tinjauan dari literatur sebelumnya mengenai penggunaan ekstrak nanokalsium dan ekstrak nanokitosan, dosis aman dan efektif yang telah melalui uji sebelumnya untuk nanokalsium menunjukkan efek positif pada kepadatan tulang dengan dosis 100 mg/kg sedangkan untuk nanokitosan menunjukkan efek positif pada peningkatan penyerapan mineral dengan dosis 200 mg/kg. Saat menentukan dosis kombinasi sebagai dosis permulaan sebaiknya dimulai dari dosis konservatif menggunakan dosis yang lebih rendah dari rentang yang telah diuji :

Nanokalsium : 50 mg/kg

Nanokitosan : 100 mg/kg

Untuk Berat Badan tikus wistarjantan ideal direntang 150 – 200 gr sehingga dari hasil perhitungan didapatkan asupan harian

Nanokalsium : $50 \times (200/1000) = 10 \text{ mg}$

Nanokitosan : $100 \times (200/1000) = 20 \text{ mg}$

Dosis Susu HL

Berdasarkan konversi perhitungan dosis Laurence and Bacharach, 1964, dosis konversi pada tikus

- Angka kecukupan kalsium manusia $\times 0,018$
 $= 0,65 \text{ gr} \times 0,018$
 $= 0,0117 \text{ gr/ 200 gr BB/hari}$
- Angka kecukupan kalsium pada tikus = 11,7 mg/hari

Dosis susu yang diberikan adalah :

$$\frac{\text{Angka kecukupan kalsium (manusia)}}{\text{Dosis harian susu (manusia)}} = \frac{\text{Angka kecukupan kalsium (tikus)}}{\text{Dosis harian susu pada tikus}}$$

Dosis susu pada tikus :

$$\frac{35 \text{ gr} \times 11,7 \text{ mg}}{35\% \times 650 \text{ mg}} = 1,8 \text{ mg/hari}$$

2.6.4 Persiapan Hewan Coba

- Penyediaan hewan coba : 25 tikus putih galur wistar jantan
- Pengukuran BB awal (150-200 gr)
- Menyiapkan 5 kandang, menempatkan 5 tikus dalam 1 kandang
- Mengadaptasikan tikus dalam kandang selama 7 hari

2.6.5 Perlakuan Hewan Coba

- Tikus dikelompokkan dalam 5 kelompok
- Masing – masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus
- Kelompok 1 hanya diberi pakan biasa sebanyak 2 kali sehari yaitu pagi pukul 09.00-09.00 WITA kemudian sore hari pukul 15.00-16.00 WITA.
- Kelompok 2 diberi pakan biasa ditambah susu sebanyak 2 kali sehari yaitu pagi pukul 09.00-09.00 WITA kemudian sore hari pukul 15.00-16.00 WITA.
- Kelompok 3 diberi pakan biasa ditambah sediaan nanokalsium ikan teri 2 kali sehari yaitu pagi pukul 09.00-09.00 WITA kemudian sore hari pukul 15.00-16.00 WITA.
- Kelompok 4 diberi pakan biasa ditambah sediaan nanokitosan kulit udang 2 kali sehari yaitu pagi pukul 09.00-09.00 WITA kemudian sore hari pukul 15.00-16.00 WITA.
- Kelompok 5 diberi pakan biasa ditambah kombinasi sediaan nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang 2 kali sehari yaitu pagi pukul 09.00-09.00 WITA kemudian sore hari pukul 15.00-16.00 WITA.

2.6.6 Pengukuran Panjang Lengkung Dan Berat Tulang Mandibula Tikus Wistar

- Pengambilan sampel dilakukan setelah perlakuan pada hewan coba dilakukan selama 40 hari
- Pada tikus terlebih dahulu dibius dengan penyuntikan ketamin dan xylazine

- dengan teknik intramuskular sampai tanda – tanda vital tikus hilang
- Dilakukan pembedahan untuk mengambil sampel tulang mandibula tikus wistar jantan
 - Dilakukan pembersihan dan pencucian tulang mandibula dengan NaCl
 - Dilakukan pengukuran panjang tulang mandibula menggunakan jangka sorong
 - Dilakukan pengukuran berat tulang mandibula dengan menggunakan timbangan digital

2.6.7 Pengukuran Kepadatan Mineral Tulang Mandibula Tikus

- Tulang mandibula dibersihkan dan disimpan dalam formalin 10% untuk fiksasi jaringan
- Untuk melihat ukuran mineral hidroksiapatit pada tulang mandibula dilakukan pengamatan dengan metode SEM di Laboratorium Mikrostruktur, Fakultas Teknik, Universitas Muslim Indonesia
- Pengamatan dilakukan dengan perbesaran 2000x untuk melihat morfologi dan porositas matriks mineral hidroksiapatit sebagai indikator kepadatan tulang.

2.7 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan analisis uji normalitas data *Shapiro Wilk Test* dan analisis uji homogenitas *Levene's Test*. Untuk menganalisis perbedaan rata – rata pada 5 kelompok dilakukan uji One – Way ANOVA. Hasil analisis signifikan 95% atau terdapat perbedaan jika nilai $p < 0,05$, dilanjutkan uji beda dengan Tukey HSD untuk menentukan perbedaan antara pasangan rata – rata kelompok, dengan hasil signifikan $p < 0,05$. Pengolahan data menggunakan program SPSS ver.26.0 dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

2.8 Alur Penelitian

