

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pertumbuhan dan perkembangan tulang dimulai pada awal kehidupan yaitu pada tahap janin lalu masa anak-anak dan remaja hingga akhirnya mencapai puncak massa tulang yang optimal. (Golden et al., 2014) Masa anak – anak dan remaja disebut sebagai masa terpenting bagi pertumbuhan dan perkembangan tulang oleh karena pada masa tersebut, tulang tumbuh dan berkembang pesat sehingga ukuran dan kekuatan tulang meningkat secara signifikan. (Chang et al., 2021) Membangun tulang yang kuat pada masa ini sangat penting untuk menjaga kesehatan tulang sepanjang hidup agar terhindar dari kemungkinan terjadinya permasalahan tulang. Proses pembentukan tulang rawan hingga proses osifikasi endokondral dan osifikasi sekunder berlangsung mulai tahap embrio fetus hingga neonates. (Zhu et al., 2023) Pertumbuhan tulang terus berlanjut dari tahap infant hingga tahap sekolah. Tahap pubertas mengalami lonjakan pertumbuhan yang dikenal sebagai growth spurt. (Luo et al., 2022) Nutrisi yang baik saat kehamilan membantu mengoptimalkan perkembangan tulang bayi. Nutrisi yang cukup, terutama kalsium dan fosfor, sangat penting untuk mendukung proses ini. (Golden et al., 2014)

Osteosit merupakan sel tulang dengan jumlah yang paling banyak dan memiliki masa hidup yang lebih lama. Osteosit berperan dalam proses mekanosensing, dalam hal ini merespon rangsangan mekanis eksternal dalam proses metabolisme tulang. Selain itu memiliki efek langsung pada homeostasis mineral, dengan menyerap dan menyimpan beberapa mineral tulang.

Osteosit membentuk jaringan spasial lakuna (rongga tempat sel berada) dan kanalikuli (yang menghubungkan lakuna) terdistribusi di seluruh permukaan matriks tulang yang termineralisasi. (Shah et al., 2018) Osteosit membentuk jaringan yang saling berhubungan untuk menerima dan merespons rangsangan biomekanik sistemik dan lokal untuk mengatur proses resorpsi dan proses pembentukan tulang. (Choi et al., 2022) Mekanisme kerja osteosit menghasilkan aktivitas terkoordinasi dari osteoklas dan osteoblas yang membentuk unit multiseluler tulang yang merombak tulang kortikal dan trabekuler melalui proses resorpsi tulang yang dimediasi oleh osteoklas, diikuti oleh fase pembentukan tulang yang dimediasi oleh osteoblas. Osteosit memediasi metabolisme tulang melalui interaksi sel dengan osteoklas dan osteoblas melalui pelepasan sinyal mediator terlarut. Proses metabolisme tulang merupakan mekanisme adaptasi matriks tulang berupa pergantian tulang yang mengalami kerusakan oleh faktor biomekanik lokal akibat pembebanan mekanis yang berulang dan pengaruh hormonal sistemik. (Goldring, 2015a)

Komposisi tubuh adalah penentu antropometri kepadatan mineral tulang yang mencakup proporsi lemak, otot, air, dan mineral dalam tubuh. Pertumbuhan dan perkembangan tulang pada anak sangat dipengaruhi oleh komposisi tubuh, terutama kandungan mineral seperti kalsium. Komposisi tubuh, diantaranya massa tanpa lemak (*Lean Mass*) dan massa lemak (*Fat Mass*), telah dilaporkan terkait erat dengan kepadatan mineral tulang pada anak-anak dan remaja. *Lean Mass* secara jelas terkait dengan peningkatan kepadatan mineral tulang karena beban mekanis terhadap tulang.

(Jain & Vokes, 2022) Namun, hubungan antara *Fat Mass* dan massa tulang masih belum jelas. *Fat Mass* pada awalnya dianggap sebagai faktor pelindung untuk kesehatan tulang karena peningkatan beban mekanis yang terjadi sebagai akibat dari total massa tubuh yang lebih tinggi; efek ini diperkirakan dimediasi oleh berbagai osteokin, adipokin, dan miokin. (Hue et al., 2023) Namun, laporan terbaru menunjukkan hubungan yang kompleks antara *Fat Mass* dan kesehatan tulang. Jaringan adiposa mungkin memiliki efek yang tidak menguntungkan pada kesehatan tulang karena peradangan, stres oksidatif dan penurunan differensiasi sel induk mesenkim menjadi sel osteoblast oleh karena tekanan dari differensiasi sel adiposa. (Pestel et al., 2023) Sebuah meta-analisis terkait pengaruh jaringan adiposa terhadap massa tulang pada orang dewasa menemukan bahwa korelasi *Fat Mass* dengan kepadatan mineral tulang menunjukkan persentase *Fat Mass* terkait dengan massa tulang yang rendah. (Deng et al., 2021) Komposisi tubuh biasanya dibagi menjadi beberapa komponen berbeda dalam penelitian berbeda dimana *Fat Mass* sering dijadikan sebagai faktor yang mempengaruhi kesehatan tulang. (Zhang et al., 2021)

Kalsium merupakan salah satu mineral esensial yang dibutuhkan oleh makhluk hidup dalam proses fisiologis dalam hal ini membantu kerja enzim dan pembentukan organ tulang dan gigi agar tubuh dapat menjalankan fungsinya dengan baik. Kebutuhan kalsium meningkat pada masa pertumbuhan. (Supriyadi et al., 2023) Selama masa anak-anak dan percepatan pertumbuhan pubertas, metabolisme tulang membutuhkan Kalsium (Ca) yang cukup untuk membentuk tulang baru dengan benar. Mineralisasi tulang yang buruk mungkin dapat dicegah sejak masa kanak-kanak dengan menjamin kecukupan asupan Ca untuk mengoptimalkan kesehatan tulang. Dalam beberapa penelitian cross-sectional, menemukan asupan Ca pada makanan berkorelasi positif dengan status kesehatan tulang. Selain itu, studi serupa, sebuah studi cross-sectional dari Survei Nasional Korea menunjukkan bahwa Sebagian besar anak muda Korea akan mendapatkan mineral tulang yang lebih besar jika mereka meningkatkan asupan Ca. Data mereka menunjukkan bahwa asupan Ca makanan memainkan peran yang mendukung berperan dalam massa tulang untuk laki-laki remaja awal dan dewasa muda. Hasil dari dua penelitian cross-sectional lain di Spanyol mengungkapkan bahwa asupan Ca yang tinggi terkait dengan Status kesehatan tulang dibutuhkan pada anak-anak berusia antara 5 dan 12 tahun. Meskipun Ca hanya salah satu faktor yang berkontribusi terhadap massa dan kekuatan tulang, sangat penting untuk tulang mineralisasi dan perkembangan tulang, terutama di individu dengan asupan yang rendah (Pan et al., 2020)

Saat ini, berbagai aplikasi untuk biopolimer telah meluas dengan permintaan untuk bahan inovatif dan ramah lingkungan yang menawarkan sifat yang lebih baik. Kitosan merupakan senyawa turunan dari kitin yang telah mengalami deasetilasi. Kitin adalah biopolimer yang sangat melimpah yang dapat ditemukan di eksoskeleton krustasea, kutikula serangga, alga dan di dinding sel jamur. (Aranaz et al., 2021) Kitosan merupakan suatu senyawa polisakarida linier yang telah lama digunakan dalam meningkatkan kesehatan tulang sebagai matriks penghantar obat dan aplikasi obat oleh karena faktor biodegradabilitas, biokompatibilitas, fungsionalitas, efektifitas biaya, dan toksisitasnya yang rendah. Karena sifatnya yang kationik, kitosan memiliki sifat biologis seperti aktivitas bakterostatik, antioksidan, antitumor, antiinflamasi dan antijamur. . Kehadiran

gugus fungsi, amino (-NH₂) dan hidroksil (-OH), dalam kitosan adalah atribut kunci untuk modifikasi bahan kimia serbaguna untuk meningkatkan sifat fisikokimia, mekanik, dan sifat biologis dengan tetap mempertahankan karakteristiknya yang unik. (El-Araby et al., 2023) Namun, peningkatan aplikasi ini sulit dilakukan karena stabilitas jangka panjang kitosan yang buruk, Dimana kitosan mengalami degradasi rantai secara bertahap selama penyimpanan, yang mengakibatkan hilangnya sifat fisikokimia. Beberapa strategi telah diusulkan, seperti menambahkan zat penstabil dan menggunakan pengikat silang kimia atau ionic. (Rashed et al., 2023)

Tabel 1. Tabel sintesis beberapa studi tentang efektifitas kalsium

Penelitian	Ukuran Sampel	Sumber Kalsium	Dosis	Durasi	Variabel Dependent	Kesimpulan
Stomatognathic Journal (2015)	200 anak	Produk harian	800-1000 mg/day	12 bulan	Perkembangan Enamel, dentin, cementum	Meningkatkan kualitas email dan dentin secara signifikan; mengurangi insiden caries gigi
UMS Journal (2020)	150 anak	Ikan teri, sayuran hijau	500-800 mg/day	6 bulan	Kepadatan tulang, Kesehatan gigi	Meningkatkan kepadatan tulang mandibula; peningkatan status kesehatan gigi dan mulut secara keseluruhan
Journal of Pediatric Dentistry (2019)	250 anak	Calcium supplements	500 mg/day	12 bulan	Kekuatan tulang mandibula, insiden fractur	Meningkatkan kekuatan tulang mandibular; mengurangi insiden fraktur

Tabel 2. Tabel sintesis beberapa studi tentang efektifitas kitosan

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
Elango dkk. (2019)	In vitro <i>In vivo</i>	Pembentukan osteoblas dan mekanisme remodeling sel tulang menggunakan komposit berbasis CTS-kolagen matriks 3 dimensi (3D).	Persiapan matriks 3D biomimik berbasis CTS-kolagen dan karakterisasi Analisis kultur sel menggunakan sel pra-osteoblastik tikus (MC3T3-E1) dan sel induk mesenkim sumsum tulang (BMSc) (ZQ0465) Pengukuran alkali fosfatase seluler (ALP), kadar mineral, hidroksiprolin dan kolagen Pewarnaan histologis Imunositokimia dan western blot Ekspresi mRNA dan pemindaian mikroskop elektron (SEM) Studi efektivitas pembentukan osteoklas menggunakan tikus betina dewasa C57BL/6 berumur 11 minggu	Data difraksi sinar-X (XRD) dan microcomputed tomography (MicroCT) mengkonfirmasi susunan kristalit H dalam matriks 3D CTS-kolagen-HAP- kondroitin sulfat (CCHCs) dan struktur 3D matriks. Osteoblas dan osteoklas yang berdiferensiasi mengidentifikasi aktivitas osteoklastogenik stimulasi dan eksploitatif osteoklastogenik dari matriks 3D. Isyarat parakrin progenitor osteogenik untuk osteoklastogenesis menunjukkan bahwa osteoblas yang berdiferensiasi mengeluarkan tingkat yang lebih tinggi aktivator reseptor ligan faktor- κ B nuklir (RANKL) untuk mendukung osteoklastogenesis, dan efeknya diturunkan regulasinya oleh matriks 3D CCHC.	Morfologi matriks 3D CCHC menyerupai tulang trabekuler, yang meningkatkan pertumbuhan tulang, membatasi resorpsi tulang, dan dapat menjadi biomaterial baru untuk rekayasa jaringan tulang.
Li dkk. (2021)	In vitro <i>In vivo</i>	Untuk merancang	Sintesis n-HAP	<i>Secara in vitro</i> mengkonfirmasi	Mikrosfer komposit n-

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
		komposit nano-HAP (n-HAP)/resveratrol (Res)/CTS (CTS) mikrosfer untuk menciptakan manfaat lingkungan mikro dan membantu meningkatkan osteogenesis dengan pelepasan Res secara lokal dan berkelanjutan.	Pembuatan mikrosfer n-HAP/Res/CTS Karakterisasi fisik dan kimia mikrosfer Studi rilis res Respon inflamasi in vitro Kompatibilitas seluler mikrosfer n-HAP/Res/CTS implantasi in vivo dan regenerasi tulang	kelayakan mikrosfer n-HAP/Res/CTS untuk pelepasan Res terkontrol. Mikrosfer memiliki aktivitas antiinflamasi yang dibuktikan dengan penurunan ekspresi sitokin proinflamasi tumor necrosis factor- (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) dan inducible nitric oxide synthase (iNOS) dalam sel RAW264.7 yang bergantung pada dosis. Peningkatan adhesi dan proliferasi BMSC yang diunggulkan ke mikrosfer. Peningkatan regulasi faktor transkripsi terkait Runt 2 (Runx2), ALP, kolagen tipe 1 (Col-1) dan osteokalsin (OCN), dan mineralisasi substansial dalam medium osteogenik. Peningkatan entochondrostosis dan regenerasi tulang pada femoral tikus osteoporosis kondilus	HAP/Res/CTS yang dioptimalkan dapat memberikan hasil yang menjanjikan pengisi multifungsi untuk pengobatan cacat/patah tulang osteoporosis.
Shi dkk. (2012)	In vitro	Untuk melapisi CTS ke oksida besi (Fe ₃ O ₄) nanopartikel dan	Karakterisasi nanopartikel Penyerapan nanopartikel	CTS berlapis nanopartikel Fe ₃ O ₄	Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
		untuk mengetahui pengaruhnya terhadap proliferasi dan diferensiasi dari osteoblas.	oleh osteoblas. Viabilitas dan proliferasi osteoblas diukur dengan adanya Fe yang tidak dilapisi nanopartikel magnetic Fe ₃ O ₄ atau yang dilapisi dengan CTS. Penentuan laktat dehidrogenase, ALP, sintesis protein total, dan deposisi kalsium (Ca) ekstraseluler	meningkatkan osteoblas proliferasi, penurunan kerusakan membran sel, dan mendorong diferensiasi sel, seperti yang ditunjukkan oleh peningkatan ALP dan deposisi Ca ekstraseluler. CTS berlapis nanopartikel Fe ₃ O ₄ menunjukkan kompatibilitas yang baik dengan osteoblas.	mengoptimalkan nanopartikel magnetik untuk pengobatan penyakit tulang.
Sun dkk. (2020)	In vivo	Untuk menyelidiki kemampuan MiR-21/nanokapsul untuk meningkatkan perbaikan tulang dini pada fraktur osteoporosis	Penunjukan nanokapsul matriks metalloproteinase-sensitif dengan <i>in situ</i> polimerisasi radikal bebas pada permukaan MiR-21 dengan 2-(metakrililoksi) etil fosforil kolin dan peptida VPLGVRTK bisacryloylated. Tikus Sprague Dawley (SD) yang diovariectomi (OVX) dibagi menjadi tiga kelompok (kelompok A, B, dan C): disuntik secara terpisah dengan O-	Hasilnya menegaskan bahwa n (miR-21) dapat difagositosis secara efisien oleh BMSC dan dilepaskan dalam sitoplasma untuk mendorong osteogenesis. Tingkat ekspresi ALP dan Runx2 mRNA pada kelompok n (miR-21) lebih tinggi dibandingkan pada kelompok n (NC-miR). Percobaan pada hewan membuktikan bahwa CMCS/n (miR-21) menghasilkan perbaikan tulang yang lebih baik dibandingkan dengan	Tes sitologi mengkonfirmasi bahwa n (miR-21) dapat mendorong diferensiasi osteogenik BMSC yang berasal dari model tikus osteoporosis. Hasil pengujian pada hewan menunjukkan bahwa injeksi CMCS/n (miR-21) lokal mendorong penyembuhan dini cacat tulang osteoporosis. Akibatnya CMCS/n (miR-21) mempromosikan proses perbaikan

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
			karboksimetil CTS (CMCS)/n (miR-21), CMCS/n(NC-miR), dan saline. Pengukuran efek CMCS/n (miR-21) pada perbaikan tulang. Penentuan pengaruh n (miR- 21) tentang diferensiasi osteogenik menjadi BMSCs.	kelompok CMCS/n (NC-miR) pada tahap awal penyembuhan patah tulang dalam 4 minggu. Pada tahap akhir penyembuhan patah tulang (8 minggu), analisis kuantitatif mikroCT menunjukkan bahwa trabekula tulang baru pada kelompok CMCS/n (miR-21) mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok CMCS/n (NC-miR). Pada kelompok CMCS/n (miR-21), tulang kanselus baru telah diserap, dan proses penyembuhan tulang hampir selesai. lengkap. Sebaliknya, tulang baru pada CMCS/n (NC-miR) dan kelompok kontrol masih dalam proses penyembuhan.	tulang untuk memasuki fase pencetakan
Fookes dkk. (2019)	In vitro In vivo	Untuk menyelidiki CTS/ Hidrogel β -gliserofosfat (GP) sebagai sistem pelepasan terkontrol	Pembuatan gel CTS/GP dan CTS/ GP/natrium F (NaF). Studi stabilitas gel, gel struktural dan	Hidrogel stabil setidaknya selama 48 jam bila terkena media berair dalam kisaran pH 4 hingga 7 dan pelepasan NaF	Hasil ini menunjukkan bahwa hidrogel CTS/GP bisa menjadi kandidat yang baik untuk pelepasan F

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
		fluorida (F) yang diberikan secara oral.	spektroskopi inframerah Rilis eksperimen Pengukuran reologi Studi in vivo Penentuan F secara tes in vitro Penentuan fluor dalam sampel biologis Insulinemia Glikemia dan fosfatemia	dikontrol selama lebih dari 6 jam. Farmakokinetik fluorida serupa ketika obat itu digunakan dikelola dengan kedua formulasi. Namun demikian, penyerapan F lebih besar ketika obat diberikan dengan hidrogel, dan lebih jauh lagi, tidak ada efek samping terkait obat.	berkelanjutan dalam formulasi oral
Akbari dkk. (2020)	<i>Di dalam vitro</i>	Untuk mengevaluasi efek dari dua hidrogel termosensitif yang mengandung rosuvastatin (RSV) terhadap proliferasi dan diferensiasi sel MG-63 mirip osteoblas manusia.	Persiapan dan karakterisasi hidrogel termosensitif CTS/GP/gelatin Optimalisasi campuran dengan nanopartikel yang mengandung RSV (NRSV). Efek dari NRSV yang tertanam dalam CTS/GP/gelatin terhadap viabilitas sel, aktivitas ALP, dan kalsifikasi sel dievaluasi menggunakan sel MG-63 dan dibandingkan dengan RSV yang tertanam dalam asam hialuronat (HA)/Pluronic® Hidrogel F127 (PF127).	Waktu gelasi CTS/GP/gelatin dengan gelatin 1 dan 1,5% adalah 72 dan 44 detik, masing-masing. Karena kekuatan gel CTS/GP/gelatin yang lebih tinggi dibandingkan dengan hidrogel HA/PF127, laju pelepasan RSV dari NRSV yang tertanam CTS/GP/Gelatin hidrogel secara signifikan lebih lambat dibandingkan sistem HA/PF127. NRSV yang tertanam dalam hidrogel CTS/GP/Gelatin memiliki efek paling promotif diferensiasi osteoblas di	NRSV yang tertanam dalam hidrogel CTS/GP/Gelatin dapat digunakan secara efisien di masa depan untuk cacat tulang seperti osteoporosis dan patah tulang.

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
				antara campuran lainnya.	
Ghavimi dkk. (2019)	<i>Di dalam vitro</i>	Untuk menyelidiki pengaruh berbagai faktor terhadap sifat material hidrogel berbasis CTS dan menilai efek biologis dari pengikat silang ionik fosfat bioaktif.	Sintesis nanokristal selulosa (CNC) Persiapan hidrogel Evaluasi perubahan struktur kimia. Pengukuran waktu gelasi, kuat tekan, pembengkakan dan kehilangan massa Kultur sel untuk uji proliferasi, viabilitas, aktivitas ALP, dan mineralisasi	Hidrogel dengan rasio ikatan silang ionik dan kovalen lebih tinggi dilengkapi dengan CNC netral yang memiliki kekuatan tekan dan stabilitas yang diinginkan.	Induktivitas osteo yang signifikan dari hidrogel komposit ini menunjukkan potensinya untuk berfungsi sebagai sistem injeksi untuk pengobatan fraktur kompresi vertebra di masa depan.
Shekawat dkk. (2018)	In vitro In situ	Untuk mempersiapkan dan mengkarakterisasi biodegradable gel <i>in situ</i> untuk pemberian simvastatin subkutan, yang mungkin berguna dalam pengobatan osteoporosis.	Biodegradabilitas gel <i>in situ</i> menggunakan CTS dan GP. Gel <i>in situ</i> dikarakterisasi berdasarkan pH, kapasitas pembentuk gel, isi obat, volume sedimentasi, kemampuan resuspensi, kelayakan penggunaan syringe, pelepasan obat secara <i>in vitro</i> , ukuran partikel dan potensi zeta.	Formulasi yang dioptimalkan, mengandung 1,25 % b/v CTS dan 1 % GP, memiliki kapasitas pembentuk gel yang baik pada kondisi fisiologis. suhu dan pH. Memiliki pH $5,85 \pm 0,5$, kandungan obat $97,1 \pm 1,2$ % dan volume sedimentasi $0,42 \pm 0,04$. <i>Secara in vitro</i> pelepasan obat ditemukan $98,7 \pm 1,5$ % dalam 7 hari. ● Ukuran partikel, potensi zeta dan viskositas ditemukan 7,07	Sistem penghantaran obat alternatif yang efektif untuk pengobatan osteoporosis

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
				$\pm 0,3$ mikron, $12,5 \pm 1,5$ mV dan $22,66 \pm$ masing- masing 1,8 cp.	
Mi dkk. (2018)	In vitro In vivo	Untuk mengevaluasi keamanan dan bioaktivitas kolagen mirip manusia terfosforilasi (PHLC) -Ca menggunakan model sel dan hewan	• Persiapan mikrokapsul • Penentuan efisiensi enkapsulasi (EE) dan kapasitas pemuatan (LC) • Karakterisasi mikrokapsul • Lepaskan profil chelates (PHLC)-Ca dari Mikrokapsul • <i>Secara in vitro</i> di lingkungan gastrointestinal • <i>Secara in vitro</i> sitotoksitas sel • Penentuan bioavailabilitas PHLC-Ca setelah pemberian teknologi CTS/ Mikroenkapsulasi oral menggunakan mikrokapsul alginat (ALG)-(PHLC-Ca)	Mikrokapsul berukuran mikron dan berbentuk bulat. PHLC-Ca berhasil terperangkap ke dalam matriks ALG Uji MTT menunjukkan bahwa CTS/ALG-(PHLC-Ca) ekstrak mikrokapsul aman untuk garis sel L929. Percobaan pada hewan menunjukkan bahwa CTS/ALG-(PHLC-Ca) mikrokapsul lebih unggul dalam mengobati osteoporosis dibandingkan PHLC-Ca.	Bioavailabilitas PHLC-Ca ditingkatkan dengan mikrokapsul CTS/ALG-(PHLC-Ca), yang akan memberikan ide-ide baru untuk pengembangan dan penelitian suplemen protein Ca di masa depan.
Lim dkk. (2019)	In vitro	Untuk membuat CTS titanium dioksida (TiO ₂) yang diperkuat nanotube (CTNTs) dikaitkan dengan peningkatan biokompatibilitas dan sifat fisik TNT.	Penggabungan TNT yang disintesis secara hidrotermal dengan persen berat 16 ke dalam CTS dicapai melalui pencampuran langsung dan liofilisasi.	Afinitas adsorpsi CTNT terhadap Mg ²⁺ ion tinggi dan terutama disebabkan oleh makroporositas scaffold dan rongga nano TNT. Kapasitas adsorpsi monolayer	Berdasarkan hasil saat ini, CTNT scaffold dengan Mg ²⁺ ion mungkin merupakan biomaterial potensial untuk regenerasi tulang.

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
			CTNTs scaffold selanjutnya mengalami adsorpsi 24 jam dalam magnesium klorida ($MgCl_2$) larutan 0,5 mM, 1 mM, 2,5 mM, dan 5 mM pada pH fisiologis.	maksimum CTNT untuk Mg^{2+} ion adalah 8,8 mg/g scaffold. Isoterm adsorpsinya cocok dengan isoterm Langmuir dengan menunjukkan R^2 sebesar 0,9995. Pewarnaan berbasis fluoresensi, viabilitas sel, dan uji ALP menunjukkan bahwa Mg yang teradsorpsi $^{2+}$ ion ke scaffold CTNT membantu mendorong proliferasi yang lebih tinggi dan lebih awal diferensiasi sel MG63 dibandingkan perancah tanpa Mg^{2+} ion yang bergantung pada konsentrasi.	
Tang dkk. (2019)	In vitro In vivo	Untuk menggambarkan lapisan film polielektrolit multilapis (PEM) yang dirakit sendiri dengan imobilisasi lokal kalsitriol (Cal) dalam scaffold bifasik Ca fosfat (BCP) untuk mendorong regenerasi tulang osteoporosis dengan menargetkan	Perubahan fungsional yang diinduksi OVX pada BMSC, efek perlindungan Cal, dan mekanisme potensial semuanya telah diverifikasi. Film PEM yang terdiri dari HAP dan CTS disiapkan melalui perakitan	Diferensiasi osteogenik, adhesi, dan kemampuan proliferasi sel induk mesenkim yang berasal dari sumsum tulang kelinci (rBMSCs) OVX menurun, sesuai dengan defisiensi CaSR. Cal secara efektif mengaktifkan osteogenesis dalam OVXrBMSCs ini dengan mengikat	komposit scaffold berdasarkan BCP, dibuat dengan sederhana menggabungkan lapisan PEM biomimetik dan imobilisasi Cal, dapat berguna secara klinis dan memiliki keuntungan yang nyata sebagai pilihan pengobatan

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
		reseptor penginderaan Ca (CaSR).	mandiri lapis demi lapis. Morfologi, perilaku pertumbuhan, dan kemampuan retensi obat dari perancah komposit adalah dikarakterisasi, dan biokompatibilitas serta kemanjuran terapeutiknya untuk regenerasi tulang dieksplorasi secara sistematis <i>secara in vitro</i> Dan <i>secara in vivo</i>	secara spesifik pada kantong aktif struktur CaSR, sementara lapisan PEM biomimetik menambah proliferasi dan adhesi OVXrBMSCs karena struktur permukaannya yang berpori. PEM yang dilapisi scaffold menunjukkan keuntungan dalam pemuatan dan retensi Cal, terutama pada konsentrasi obat yang lebih rendah. HAP/CTS PEM bersinergi dengan Cal untuk meningkatkan proliferasi, adhesi, dan osteogenesis OVX-rBMSCs serta mendorong regenerasi tulang dan degradasi BCP dalam model cacat tulang calvarial tikus OVX berukuran kritis.	yang ditargetkan, siap pakai, dan bebas sel untuk regenerasi tulang osteoporosis.
Peng dkk. (2019)	In vitro	Untuk membuat Ca silikat Lamesoporous (MCS)/CTS perancah sebagai regenerasi tulang baru dan untuk membandingkan dengan	• Persiapan nanopartikel MCS dan La-MCS • Persiapan La-MCS/CTS scaffold • <i>Secara in vitro</i> dilakukan analisis pada BMSC	Khususnya, La3+ion dalam perancah tulang sangat menginduksi osteogenik diferensiasi rBMSC melalui aktivasi jalur sinyal TGF. Model tikus defek calvarial	Perancah La-MCS/CTS menunjukkan kemampuan yang menonjol dalam osteogenesis dan tulang regenerasi, yang menunjukkan

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
		MCS/CTS scaffold murni.	• Model dengan defek calvarial berukuran kritis bilateral • Pemindaian mikroCT • Pewarnaan imunofluoresensi dan histologi	berukuran kritis lebih lanjut mengungkapkan scaffold La-MCS/CTS dipromosikan secara signifikan menghasilkan regenerasi tulang baru dibandingkan dengan perancah MCS/CTS murni	potensi penerapannya untuk terapi kerusakan tulang.
Carvalho dkk. (2012)	In vivo	Untuk mendukung proses diferensiasi sel induk mesenkim adiposa tikus (ADSCs) menjadi osteoblast <i>secara in vitro</i> oleh scaffold 3D berpori	Sintesis scaffold CTS gelatin-kondroitin 3D Pemindaian mikroskop elektron Isolasi ADSC Diferensiasi osteogenik ADSC dalam kultur 2D dan 3D Analisis aliran-sitometri Uji viabilitas sel Aktivitas ALP Implan subkutan dan cacat calvarial yang kritis pada tikus	Diferensiasi osteogenik ADSC ditingkatkan dalam kultur 3D seperti yang ditunjukkan oleh uji viabilitas sel dan analisis produksi ALP dan kolagen selama 3 minggu kultur. Selama 2 dan 3 minggu pembiakan, penanda tulang, seperti osteopontin dan osteokalsin, terdeteksi oleh PCR analisis. Respon inflamasi ringan diamati selama 5 minggu pada tikus. Pengurangan serat matriks oleh sel reabsorpsi dan pembentukan pembuluh darah baru diamati selama periode ini. Tidak ada peradangan yang diamati.	Struktur 3D CTS-gelatin-kondroitin meningkatkan proliferasi sel, yang mungkin berguna dalam pengembangan biomaterial untuk stimulasi sel induk dewasa dalam rekayasa jaringan tulang.

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
				Sejumlah kecil perbaikan tulang diamati setelah implan dipasang di defek pada calvaria selama 5 minggu. Imunohistokimia mengungkapkan keberadaan EGFPs ADSCs dalam matriks ekstraseluler yang baru terbentuk.	
Cancian dkk. (2016)	In vitro	Untuk mengembangkan hidrogel CTS termosensitif yang mengandung CNT ber dinding tunggal dan ber dinding banyak yang stabil, dimana pengaruhnya terhadap sifat mekanik/fisiologi, pola pengendapan Ca dan kemampuannya menyediakan platform untuk pelepasan obat protein yang terkontrol	Formulasi hidrogel dan analisis tekstur Karakterisasi hidrogel beku-kering dan uji kalsifikasi secara in vitro	Ditemukan bahwa penambahan CNT mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap waktu transisi sol-gel dan meningkatkan waktu transisi sol-gel secara signifikan terhadap ketahanan kompresi untuk hidrogel. Secara in vitro studi kalsifikasi mengungkapkan bahwa CNT memainkan peran utama dalam susunan spasial endapan Ca yang baru terbentuk pada material komposit yang diteliti.	CNT juga terbukti menjadi kunci dalam menjamin pengendapan garam yang homogen yang menunjukkan bahwa mereka dapat digunakan untuk mineralisasi scaffold yang dipandu untuk regenerasi tulang. Gel juga mempunyai potensi sebagai platform untuk penghantaran obat jangka panjang.
García-García dkk. (2019)	In vitro In vivo	Untuk mempelajari pengaruh laju pelepasan 17β-	Persiapan dan karakterisasi mikrosfer	Secara in vitro kinetika pelepasan 17β-estradiol yang	Terlepas dari peran 17β-estradiol pada proses

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
		estradiol terhadap efek osteogenik yang diinduksi oleh (BMP-2) dilepaskan dari mikrosfer asam poli laktat-koglikolat) (PLGA) dalam sistem inti setelah implantasi sistem seperti sandwich pada defek kritis tikus akibat osteoporosis.	Fabrikasi dan karakterisasi film Uji pelepasan secara in vitro 125 I-BMP-2 uji pelepasan secara info Evaluasi Histologi, imunohistokimia, dan histomorfometri	dilarutkan dalam matriks polimer mikrosfer bergantung pada koefisien partisi. 17β-estradiol dilepaskan secara perlahan dari sistem inti menggunakan pelepasan air sedang (Defektif= 5,58$\cdot$10$\cdot$16$\pm$ 9.81$\cdot$10$\cdot$17M2S-1) dan sangat cepat dalam metanol (MeOH)-air (50:50). Sistem inti hidrogel dapat disuntikkan, dan sekitar 83% dari dosis yang dimuat dapat disuntikkan dikeluarkan secara merata melalui jarum 20G. Sistem yang ditempatkan pada defek mudah disesuaikan dengan bentuk defek dan setelah 12 minggu sekitar 50% dari kerusakan tersebut diisi kembali dengan jaringan baru. Tidak ada perbedaan yang diamati antara kelompok osteoporosis dan non-osteoporosis.	remodeling tulang, hasil yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa pengamatan regenerasi hanya disebabkan oleh laju pelepasan BMP-2 yang terkontrol dari mikrosfer PLGA.

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
Xing dkk. (2017)	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	Untuk mengetahui bahan implan baru yang mengandung faktor pertumbuhan mirip insulin 1 (IGF1), yang berpotensi meningkatkan tingkat keberhasilan implan, mempercepat proses terjadinya osseointegrasi, dan memberikan strategi baru untuk perawatan implan di pasien osteoporosis	Persiapan PEM yang dibiofungsikan dengan polietilenimin. Sifat fisik dan kimia PEM yang dibiofungsikan, karakteristik biologis BMSC. Indeks uji korelasi kontak implan tulang terdeteksi dan dianalisis <i>secara in vitro</i> Dan <i>secara in vivo</i> menggunakan model tikus osteoporosis.	Lapisan PEM yang diisi dengan implan IGF1 (TNS- PEM-IGF1-100) mendorong tahap awal adhesi BMSC. Di bawah pengaruh cairan tubuh, lapisan aktif terlihat pelepasan faktor pertumbuhan yang berkelanjutan, yang pada gilirannya mendorong proliferasi dan diferensiasi BMSC dan matriks ekstraseluler Pembentukan tulang baru meningkat seiring waktu pada masing-masing kelompok, sedangkan kelompok TNS-PEM-IGF1-100 menunjukkan ketebalan dan kepadatan tulang tertinggi. kontinuitas.	Implan baru TNS-PEM-IGF1-100 dapat meningkatkan osseointegrasi pada kondisi osteoporosis <i>secara in vivo</i> Dan <i>secara in vitro</i> dan memberikan strategi baru untuk perbaikan implan pada pasien osteoporosis.
Takanch e dkk. (2018)	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	Untuk mendemonstrasikan peran implan CTS-G nanoplatelet (GNP)/c-myb-coated titanium (Ti) dalam osseointegrasi dan pembentukan tulang di	Kultur sel sel MC-3T3 E1 Persiapan GNP yang distabilkan CTS (Asam deoksiribonukleat) Persiapan kompleks DNA dan pemuatan ch-GNPs/	DNA plasmid/c-myb yang terkonjugasi dengan CTS-GNPs/c-myb mendorong osteogenesis dan menghambat osteoklastogenesis dalam sel MC-3T3 E1.	Temuan kami menunjukkan bahwa c-myb yang dihasilkan oleh CTS-GNPs mendukung osseointegrasi gigi implan bahkan dalam kondisi osteoporosis. c-myb mungkin

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
		kondisi osteoporosis, serta kemungkinannya mekanisme molekuler cmyb pada model tikus osteoporosis yang diinduksi OVX.	DNA ke permukaan Ti dan sekrup mini Analisis Western blot Persiapan protein sitosol dan nuklir Aktivitas ALP dan pewarnaan alizarin merah Pewarnaan asam fosfatase tahan tartrat (TRAP). Tingkat serum penanda tulang Penelitian pada hewan menggunakan tikus betina SD berumur 8 minggu Analisis mikroCT Histologi dan pewarnaan imunohistokimia (IHC).	CTS-GNPs/c-myb melibatkan pengurangan faktor inti sel T teraktivasi 1, c-Fos, dan asam tahan tartrat osteoklas berinti banyak fosfatase-positif dalam RANKL menstimulasi sumsum tulang makrofag. <i>Secara in vivo</i> Hasilnya menunjukkan implan Ti berlapis CTS-GNP/c-myb meningkatkan volume dan kepadatan tulang yang baru terbentuk serta osseointegrasi implan gigi dengan tulang melalui pemeriksaan tomografi komputer mikro setelah osteoporosis yang diinduksi oleh OVX. Analisis imunohistokimia menunjukkan peningkatan c-myb ekspresi dan peningkatan regulasi protein morfogenik tulang, osteoprotegerin dan EphB4, serta penurunan regulasi RANKL oleh Ch-GNP/c-myb-	dapat diterapkan untuk mendukung integrasi dan pengobatan implan gigi pada penyakit kerusakan tulang yang bergantung pada usia.

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
				implan Ti berlapis. Pewarnaan hematoxylin dan Eosin menunjukkan pembentukan tulang baru dengan implan Ti berlapis Ch-GNP/c-myb.	
Zhang dkk. (2015)	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	Untuk mengembangkan dan mengevaluasi efek alkali termal (TA) - CTS/ siCkip-1 pada BMSc primer dan <i>secara in vivo</i> osseointegrasi dalam model tikus osteoporosis	• Penyerapan intraseluler kompleks CTS/siR dan gen efisiensi knockdown dinilai dengan BMSC serta protein fluoresen hijau (GFP) yang mengekspresikan sel H1299. • <i>Secara in vitro</i> aktivitas osteogenik penargetan TA-CTS/siCkip-1 Ckip-1 dinilai dengan MSC. • <i>secara in vivo</i> osseointegrasi TA-CTS/ siCkip-1 dinilai pada model tikus osteoporosis.	TA-CTS/siR menunjukkan efisiensi pengiriman siRNA dan efek penonaktifan gen yang sangat baik. TA-CTS/ siCkip-1 meningkatkan secara signifikan <i>secara in vitro</i> diferensiasi osteogenik MSC dalam hal peningkatan ALP dan produk kolagen serta mineralisasi matriks ekstraseluler dan menyebabkan peningkatan secara dramatis <i>secara in vivo</i> osseointegrasi dalam model tikus osteoporosis, menunjukkan potensi klinis yang menjanjikan untuk penerapan kondisi osteoporosis.	TA-CTS/siR mungkin merupakan pendekatan umum untuk mengembangkan implan Ti tingkat lanjut menargetkan mekanisme molekuler tertentu.
Wang dkk. (2020)	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	Untuk mengevaluasi efek misel N-oktil-Osulfonil	• Uji viabilitas sel pada makrofag	NSC-OST menghambat pembentukan dan aktivitas resorpsi	NSC-OST dapat menekan osteoklastogenesis yang dipicu

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
		CTS (NSC-OST) yang mengandung Osthon pada pembentukan dan aktivitas osteoklas (OC).	sumsum tulang (BMM) • Uji Osteoklastogenesis • Uji resorpsi tulang • Western blotting • Uji gen reporter Luciferase • Tikus dengan SD betina untuk studi in vivo • Uji imunosorben terkait-enzim (ELISA) • Uji biomekanik MicroCT • Tes histopatologi • Reaksi berantai polimerase kuantitatif waktu nyata (RT-PCR) dan Imunohistokimia	osteoklas melalui penggunaan sistem kultur osteoklas yang diturunkan dari BMM <i>secara in vitro</i> , daripada mempengaruhi kelangsungan hidup sel. NSC-OST menghambat pembentukan osteoklas, resorpsi HAP dan ekspresi protein penanda osteoklas yang diinduksi oleh RANKL. NSC-OST menekan aktivitas transkripsi NFATc1 dan aktivasi jalur pensinyalan NF- κ B. NSC-OST dapat melemahkan pengeroposan tulang pada tikus OVX melalui menghambat osteoklastogenesis	oleh RANKL dan mencegah pengeroposan tulang akibat ovariectomi pada tikus dan dapat dianggap sebagai obat anti-osteoporosis yang lebih aman dan efektif dibandingkan OST.
Williams dkk. (2018)	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	Untuk mengembangkan Solutol PTH 1-34® Formulasi semprotan intranasal berbasis HS15 dengan bioaktivitas, farmakokinetik dan yang sesuai bioavailabilitas untuk pengobatan osteoporosis pada pasien.	PTH 1-34 yang disintesis secara kimia. <i>Secara in vitro</i> Tingkat cAMP intraseluler sel Saos-2 seperti osteoblas manusia digunakan untuk menentukan bioaktivitas formulasi	NSC-OST lebih efektif dibandingkan OST dalam beberapa bagian hasil Suntikan PTH 1-34 secara signifikan mengurangi kejadian patah tulang. PTH 1-34 yang disintesis	Bioaktivitas formulasi semprotan hidung <i>secara in vitro</i> tidak terpengaruh oleh penambahan penyerapan semprotan hidung yang diselidiki, dan Solutol® Formulasi semprotan hidung HS15 memiliki profil

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
			semprotan hidung PTH 1-34. Studi farmakokinetik praklinis menggunakan tikus dengan SD jantan	secara kimia memiliki EC50 0,76nM. Peningkat penyerapan polietilen glikol (15)-hidroksistearat (Solutol® HS15), poloxamer 407, CTS atau natrium hyaluronate tidak mengurangi bioaktivitas PTH 1-34 dalam waktu <i>secara in vitro</i> model kultur sel (hal >0,05). Pada tikus SD tanpa penambah penyerapan, penyerapan PTH 1-34 ke dalam darah melalui pengiriman intranasal menghasilkan Cmax 2,1±0,5ng/ml dibandingkan dengan 13,7±1,6ng/ml dengan Solutol® Peningkat HS15 (p=0,016) dan Cmax 14.8 ± 8ng/ml dalam suntikan subkutan.	farmakokinetik yang setara dengan injeksi subkutan pada model tikus. Solusinya® Oleh karena itu formulasi HS15 menunjukkan potensi sebagai formulasi semprotan hidung PTH 1-34 untuk pengobatan osteoporosis.
Wang dan Li (2018)	<i>In vitro</i>	Untuk mengembangkan siklodekstrin/CTS /NP (ccNPs) untuk pemberian oral raloxifene (RXF) untuk meningkatkan	Persiapan ccNP yang dimuat RXF (RXF-ccNPs) dengan memasukkan siklodekstrin diikuti dengan kompleksasi dengan CTS.	RXF-ccNP yang dihasilkan berukuran sekitar 165 nm dengan distribusi sempit. Bioavailabilitas oral RXF ditingkatkan sebesar 2,6 kali lipat	CCNP berdasarkan sulfobutylether-β-cyclodextrin dan oligoCTS adalah sarana yang menjanjikan untuk memberikan

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
		bioavailabilitas oral	Karakterisasi RXF-ccNP berdasarkan ukuran partikel, morfologi dan pelepasan obat secara <i>in vitro</i> Evaluasi kemanjuran pemberian oral dan potensi transportasi transepitel dengan farmakokinetik, <i>in situ single-pass</i> perfusi usus, serapan seluler dan pencitraan <i>ex vivo</i> .	melalui ccNP dibandingkan dengan suspensi RXF pada tikus. RXF-ccNPs dapat meningkatkan permeabilitas usus RXF, meningkatkan serapan seluler RXF dan memfasilitasi pengangkutannya melintasi epitel serap.	obat yang sulit larut dalam air secara oral melebihi RXF.
Li dkk. (2020)	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	Untuk mengembangkan patch transdermal melalui sonophoresis untuk pengobatan osteoporosis.	Persiapan CTS-alendronate (ALN)-NP. Perumusan tambalan Pengembangan patch transdermal yang mengandung CS-ALN-NP <i>Studi in vitro</i> permeasi kulit menggunakan kulit tikus yang dirawat secara ultrasonik	Formulasi yang dioptimalkan menunjukkan pelepasan obat sebesar 82,7% selama periode 12 jam dengan enkapsulasi 99,54% efisiensi (EE). Formulasi patch yang dioptimalkan ditemukan dapat diterima. Kandungan obatnya ditemukan 99,66 $\pm$ 0,9 % dengan 69,44% perembesan obat melalui kulit tikus. Formulasi TP3 mempunyai kandungan obat sebesar 99,96% yang merupakan formulasi tertinggi	Temuan ini (meningkatkan permeasi kulit, meningkatkan bioavailability dan penekanan kadar Ca plasma) mengenai sistem pengiriman transdermal menunjukkan pendekatan yang menjanjikan untuk pengobatan osteoporosis.

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
				diantara seluruh formulasi. Peningkatan bioavailabilitas hampir enam kali lipat diamati ketika ALN digunakan dalam bentuk NP pada patch transdermal yang digunakan dengan sonophoresis. Selama periode 7 hari, konsentrasi Ca plasma pada model tikus diturunkan dari 16 mg/dl menjadi 4 mg/dl (4 kali) pada kelompok tikus yang diobati dengan patch transdermal yang mengandung CS-ALN-NP sedangkan konsentrasinya hanya turun. hingga 12 mg/dl jika patch transdermal mengandung ALN murni.	
Lv dkk. (2018)	<i>In vitro</i>	Untuk menggambarkan sifat-sifat pelepasan berkelanjutan formulasi hormon paratiroid manusia rekombinan (rhPTH) menggunakan CTS dan	Mikropartikel CTS, fibroin sutra, dan CTS/fibroin sutra yang mengandung rhPTH dipelajari dengan SEM untuk memperkirakan ukuran partikel dan	Morfologi permukaan dari formulasi akhir menunjukkan tidak adanya kristal murni CTS dan fibroin sutra dalam formulasi akhir dan FTIR menunjukkan interaksi elektrostatis antara CTS dan	Formulasi mikropartikel fibroin/CTS sutra yang mengandung rhPTH terbukti stabil dan memberikan pelepasan rhPTH yang berkelanjutan, mendukung peran

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
		mikropartikel fibroin sutra sebagai pembawa untuk penghantaran obat, dikembangkan dengan metode spraydrying.	morfologi permukaan. <i>Secara in vitro</i> pelepasan rhPTH digunakan untuk menilai perkembangan nya perumusan. Efek dari proses pengeringan semprot dinilai dengan difraksi sinar-X bubuk (PXR) dari mikropartikel. Kuantifikasi rhPTH yang dirilis dilakukan oleh ELISA. Spektroskopi inframerah transformasi Fourier (FTIR) digunakan untuk mengetahui perbedaan frekuensi penyerapan sampel.	fibroin sutra, yang didukung oleh PXR. Mikropartikel CTS/fibroin sutra yang diberi rhPTH menunjukkan efisiensi penyerapan berkisar antara 60,36-72,99% dengan profil pelepasan rhPTH 50% pada pH 7,5 dalam waktu 24 jam. Tidak ada agregasi partikel dalam darah dan sedikit hemolisis, menunjukkan stabilitas yang mengandung rhPTH mikropartikel.	potensial formulasi ini dalam pengobatan penyakit tulang termasuk osteoporosis dan patah tulang.
Chen dkk. (2014)	In vitro	Untuk mengembangkan bentuk sediaan gastroretentif baru (GRDF), berdasarkan kombinasi CTS dengan pelarut (asam asetat, laktat, malat, suksinat, dan asam sitrat) dan hidroksietil	Pembuatan dan karakterisasi tablet GRDF Penentuan rasio pembengkakan Evaluasi kapasitas floating Studi pelepasan obat secara in vitro	Rasio pembengkakan dari formulasi yang mengandung CTS dengan berat molekul tinggi (MW) lebih rendah dibandingkan CTS dengan MW rendah atau sedang ketika garam dibentuk dengan bahan apa pun.	GRDF mendapat manfaat secara oral obat yang diberikan dengan meningkatkan bioavailabilitas, kemanjuran terapeutik, dan kemungkinan pengurangan dosis.

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
		selulosa (HEC), untuk memperpanjang waktu retensi lambung alendronate di saluran cerna bagian atas (GIT) dengan pola pelepasan obat yang berkelanjutan.		melawan asam kecuali asam asetat. Peringkat penurunan tingkat pembengkakan adalah: CTS-sitrat > CTS-malat>CTS-laktat> CTS-suksinat>CTS-asetat. Korelasi negatif ditemukan antara pKa masing-masing asam penangkal dan laju pembengkakan. Tingkat pembengkakan meningkat jika garam CTS bersifat asam dengan kandungan air lebih rendah dimasukkan, sementara itu menjadi lebih lambat ketika kekerasan tablet lebih tinggi atau gaya kompresi untuk membentuk tablet meningkat.	
Mukherjee dkk. (2019)	Di dalam vivo	Untuk mengembangkan kompresi padat secara langsung pada mukoadhesif pamidronate disodium untuk pengobatan osteoporosis pada model	Campuran hidroksipropilmetil selulosa (HPMC-4KM) dan CTS thiolated digunakan sebagai polimer biodegradable untuk formulasi compacts mukoadhesif.	Karakterisasi analitis mengungkapkan pembentukan kompleks polielektrolit antara obat dan polimer karena gaya kompresi yang tinggi.	Potensi penggunaan compacts mukoadhesif berbasis polimer thiolated sebagai taktik rasional untuk terapi osteoporosis.

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
		tikus yang diinduksi oleh metilprednisolone.	Karakterisasi obat-polimer dilakukan dengan teknik analisis yang berbeda seperti FTIR, differential scanning calorimetry (DSC), dan XRD. Analisis biokimia, histopatologi dan analisis SEM pada daerah trabekuler tulang paha dilakukan untuk memastikan induksi dan pengobatan osteoporosis	Formulasi T2 dengan rasio CTS/ HPMC-4KM tiolasi 0,5/1 menunjukkan pembengkakan yang unggul, sifat mukoadhesif, dan pelepasan obat yang lebih baik dan diselidiki <i>secara in vivo</i> . Formulasi padat meningkatkan tingkat biomarker serum dan tulang sifat mikroarsitektur pada tikus osteoporosis seperti yang diungkapkan oleh histopatologi dan analisis SEM.	
Meiron dkk. (2011)	In vivo	Untuk membandingkan kelarutan dan bioavailabilitas Ca karbonat amorf (ACC) berbasis produk dibandingkan kristal Ca karbonat (CCC).	Sintesis ACC dan CCC untuk analisis analitik. Analisis analitik Ca karbonat. Uji disolusi. Pembuatan kapsul Ca karbonat berlabel radiolabel. Pemberian kapsul gelatin pada tikus wistar jantan umur 2 bulan. Analisis feses, urin dan femur.	Hasilnya menunjukkan bahwa ACC dan ACC-C lebih mudah larut dibandingkan CCC. Analisis serum Ca menunjukkan bahwa penyerapan Ca dari sediaan ACC dan ACC-C hingga 40% lebih tinggi dibandingkan dari CCC, Retensi ACC dan ACC-C 26,5% lebih tinggi dibandingkan CCC. Ca yang diserap pada tulang paha tikus	Peningkatan kelarutan dan bioavailabilitas ACC dibandingkan CCC. Penggunaan ACC yang stabil sebagai sumber makanan dengan ketersediaan hayati tinggi untuk Ca diusulkan berdasarkan temuan penelitian ini.

Penulis	Kategori	Objektif	Metode	Temuan	Kesimpulan
				yang diberikan ACC adalah 30% lebih tinggi dibandingkan pada hewan yang diberi CCC	

Nanopartikel (NPs) digunakan sebagai alternatif untuk pengobatan yang ditargetkan pada tulang. Karena ukurannya yang kecil dan kemiripan dengan komponen yang ditemukan dalam jaringan, bahan nanopartikel dapat dikirim ke jaringan, organel, atau sel tertentu di mana obat akan dilepaskan. Keuntungan dari NPs adalah menyediakan kapasitas obat yang besar terkait ukuran, meningkatkan kelarutan, memberikan stabilitas obat, mengurangi efek samping, dan meningkatkan transportasi untuk internalisasi obat dalam organel tertentu. Keuntungan lain adalah bahwa NPs, dapat membantu untuk mengaktifkan fungsi dalam sel, meningkatkan mineralisasi, dan merangsang pertumbuhan tulang. Dengan demikian, nanoteknologi dapat mengatasi keterbatasan terapi tulang konvensional. Penggunaan Drugs Delivery system (DDS) berbasis nano menawarkan potensi untuk meningkatkan kelarutan dan stabilitas obat di dalam tubuh manusia dengan memberikan pelindung yang biokompatibel. Selain itu, kapasitas pemuatan obat bisa dikontrol dengan cermat melalui penyesuaian ukuran DDS. DDS ini memiliki karakteristik yang melekat yang memfasilitasi pengaturan laju pelepasan obat (Dayanandan et al., 2023)

Kalsium dengan ukuran partikel nano memiliki bioavailabilitas yang lebih tinggi dibandingkan kalsium konvensional, sehingga lebih efektif dalam meningkatkan kualitas kesehatan tulang secara keseluruhan. Sebagai contoh, sebuah studi menunjukkan bahwa susu yang diperkaya dengan nanokalsium karbonat memiliki bioavailabilitas kalsium yang lebih baik dibandingkan susu dengan kalsium sitrat. Peningkatan bioavailabilitas ini disebabkan oleh ukuran partikel yang lebih kecil, yang memungkinkan penyerapan lebih efisien dalam tubuh. (Dayanandan et al., 2023)

Nanokalsium, khususnya dalam bentuk nanokalsium karbonat (nano-CaCO_3), diproduksi melalui beberapa metode sintesis canggih, yang masing-masing dirancang untuk mengontrol ukuran, bentuk, dan sifat permukaan partikel untuk aplikasi tertentu. Berikut adalah beberapa metode umum untuk mengubah kalsium menjadi nanokalsium diantaranya metode presipitasi, metode mikroemulsi, sintesis sonokimia, teknologi fluida superkritik, dan biomineralisasi. Salah satu diantaranya adalah metode presipitasi. Merupakan metode yang banyak digunakan di mana garam kalsium (seperti kalsium klorida) bereaksi dengan garam karbonat (seperti natrium karbonat) dalam larutan air untuk membentuk nano-CaCO_3 . Faktor-faktor seperti suhu, pH, dan keberadaan surfaktan memengaruhi ukuran dan morfologi nanopartikel. (Fu et al., 2023)

Kitosan ketika diubah menjadi nanokitosan, ia memiliki sifat antimikroba, kemampuan mengikat lemak, dan potensial untuk meningkatkan penyerapan mineral. Nanokitosan dapat berfungsi sebagai pengantar nutrisi yang efisien, membantu dalam transportasi

kalsium ke tulang, serta memiliki efek positif pada metabolisme lemak yang bisa mempengaruhi komposisi tubuh. (Ke et al., 2021), (Kravanja et al., 2019), (El-Araby et al., 2023)

Nutrisi yang kaya akan kandungan kalsium maupun kitosan banyak ditemukan dalam sumber pangan kita sehari-hari. Salah satu sumber daya alam yang menjadi sumber pangan yang kaya akan nutrisi adalah Sumber daya perikanan. (Agus et al., 2018) Beberapa manfaat sumber daya perikanan bagi kehidupan masyarakat, antara lain memenuhi kebutuhan pangan dan gizi masyarakat karena ikan merupakan lauk sumber protein hewani yang baik bagi perkembangan tubuh manusia. Dengan begitu, generasi penerus bangsa menjadi lebih sehat dan cerdas.

Ikan teri merupakan salah satu sumber daya perikanan kualitas tinggi karena seluruh bagian tubuhnya dapat dikonsumsi. Ikan teri juga banyak menjadi sumber penghasilan bagi masyarakat yang hidup di daerah perairan. (Agus et al., 2018) Ikan kecil ini ternyata memiliki kandungan nutrisi yang tinggi. Ikan teri sangat tinggi kandungan proteinnya, yaitu 42 g/100 g teri kering asin. Protein merupakan makanan yang mengandung banyak asam amino sebagai unsur pembangun struktur jaringan tubuh. Protein ikan teri mengandung sejumlah asam amino esensial, yaitu asam amino yang tidak dapat dibentuk di dalam tubuh, tetapi harus berasal dari makanan. Selain itu, ikan teri juga mengandung beberapa kandungan nutrisi diantaranya: lemak 1 gr; kalsium 500 mg; fosfor 500 mg; besi 1 mg; Vitamin A 47; dan Vitamin B 0.1 mg. (Setia Budi et al., 2017)

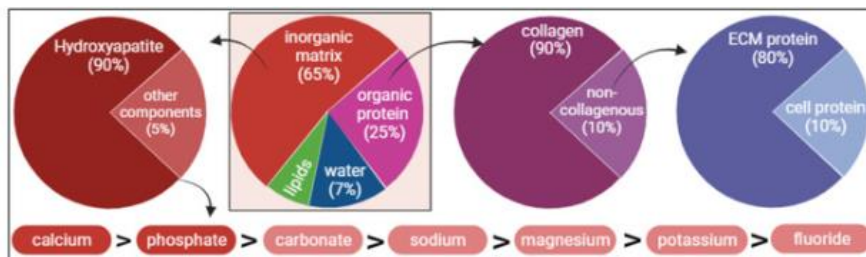
Salah satu produk olahan perikanan lainnya adalah aktifitas pengambilan daging udang. Industri tersebut dapat menyebabkan banyaknya cangkang udang yang terbuang, jumlahnya dapat mencapai 30-40%. Terbukti data badan pusat statistik bahwa ekspor udang yang semakin tahun meningkat dari tahun 2012-2016 yaitu 10,40% sampai tahun 2017 tetap mengalami kenaikan sampai 11,30%. Cangkang udang mengandung protein, mineral dan kitin. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa kitin dapat diproses menjadi kitosan (biopolimer linier alami) yang dapat digunakan dalam berbagai bidang. Kitosan salah satu produk karbohidrat yang berfungsi untuk antibakteri dan antijamur. Kitosan juga memiliki antioksidan karena terdapat interaksi OH-dengan H + dari NH₃ (Elystia et al., 2022)

Penelitian ini ingin membuktikan melalui data laboratoris tentang bagaimana pemanfaatan kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang terhadap status Kesehatan tulang pada anak. Diharapkan bahwa kombinasi dari dua sumber daya perikanan ini dapat menjadi sumber gizi alternatif untuk menghasilkan asupan mineral yang berkualitas, murah dan mudah diperoleh masyarakat luas sehingga tidak hanya berpotensi dalam meningkatkan status kesehatan tulang pada anak, tetapi juga memperbaiki komposisi tubuh secara keseluruhan, sehingga anak-anak dapat berkembang dengan optimal.

1.2 Landasan Teori

1.2.1 Tulang

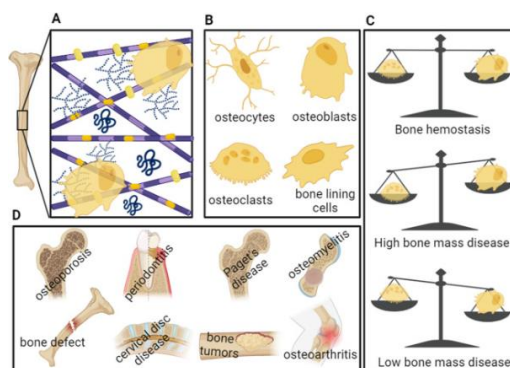
Tulang adalah struktur hidup berupa matriks ekstraseluler yang terdiri dari 25 – 30 % matriks organik, 65 – 70 % matriks anorganik, 5 – 10 % kadar air, dan 1 – 3 % lipid. (Y. A. Lee et al., 2022)



Gambar 1. Komposisi Kimia dari Matriks Tulang

Tulang adalah struktur hidup yang sangat penting dalam tubuh manusia dan banyak makhluk lainnya. Tulang bukan hanya sekedar rangkaian keras yang menopang tubuh, tetapi juga organ dinamis yang mengalami pertumbuhan dan perkembangan serta terus mengalami perubahan dan perbaikan sebagai proses adaptasi terhadap beban mekanis dan menjaga keseimbangan kalsium dalam tubuh, berperan dalam fungsi hematopoietik sebagai tempat pembentukan sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit dengan jaringan yang terovaskularisasi, serta merupakan sumber metabolisme mineral khususnya kalsium dan fosfat. (Grabowski, 2015)

Tulang tersusun atas matriks tulang dan sel – sel antara lain: osteoblast, osteoklas, osteosit, sel pelapis tulang dan jenis sel lain lainnya seperti sel induk mesenkim, sel endotel vascular, dan sel system kekebalan (sel T dan makrofag) yang penting dalam metabolisme tulang. (Tercanlı Alkış et al., 2022)



Gambar 2. (A) Matriks tulang terdiri dari kolagen termineralisasi, polisakarida, protein non-kolagen, dan sel hidup. (B) Tulang mengandung osteosit, osteoklas, osteoblas, dan sel pelapis tulang. (C) Ketidakseimbangan antara proses pembentukan dan pemecahan tulang

Mineralisasi matriks terjadi melalui endapan kalsium dan fosfat, yang memberikan kekuatan pada struktur tulang. (Y. A. Lee et al., 2022). Endapan mineral ini dimulai sejak tahap embrio dimana kandungan mineral tulang meningkat 40 kali lipat sejak lahir hingga dewasa. Kepadatan mineral tulang pada lumbal menunjukkan peningkatan terbesar pada usia 11 hingga 13 tahun pada anak perempuan dan 12 hingga 14 tahun pada anak laki-laki. Kepadatan mineral tulang seluruh badan kecuali kepala menunjukkan peningkatan yang relatif lebih kecil pada usia 10 hingga 15 tahun pada anak perempuan dan 10 hingga 18 tahun pada anak laki-laki. (Madhuchani et al., 2023)

Puncak massa tulang adalah jumlah massa tulang yang terakumulasi setelah mencapai kematangan tulang. Masa anak-anak dan masa remaja adalah masa pertumbuhan di mana terjadi peningkatan pesat dan akumulasi massa tulang merupakan periode perkembangan dan pematangan tulang yang signifikan. (Han et al., 2021). Kepadatan tulang meningkat setelah penyatuan lempeng pertumbuhan yang menyebabkan peningkatan massa tulang yang signifikan pada akhir masa pubertas.

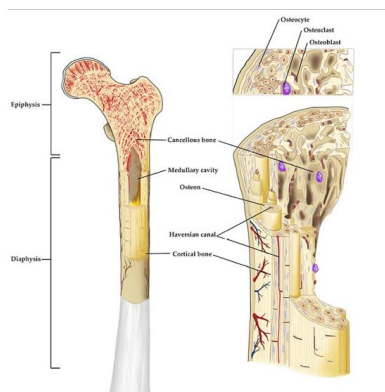
Massa tulang meningkat sekitar 45% selama masa pubertas. Pada akhir masa pubertas, massa tulang mencapai hampir 90% dari massa tulang puncak orang dewasa. Oleh karena itu, meningkatkan massa tulang maksimum selama masa remaja untuk menghindari faktor risiko yang terkait dengan hilangnya massa tulang di kemudian hari. (Deng et al., 2021)

Tabel 3. Proses Osifikasi Tulang Berdasarkan Usia

Jangka waktu ^[3]	Tulang terpengaruh ^[3]
Bulan ketiga perkembangan janin	Osifikasi pada tulang panjang dimulai
Bulan keempat	Sebagian besar pusat osifikasi primer muncul di diafisis tulang.
Lahir sampai 5 tahun	Pusat osifikasi sekunder muncul di epifisis
5 tahun hingga 12 tahun pada wanita, 5 hingga 14 tahun pada pria	Osifikasi menyebar dengan cepat dari pusat osifikasi dan berbagai tulang menjadi mengeras.
17 hingga 20 tahun	Tulang ekstremitas atas dan tulang belikat menjadi mengeras sepenuhnya
18 hingga 23 tahun	Tulang ekstremitas bawah dan os coxae menjadi mengeras sepenuhnya
23 hingga 26 tahun	Tulang tulang dada, tulang selangka, dan tulang belakang menjadi mengeras sepenuhnya
Pada usia 25 tahun	Hampir semua tulang mengalami pengerasan sempurna

Perbedaan struktur terdapat pada keseluruhan sistem tulang, komponen dasar yang membentuk jaringan tulang selalu sama, berkontribusi dengan konsistensi struktural sampai tingkat skala nano. Perilaku mekanik tulang terkait erat dengan struktur pada skala yang berbeda-beda. Terkait dengan sifat mekanik yang dimiliki, tulang merupakan material kompleks dengan tingkatan skala yang heterogen. Distribusi massa tulang mengikuti pola yang sama dengan distribusi pembebanan mekanis pada tulang. Untuk jaringan berpori, pada skala makro, dua jaringan tulang dapat dibedakan dalam hal porositasnya: tulang trabekular berpori, dan tulang kortikal yang kompak. (Oftadeh et al., 2015) Pada sistem tulang panjang terdiri dari 20% tulang trabekuler/konselus pada bagian dalam dan dikelilingi oleh 80% tulang kortikal bagian luar. Meskipun begitu, tulang yang berbeda atau lokasi berbeda di dalam tulang memiliki rasio tulang trabekuler dan kortikal yang berbeda-beda. (Hu & Qin, 2020) Pada

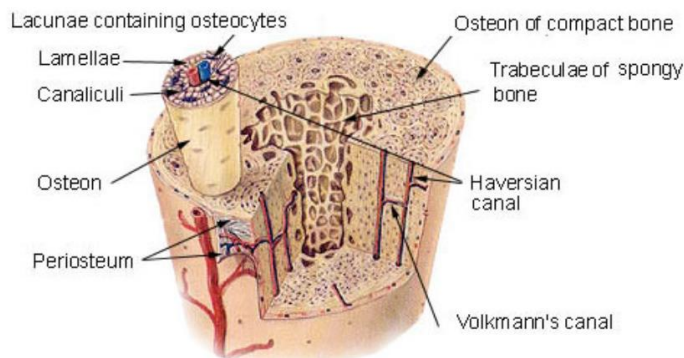
vertebra, rasionya mencapai 1:3 sedangkan caput femur memiliki rasio 1:1. Tulang trabecular berstruktur seperti sponge. Memiliki porositas yang tinggi (40-90%) dan kekuatan tekan yang jauh lebih rendah (0,1-2 GPa). Pori-pori trabecular berisi sum-sum tulang sehingga lebih vascular serta aktif secara metabolic dibanding kortikal. Tulang trabekula terdiri dari lamella yang tersusun membentuk sarang lebah pada plat yang heterogeny. (Tercanlı Alkış et al., 2022). Tulang kortikal lebih padat dimana memiliki modulus elastisitas tinggi dan porositas rendah (>10%) dengan kekuatan tekan lebih tinggi (15-30 GPa). Tulang kortikal terdiri dari lamella yang disebut kanal havers yang kemudian membentuk system osteon dan system vascular menghubungkan osteon dengan lingkungan mikro sekitarnya dan mempertahankan aktivitasnya. (Zimmermann et al., 2016)



Gambar 3. Struktur dan anatomi tulang. Tampilan penampang melintang melalui tulang kortikal dan trabekular (atau kanselus)

Makroporositas tulang terutama terdiri dari kanal pembuluh darah. Pada tulang kortikal, kanal-kanal ini mengisi kurang dari 10% volume jaringan dengan diameter antara 50 dan 100 μm . Kanal pembuluh darah mempengaruhi distribusi tekanan mekanis di dalam jaringan. Pada skala mikro, jaringan yang saling berhubungan disebut jaringan *lacunocanalicular* (LCN), terdistribusi di dalam matriks tulang. LCN ini adalah terdiri dari lakuna elipsoidal mikrometer yang tersebar di dalam jaringan dengan kepadatan lebih tinggi dari 20.000 mm^3 . Semua lakuna ini terhubung bersama melalui kanalikuli, berdiameter 400 nm.. Bahkan dalam skala mikrometer dan nanometer, baik lakuna maupun kanalikuli berperan dalam respons mekanis jaringan. menunjukkan gambaran umum integritas mekanik tulang.(MICHA, 2017)

Compact Bone & Spongy (Cancellous Bone)



Gambar 4. Ilustrasi integritas mekanik tulang. Pada semua skala, elemen struktural tulang berhubungan dengan respon mekanik jaringan

1.2.2 Metabolisme tulang

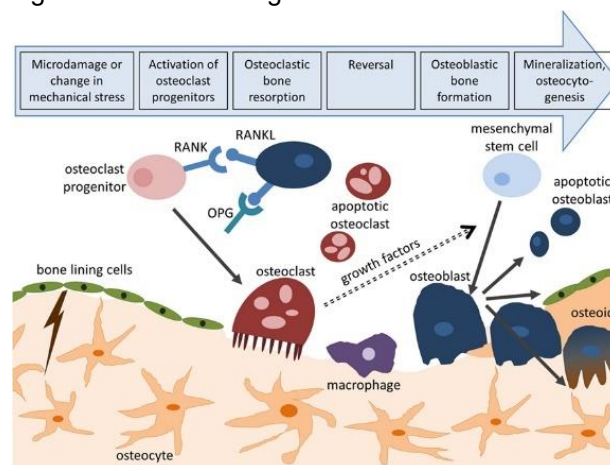
Metabolisme tulang adalah suatu proses yang berkesinambungan yang umumnya menjaga keseimbangan antara resorpsi tulang lama (remodelling) dan modifikasi tulang baru (modelling). Hal ini mempengaruhi kepadatan massa tulang dan berkorelasi signifikan dengan kapasitas dan kualitas tulang. (Adugani et al., 2021)

Sama seperti metabolisme tulang pada umumnya, metabolisme tulang rahang juga sangat berhubungan dengan massa tulang yang mempengaruhi kualitas tulang. Performa pengunyahan yang meningkat selama masa kanak-kanak dan remaja, mencapai puncaknya pada masa dewasa muda, lalu performa mendatar, dan akhirnya menurun. Oleh karena itu, untuk menghambat penurunan kinerja pengunyahan, penting untuk mencapai tingkat kinerja pengunyahan setinggi mungkin selama masa pertumbuhan. Namun, dalam beberapa dekade terakhir, kebiasaan makan anak-anak dan remaja telah mengalami banyak perubahan karena diversifikasi gaya hidup di seluruh dunia. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa frekuensi pengunyahan dan waktu makan telah menurun karena munculnya makanan modern yang lembut, termasuk makanan olahan, yang dapat ditelan dan dicerna dengan cepat. Berkurangnya kinerja pengunyahan menghasilkan rahang bawah yang lebih kecil, massa tulang yang lebih rendah, dan tulang rawan kondilus yang lebih tipis pada hewan yang sedang tumbuh dapat mempengaruhi pertumbuhan tulang rahang, yang mengakibatkan maloklusi. (Fujita & Maki, 2018)

Integritas mekanik tulang dipertahankan melalui keseimbangan antara resorpsi tulang dan pembentukan tulang. Proses dalam mempertahankan homeostasis ini dikenal sebagai proses metabolisme tulang. Metabolisme tulang ini terjadi untuk memungkinkan tulang beradaptasi dengan mekanisme lingkungan dan untuk memperbaiki jaringan yang rusak. Proses metabolisme tulang terdiri dari berbagai peristiwa seluler pada permukaan tulang, 3 sel utama yang terlibat dalam proses

metabolisme tulang antara lain osteoklas, osteoblast, dan osteosit. (Daponte et al., 2024)

- 1) Osteoklas untuk menghilangkan jaringan matriks melalui pelarutan asam mineral tulang dan proteolitik pencernaan matriks organik.
- 2) Osteoblas untuk menyimpan jaringan baru dengan mensintesis cetakan organik untuk nukleasi lebih lanjut dan pertumbuhan mineral tulang.
- 3) Osteosit adalah osteoblas yang telah terperangkap dan tertanam di dalam matriks tulang ekstraseluler yang termineralisasi. Diperkirakan 10 - 30% osteoblas menjadi osteosit. Osteosit mengatur metabolisme tulang melalui regulasi osteoklas dan osteoblas. Osteosit mampu mengetahui perubahan integritas mekanik tulang. Mereka kemudian dapat mengeluarkan dan mengirimkan mediator biokimia ke arah osteoklas dan osteoblas dan karenanya mengontrol metabolisme tulang. Dari jalur pensinyalan osteosit yang berbeda, sensitivitas mekanisnya sangat menentukan untuk memastikan integritas mekanis tulang.



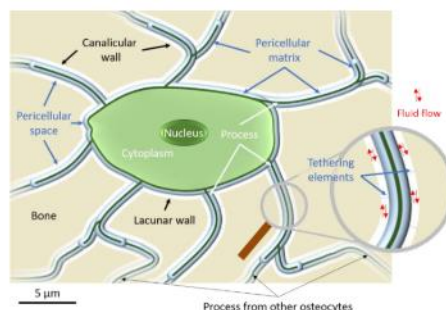
Gambar 5. Proses metabolisme tulang

Jaringan tulang adalah organ nyata yang terus berubah. Tulang bisa bersifat kaku maupun fleksibel. (Niu et al., 2023) Karakteristik ini bergantung pada komposisi material tulang. Tulang tumbuh panjang dengan proses osifikasi endokondral dan bertambah besar dengan proses modelling permukaan periosteal dan endosteal. Secara khusus, pembentukan dan resorpsi memungkinkan peningkatan massa tulang dan perubahan kepadatan jaringan. Lemeng epifisis tulang rawan adalah ruang tempat tulang tumbuh memanjang akibat proliferasi dan pematangan kondrosit, menggantikan jaringan tulang rawan melalui proses konstruksi tulang. (Wan et al., 2021) Untuk memungkinkan proses osifikasi yang lengkap, osteoklas dan osteoblas diarahkan, melalui pembuluh darah, ke dalam jaringan tulang rawan baru. Proses ini berjalan terus-menerus hingga awal usia dua puluhan hingga pertumbuhan lempeng tulang rawan digantikan sepenuhnya oleh tulang baru. Ketika tulang berhenti memanjang, penampangnya terus bertambah untuk beradaptasi dengan beban mekanis yang berbeda dan untuk mengkompensasi pengeroposan tulang. (Proia et al., 2021)

1.2.3 Osteosit

Osteosit merupakan sel yang berada di dalam matriks tulang, membentuk 90% hingga 95% komponen seluler dalam jaringan tulang dewasa yang matang. (Goldring, 2015a) Tipe sel ini berasal dari hasil differensiasi osteoblas yang tidak aktif dan secara morfologi terjadi perubahan bentuk, mengalami rasio inti sitoplasma yang meningkat, mengalami penurunan organel sel, mengalami polarisasi dengan dendrit dan badan sel yang menghubungkan osteosit pada bidang sel permukaan tulang yang sama serta pembuluh darah yang berdekatan. Badan sel osteosit terletak di ruang elipsoidal yang disebut lakuna, sedangkan proses dendritik berada di saluran silinder kecil yang disebut kanalikuli (diameter 250–300 nm). (Buck & Stains, 2024) Pada skala yang lebih besar, ciri sel osteosit yang terdistribusi sangat teratur dan tersebar dimana-mana, serta proses interkoneksi dalam matriks termineralisasi menjadikan jaringan sel ini berfungsi sebagai jaringan sensorik yang dapat merespons efek pengaruh eksternal (hormonal/mekanik, dll.) pada tulang. Osteosit memainkan peranan penting dalam mengatur sifat dinamis tulang; bahkan dapat dikatakan bahwa ini adalah fungsi utama sel-sel tersebut. (Marahleh et al., 2023)

Organisasi struktural osteosit di dalam matriks tulang sangat penting dalam proses penerimaan rangsangan mekanis. Secara *in vivo*, osteosit terdapat dalam LCN. Dimana jaringan berpori ini memungkinkan untuk pengangkutan cairan interstisial dari pembuluh darah ke sel. (Choi et al., 2022) Di dalam jaringan berpori ini, sel-sel dikelilingi oleh matriks periseluler (PCM) glikoprotein dengan ketebalan kurang dari 100 nm, dan melekatkan dinding lakuna dengan jarak rata-rata 40 nm. Hal ini menyisakan ruang periseluler, antara PCM dan dinding lakuna, di mana cairan interstisial dapat mengalir dari saluran pembuluh darah ke osteosit. (Creecy et al., 2021) Singkatnya, osteosit dan kanalikuli dikelilingi oleh matriks perilakunar (PLM) di sekitar porositas dan PCM di antara matriks mineralisasi tulang dan sel (Gambar 6).



Gambar 6. Skema struktural osteosit di dalam matriks mineral tulang. Cairan interstisial mengalir melalui ruang periseluler Bersama dengan elemen penambat antara lain Elemen-elemen matriks perilakunar, periseluler, dan seluler

Jaringan LCN mengisi semua volume tulang sehingga setiap kerusakan jaringan dapat dideteksi dan diproses oleh sel. Selain struktur mikro dan nano yang kompleks ini, komposisi PCM dan PLM juga menunjukkan kondisi yang heterogen, Dimana terjadi

penurunan modulus elastisitas dengan bertambahnya jarak ke dinding lakunar. Menariknya, besarnya gradien diyakini terkait dengan usia osteosit yang terperangkap di dalamnya lakuna. Demikian pula, jika PCM sebagian besar terdiri dari perlecan, komponen lain dapat mempengaruhi perilaku cairan interstisial di dalam LCN. Ketika tulang mengalami pembebanan mekanis, seluruh jaringan LCN berubah bentuk bersama-sama dengan matriks termineralisasi di sekitarnya. Oleh karena perubahan bentuk jaringan, osteosit dapat mengalami regangan mekanis, atau deformasi, melalui mekanisme yang berbeda. (Gauthier et al., n.d.) Deformasi osteosit dan proses terkait dapat merangsang mekanosensor intraseluler, seperti integrin atau ion channel, yang kemudian menginduksi sekresi mediator metabolisme tulang seperti oksida nitrat, ion kalsium, atau sklerostin. (Choi et al., 2022) Mediator-mediator ini kemudian diangkut melalui cairan interstisial ke osteoblas, osteoklas, dan faktor biologis lain yang berperan pada metabolisme tulang yang terletak di kanal pembuluh darah. Transpor zat terlarut tersebut juga terkait dengan stimulasi mekanis LCN, dengan misalnya molekul yang lebih besar diangkut hanya di bawah stimulasi mekanis. Difusi bahan kimia yang berbeda terlibat dalam metabolisme tulang, dan lebih umum dalam metabolisme organisme kita, sebagian besar dipengaruhi oleh sifat-sifat PCM serta pentingnya perilaku cairan interstisial (yaitu, tekanan cairan interstisial pada jaringan lakuna dan kecepatan aliran cairan interstisial di kanalikuli) yang mengelilingi osteosit dan prosesnya pada jalur mekanotransduksi jaringan tulang. (Maycas et al., 2017)

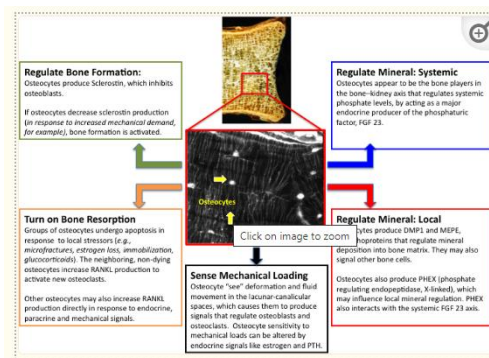
Metabolisme tulang berbasis osteosit diaktifkan melalui pergeseran tekanan dan kecepatan cairan tersebut. Pembebanan mekanis yang diterapkan pada skala organ menginduksi regangan mekanis pada tingkat jaringan yang kemudian menghasilkan peningkatan tekanan hidrostatik dan peningkatan tekanan aliran cairan interstisial yang diinduksi gradient di dalam LCN. Jalur tersebut menerangkan bagaimana osteosit merasakan stimulasi mekanis dan karenanya mengatur integritas mekanik tulang melalui metabolisme jaringan. (Buck & Stains, 2024)

Beberapa ilmuwan telah mengembangkan model teoritis dari metabolisme tulang berdasarkan deformasi jaringan. Dalam konteks tersebut, kemajuan besar telah dibuat oleh Frost yang mengembangkan teori mekanisme the mechanostat. Dalam teori ini, Frost mendefinisikan ambang batas yang berbeda, yang dikenal sebagai regangan efektif minimum (MES), sebagai regangan yang dikembangkan pada skala jaringan di bawah resorpsi tulang (MES untuk modeling tulang, MESr), dan di atasnya terjadi pembentukan tulang (MES untuk pemodelan tulang, MESm). Ini juga menyiratkan bahwa ada rentang deformasi, antara MESr dan MESm, di mana struktur tulang tetap sama. Prinsip remodeling tulang berbasis regangan ini menarik, karena regangan jaringan tulang dapat secara rutin diperkirakan dengan menggunakan alat numerik seperti pemodelan elemen. Regangan jaringan tulang telah digunakan untuk memprediksi metabolisme tulang, dan dengan demikian dapat dianggap sebagai penanda integritas mekanik tulang. (Gauthier et al., n.d.)

Osteosit berasal dari garis keturunan sel osteoblas. Transformasi dari osteoblas penghasil kolagen yang besar menjadi osteosit dendritik yang lebih kecil merupakan transformasi yang memerlukan restrukturisasi ekstensif pada skala sitoskeletal dan intraseluler. Setelah mengalami transisi, polarisasi yang terjadi pada osteosit biasanya mengakibatkan kehilangan plasma apikal dan basolateral yang terlihat pada osteoblas.

Meskipun mekanisme yang menyebabkan osteoblas tertentu berdiferensiasi menjadi osteosit belum sepenuhnya dipahami, diketahui bahwa osteoblas yang tidak melakukan transisi tersebut akan mengalami apoptosis atau menjadi sel pelapis tulang. (Goldring, 2015a) Sampai saat ini, penanda molekuler konstitutif untuk osteosit terbatas pada produksi kolagen dan alkali fosfatase yang rendah, ekspresi protein kasein kinase II dan osteokalsin yang tinggi, serta CD44 yang tinggi. Namun, baru-baru ini osteosit telah terbukti menghasilkan serangkaian protein termasuk Dentin Matrix Protein 1 (DMP1), Phosphate-regulating neutral endopeptidase, X-linked (PHEX), Matrix Extracellular Phosphoglycoprotein (MEPE), Sklerostin, Fibroblast Growth Factor-23 (FGF-23), Osteoprotegerin (OPG) dan, dalam situasi tertentu, Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand (RANKL). (Kitaura. H., et al. (2020) Ekspresi faktor-faktor ini oleh osteosit menunjukkan bahwa sel-sel ini memainkan peran integral dalam pengaturan berbagai fungsi metabolisme tulang dan pengaturan mineral.

Secara khusus, peran sinyal osteosit dalam metabolisme tulang dapat dipertimbangkan dalam kaitannya dengan kontribusinya terhadap regulasi mineralisasi lokal, pengaturan mineralisasi sistemik, pembentukan tulang oleh osteoblas serta resorpsi tulang oleh osteoklas dan merasakan beban mekanis pada tulang. (Schaffler & Kennedy, 2012)



Gambar 7. Pensinyalan dan regulasi osteosit dalam fungsi tulang

1.2.3.1 Sinyal osteosit dalam regulasi mineralisasi local. Osteosit saat ini dianggap tidak hanya sebagai sel inert yang terkubur dalam matriks tulang tetapi memiliki peran mineralisasi yang melibatkan pengembangan dan pemeliharaan matriks tulang. Tiga protein telah diidentifikasi memiliki peran dalam proses mineralisasi: DMP1, PHEX, dan MEPE. DMP1 adalah protein asam nonkolagen yang diekspresikan selama tahap awal pembentukan matriks termineralisasi pada tulang dan dentin. Hal ini juga secara spesifik diekspresikan di sepanjang dan di kanalikuli osteosit dalam matriks tulang

1.2.3.2 Sinyal osteosit dalam regulasi mineralisasi sistemik. Pengangkutan mineral anorganik ke dan dari jaringan tulang memerlukan interaksi dengan, dan berdampak pada, organ lain—khususnya ginjal. Salah satu faktor yang penting dalam regulasi tulang dan ginjal adalah faktor fosfatik FGF-23. Tinggi Kadar FGF-23 yang bersirkulasi dapat menyebabkan gangguan yang ditandai dengan hipofosfatemia, penurunan produksi 1,25 dihidroksivitamin D, dan osteomalacia. Sebaliknya, tingkat sirkulasi yang rendah dapat dikaitkan dengan hiperfosfatemia, peningkatan produksi 1,25 dihidroksivitamin D, kalsifikasi jaringan lunak, dan hiperostosis.

1.2.3.3 Sinyal osteosit dalam pembentukan tulang oleh osteoblas. Selain perannya dalam homeostasis mineral lokal dan sistemik, pensinyalan osteosit juga mempunyai efek langsung pada aktivitas pembentukan tulang osteoblas. Salah satu produk tertentu yang memiliki efek ini disebut Sclerostin, yang merupakan protein yang dikodekan oleh gen SOST. Faktor ini sangat banyak terdapat pada osteosit dan tampaknya secara langsung menghambat pembentukan tulang. Pergerakan cairan interstisial dalam system lacuna-kanalikuler yang disebabkan oleh tekanan ekstrasvaskuler dan juga pembebanan mekanis menghasilkan tekanan geser pada badan sel, yang kemungkinan merupakan cara osteosit mendapat informasi mengenai lingkungan mekanisnya. (Wittkowske et al., 2016) Dalam jaringan tulang hidup, regangan mekanis merupakan pengatur utama yang mempengaruhi pemodelan dan remodeling tulang melalui jaringan osteosit.

1.2.3.4 Sinyal osteosit dalam pembentukan tulang oleh osteoklas. Apoptosis osteosit memainkan peran kunci dalam mekanisme aktivasi sinyal yang mendukung osteoklas dalam menargetkan tulang untuk dihilangkan sehingga terjadi kerusakan mikro. Kerusakan mikro pada tulang kortikal mengakibatkan apoptosis osteosit, yang terbatas pada sel-sel di dekat lokasi kerusakan mikro. (McCutcheon et al., 2020) Lebih lanjut bahwa resorpsi tulang yang berlokasi pada area kerusakan mikro mengakibatkan terjadinya apoptosis osteosit setelah jangka waktu 10 hingga 14 hari. Osteosit yang berada jauh dari lokasi kerusakan tidak mengalami apoptosis tetapi mengaktifkan mekanisme perlindungan untuk mencegah apoptosis. Secara efektif zona apoptosis osteosit yang dekat dengan kerusakan “dilindungi” oleh populasi osteosit yang masih hidup. Penelitian menunjukkan bahwa apoptosis memang diperlukan untuk memulai remodeling tulang intrakortikal setelah kerusakan mikro yang disebabkan oleh beban mekanis fungsional. (Mollazadeh et al., 2015) Diperlukan mekanisme protein pro-osteoklastogenik spesifik di wilayah sekitar kerusakan mikro dan kemudian melokalisasi ekspresinya, agar dapat mengidentifikasi sumber selulernya. Dalam hal karakterisasi protein pro-osteoklastogenik, identifikasi jalur RANK/RANKL/OPG sebagai mediator akhir osteoklastogenesis yang dominan mewakili kemajuan besar dalam memahami proses remodeling tulang. (Marcadet et al., 2022) RANKL, sebuah faktor yang diekspresikan pada permukaan sel praosteoblastik/stromal, berikatan dengan reseptor serumpunnya RANK pada permukaan sel praosteoklastik; interaksi ini sangat penting untuk diferensiasi, aktivasi, dan kelangsungan hidup osteoklas. OPG, yang secara konstitutif diekspresikan oleh osteosit dewasa, berfungsi sebagai reseptor umpan dan menghalangi interaksi RANK/RANKL, dan mempunyai efek mencegah osteoklastogenesis. Rasio RANKL/OPG dapat digunakan sebagai indikator tingkat aktivitas osteoklastogenik dalam suatu system. Studi-studi ini menunjukkan bahwa rasio RANKL/OPG bergeser untuk menciptakan lingkungan proosteoklastogenik di sekitar area kerusakan mikro, yang ditandai dengan peningkatan regulasi RANKL dan penurunan regulasi OPG. (McCutcheon et al., 2020)

Penelitian terbaru telah mengangkat topik terkait peran osteosit, yang merupakan sel yang paling banyak terdapat dalam system kerangka dan berperan mengatur pergantian tulang. Osteosit bertindak sebagai stimulasi mekanis dalam tulang dan mengatur aktifitas osteoblast dan osteoklas. Setelah fungsi mekanosensorik maka osteosit menghasilkan oksida nitrat dan prostaglandin untuk mendorong pembentukan tulang. Di sisi lain

osteosit mengeluarkan sclerostin (SOSS) dan dickkopf-1 (DKK1) untuk menghambat pembentukan tulang. Osteosit juga berperan mensekresikan osteoprotegerin dan aktivator reseptor factor nuclear kappa-B ligan (RANKL) untuk mengatur diferensiasi osteoklas selain memproduksi fibroblast growth factor-23 (FGF23) dalam mengatur regulasi homeostasis fosfat. Mengingat peran spesifik protein terkait osteosit seperti DKK1, SOST, dan FGF23 dalam mengatur kesehatan tulang dapat disimpulkan bahwa Tingkat sirkulasi protein tersebut dapat menilai Tingkat Kesehatan tulang. (Ramli & Chin, 2020)

1) Faktor Pertumbuhan fibroblast-23 (FGF23) yang diproduksi oleh osteosit merupakan pengatur fosfat yang berperan dalam remineralisasi tulang. Selain itu FGF23 berperan mengatur regulasi fosfat di ginjal dengan mengurangi reabsorpsi fosfat di tubulus proksimal. Selain itu FGF23 juga menghambat ekspresi ginjal 1 hidroksilase yang mengubah 23-hidroksivitamin D menjadi 1,25 hidroksivitamin D3 yang dapat menghambat homeostasis kalsium. Beberapa penelitian melaporkan tidak ada hubungan yang signifikan antara kadar FGF23 dengan status BMD Dimana telah dijelaskan bahwa kadar BMD dihasilkan dari makrostruktur sedangkan kadar FGF23 hanya dapat dideteksi melalui mikrostruktur tulang trabekuler.

2) Sclerostin (SOST) diproduksi oleh osteosit. Antibodi ini memberikan efek penghambatan pada aktifitas osteoblast dengan mengikat protein yang berhubungan dengan reseptor lipoprotein (LRP) 5 dan 6. Dimana studi praklinis menunjukkan bahwa pengobatan antibody SOST dapat menghasilkan peningkatan massa tulang. Penelitian melaporkan adanya hubungan yang signifikan antara SOST dengan parameter kualitas tulang baik melalui kelompok usia, jenis kelamin, dan Lokasi tulang yang diperiksa.

3) DKK1 mirip dengan SOST bersifat mengikat protein yang berhubungan dengan reseptor LRP 5 dan LRP 6 yang berpotensi meningkatkan kemampuan dalam pembentukan tulang. Penelitian melaporkan ada hubungan positif yang signifikan antara DKK1 dengan parameter kualitas tulang tanpa membedakan berdasarkan usia dan jenis kelamin.

1.2.4 Status Kesehatan Tulang

1.2.4.1 Faktor faktor yang mempengaruhi kesehatan tulang. Ada banyak faktor yang mempengaruhi pengendapan mineral tulang dan pembentukan massa tulang yang merupakan indikator Kesehatan tulang. Faktor-faktor ini sebagian besar dibagi menjadi 2 kelompok: faktor yang tidak dapat dimodifikasi termasuk genetika, jenis kelamin, dan etnis, dan faktor yang dapat dimodifikasi termasuk nutrisi, olahraga, gaya hidup, berat badan dan komposisi, serta status hormonal. (Madhuchani et al., 2023)

Tabel 4. Faktor Yang Menjadi Indikator Kesehatan Tulang

Nonmodifiable
Genetics
Gender
Ethnicity
Modifiable
Nutrition
Calcium
Vitamin D
Sodium
Protein
Soda
Exercise and lifestyle
Body weight and composition
Hormonal status

1) **Genetik.** Berbagai penelitian menunjukkan bahwa faktor genetik bertanggung jawab dalam menentukan 50-90 persen massa tulang dan aspek kualitatif tulang lainnya. Memiliki anggota keluarga dekat yang pernah mengalami patah tulang atau menderita osteoporosis juga dapat meningkatkan risiko. Penelitian menunjukkan bahwa jika salah satu orang tua pernah mengalami patah tulang, mungkin perlu menjalani pemeriksaan osteoporosis sejak dini. Selain itu, ada kalanya seseorang memiliki kondisi genetik yang membuat tulangnya tidak sekuat orang lain. Faktor keturunan tidak hanya menentukan seberapa banyak tulang yang diperoleh seseorang, tetapi juga struktur tulang, laju pengeroposan tulang, dan respons kerangka terhadap rangsangan lingkungan seperti nutrisi dan aktivitas fisik. Massa dan kekuatan tulang yang normal dikendalikan oleh banyak elemen genetik yang bekerja bersama-sama. Osteoporosis dan penyakit Paget juga tampaknya disebabkan oleh faktor genetik, Osteogenesis imperfecta (OI), suatu kondisi di mana tulang mudah patah, sering kali tanpa sebab yang jelas, secara jelas ditentukan oleh kerusakan gen kolagen spesifik yang telah diidentifikasi. (S. Lee et al., 2022)

2) **Jenis Kelamin (Status hormonal) dan Usia.** Estrogen dan progesteron memiliki banyak peran dalam tubuh, termasuk mendorong pertumbuhan tulang (terutama selama masa pubertas) dan mencegah pengeroposan tulang (terutama pada usia tiga puluhan dan seterusnya). Penelitian telah menunjukkan bahwa wanita dengan kadar hormon yang sehat dan berovulasi secara teratur memiliki kepadatan tulang yang lebih tinggi daripada wanita dengan ketidakseimbangan hormon dan jarang berovulasi. Seiring bertambahnya usia, tulang secara bertahap menjadi lebih tipis dan lebih lemah. Tubuh Anda mungkin mulai menyerap kalsium dan fosfat dari tulang daripada menyimpannya di sana. (López-Peralta et al., 2022)

3) **Ras.** Studi menunjukkan bahwa wanita kulit putih memiliki tingkat patah tulang pinggul tertinggi, diikuti oleh Hispanik, Asia, dan Afrika-Amerika. Banyak faktor yang dapat memengaruhi angka ini seperti kepadatan mineral tulang, genetika, dll., sehingga semua etnis harus memperhatikan faktor risiko lain yang memengaruhi kesehatan tulang. (Zeng et al., 2015)

4) **Nutrisi.** Diet optimal yang kaya akan mikronutrien, seperti kalsium, vitamin D, dan kalium, telah lama dianggap sebagai komponen penting yang dapat dimodifikasi untuk kesehatan tulang, yang dikaitkan dengan peran langsung mereka dalam metabolisme tulang. Baru-baru ini, telah muncul bukti yang menunjukkan bahwa protein dan bahkan asupan buah dan sayuran yang cukup juga dapat memainkan peran penting dalam meningkatkan kepadatan tulang. Mempertahankan pola makan dengan kandungan kalsium dan vitamin D yang tinggi dapat meningkatkan kepadatan tulang sehingga meningkatkan status kesehatan tulang. Kalsium seperti makanan bagi tulang Anda, membuatnya lebih kuat dan lebih padat. Jika diet Anda kekurangan kalsium dalam jumlah yang cukup, kepadatan tulang Anda akan menurun. Vitamin D penting untuk kesehatan tulang yang baik karena membantu penyerapan dan pemanfaatan kalsium. Produk susu umumnya merupakan sumber kalsium yang sangat baik, tetapi Anda perlu menjaga keseimbangan dalam konsumsi untuk hasil yang optimal. (Merlo et al., n.d.)

5) **Aktifitas Fisik dan Gaya Hidup serta Komposisi Tubuh.** Aktivitas fisik yang teratur dapat memberikan keajaiban bagi kesehatan dan pencegahan penyakit. Aktivitas fisik juga merupakan salah satu cara terbaik untuk mempertahankan massa

tulang. Sama halnya dengan kekuatan otot, tulang memerlukan aktivitas fisik untuk mempertahankan kekuatan, kepadatan dan ketahanan. Meskipun latihan kekuatan penting untuk meningkatkan dan mempertahankan massa tulang, aktivitas yang tidak terlalu berat seperti berjalan kaki juga sangat membantu karena dapat membebani tulang dan meningkatkan keseimbangan serta membangun otot, yang keduanya mengurangi risiko jatuh dan cedera tulang.

Ukuran tubuh juga dapat berkontribusi terhadap kesehatan tulang, terutama seiring bertambahnya usia. Hal ini karena mereka yang bertubuh kecil mungkin memiliki massa tulang yang lebih sedikit. Ini berarti lebih sedikit yang akan hilang. Mempertahankan berat badan yang sehat penting untuk kesehatan tulang sepanjang hidup. Indeks massa tubuh dan massa tubuh tanpa lemak berkorelasi langsung dengan kepadatan tulang pada sebagian besar remaja sehat; sebaliknya, peningkatan adipositas dapat dikaitkan dengan peningkatan risiko fraktur. Hal ini menyiratkan pentingnya menjaga kesehatan komposisi tubuh pada masa kanak-kanak dan remaja. (Bierhals et al., 2019) Mengonsumsi makanan cepat saji, alkohol, kafein, dan merokok dapat menyebabkan pengeroposan tulang dan harus dihindari. Aktivitas yang tidak banyak bergerak, seperti menonton TV dalam waktu lama, bermain game internet, dan penggunaan telepon seluler, juga berdampak negatif pada massa tulang

1.2.4.2 Fungsi Tulang Secara Umum. Tulang adalah jaringan dengan struktur fungsional (kerangka) yang cukup kuat untuk menahan aktivitas fisik yang intens, cukup adaptif untuk merespons perubahan aktivitas, dan cukup ringan untuk memungkinkan pergerakan yang efisien. Tulang bersifat tangguh karena karakteristik material intrinsiknya (massa, densitas, komposisi mineral, kekuatan) dan dimensinya (ukuran, bentuk, dan struktur). Sepanjang hidup, tulang harus beradaptasi dengan tekanan yang diberikan kepadanya, dan kemampuannya untuk melakukannya bergantung pada gaya hidup dan faktor genetic. (Zengin et al., 2015) Tulang merupakan jaringan yang dinamis yang memberikan integritas struktural pada tubuh manusia, melindungi organ-organ vital, dan memfasilitasi kerja otot. Tulang harus memiliki ketahanan untuk menahan beban yang diberikan padanya setiap hari. Tulang juga harus ringan dan mudah beradaptasi untuk memungkinkan pergerakan, dari berdiri hingga berlari. Selain itu, tulang merupakan wadah penyimpanan kalsium dan fosfor, karena sekitar 99% kalsium ditemukan di dalam tulang, sehingga memainkan peran penting dalam homeostasis mineral dan regulasi asam-basa dalam tubuh manusia. (Madhuchani et al., 2023)

1.2.5 Status Kesehatan Tulang Pada Anak

Mengetahui status kesehatan tulang pada anak dan remaja sangat penting karena fase ini merupakan periode krusial untuk pembentukan dan penguatan tulang yang akan mempengaruhi kesehatan tulang sepanjang hidup. Massa tulang yang dicapai pada awal kehidupan dianggap sebagai penentu Kesehatan tulang seumur hidup. (Tercanlı Alkış et al., 2022) Mineralisasi tulang meningkat seiring dengan usia, tinggi badan dan massa tubuh selama masa kanak-kanak, memuncak selama masa pubertas. (Ferrer et al., 2021) Selama masa kanak-kanak dan remaja dalam kondisi normal, tulang mengalami perubahan yang luar biasa. Berbeda dengan kerangka orang dewasa di mana

remodeling tulang merupakan aktivitas yang dominan, kerangka yang lebih muda mengalami pertumbuhan dan remodeling. Diperkirakan lebih dari setengah massa puncak tulang diperoleh selama masa remaja. Dengan demikian, faktor-faktor yang mempengaruhi kesehatan tulang selama periode anak dan remaja sangat penting. (McVey et al., 2020) Berikut beberapa alasan mengapa penting untuk memantau kesehatan tulang pada anak dan remaja

1. **Pertumbuhan dan Pencapaian Puncak Massa Tulang.** Seiring pertumbuhan seorang anak, tulang mereka terus berkembang, resorpsi dan dibentuk kembali untuk menjaga fungsinya secara berkelanjutan. Dalam proses pertumbuhan normal, lebih banyak tulang yang dibuat daripada yang mengalami resorpsi, sehingga memungkinkan tulang bertumbuh dalam ukuran dan kepadatan hingga 90% massa puncak tulang diperoleh pada anak perempuan pada usia 18 tahun dan anak laki-laki pada usia 20 tahun, oleh karena itu masa kanak-kanak merupakan waktu terbaik untuk berinvestasi pada kesehatan tulang melalui aktivitas fisik dan nutrisi yang tepat. Status Kesehatan tulang yang buruk adalah salah satu beban kesehatan yang sering kali berawal dari perkembangan fisik masa kanak-kanak dan remaja. (Redondo-Cuevas et al., 2018)
2. **Peran Nutrisi dan aktifitas fisik.** Untuk memaksimalkan massa puncak tulang dibutuhkan faktor penting yang dapat secara positif mempengaruhi kesehatan tulang pada anak-anak dan remaja. Gaya hidup, termasuk pola makan dan aktivitas fisik yang cukup, merupakan faktor eksternal dari perkembangan massa tulang selama masa pertumbuhan dan juga selama masa dewasa dapat membantu pembentukan kerangka orang dewasa yang kuat. (Proia et al., 2021)

1.2.6 Pemanfaatan Sumber Daya Kelautan Dalam Bidang Kesehatan

Indonesia merupakan negara kepulauan dan maritim terbesar yang terletak di wilayah tropis. Sebagai negara kepulauan, Indonesia tercatat memiliki pulau yang banyak sehingga hal tersebut membuat Indonesia memiliki potensi pemanfaatan sumber daya kelautan yang cukup besar. (Akbar, 2022)



Gambar 8. Kulit udang sebagai limbah yang dapat dimanfaatkan

Limbah udang berasal dari kulit, kepala dan ekor. Limbah kepala udang mencapai 35%-50% dari total berat udang. (Sudharani et al., 2023) Di Indonesia kulit udang memiliki potensi yang besar untuk diolah menjadi kitosan karena kesediaan limbah udang sebagai bahan baku cukup besar dan mudah diperoleh. (Bahri et al., 2024) Produksi udang di

Indonesia rata-rata meningkat sebesar 7,4% pertahun. Pada tahun 2001 produksinya mencapai 633.681 ton. Jika diasumsikan laju produksi tetap, maka pada tahun 2004 potensi udang diperkirakan sebesar 785.025 ton. Dari jumlah itu, 60-70% menjadi limbah (bagian kulit, kepala, dan ekor). Sebagai limbah udang telah dimanfaatkan untuk pembuatan kerupuk udang, terasi, dan bahan pencampur pakan ternak. Pada negara maju seperti Amerika dan Jepang limbah udang telah dimanfaatkan antara lain pada industri farmasi, biokimia, biomedikal, pangan, pertanian dan kesehatan. (Bassig et al., 2021) Hal ini karena limbah udang dapat dimanfaatkan sebagai zat pembuat kitosan. Limbah kulit udang terdiri dari tiga komponen utama yaitu protein (25%- 44%), kalsium karbonat (45%-50%), dan kitin (15%-20%). Kitin mempunyai struktur yang sama walaupun berasal dari sumber yang berbeda kadarnya. (Maia et al., 2023)



Gambar 9. Ikan Teri sebagai Sumber Daya Kelautan

Sumber daya ikan laut secara umum dapat dikelompokkan menjadi 3 bagian, yaitu sumber daya ikan pelagis kecil, pelagis besar dan demersal. Sumber daya ikan pelagis kecil merupakan salah satu sumber daya perikanan yang berukuran kecil seperti halnya ikan teri yang merupakan sumber daya perikanan yang cukup melimpah dan banyak di tangkap untuk dijadikan konsumsi Masyarakat. Menurut Dirjen Perikanan Tangkap (2011), volume produksi penangkapan ikan teri di Indonesia pada tahun 2010 adalah 175.726 ton (dengan nilai produksi mencapai 2.160 milyar rupiah). Sedangkan pada tahun 2014, produksi ikan teri meningkat menjadi 199.226 ton (Sidatik KKP 2016). Penyebaran ikan teri di dunia cukup luas, yaitu: berada pada lintang di daerah Indo-Pasifik sampai ke daerah Tahiti dan Madagaskar, sedangkan daerah penyebaran ikan teri di Indonesia terdapat pada wilayah antara 95 °BT–140 °BT dan 10 °LU–10 °LS, dengan kata lain mencakup hampir seluruh wilayah Indonesia. Pada umumnya ikan teri hasil tangkapan dipasarkan di hampir seluruh wilayah Indonesia dan bahkan merupakan salah satu komoditas ekspor, diantaranya ke negara Singapura, Malaysia, Cina, Taiwan, Amerika, dan Jepang. (Budi. F. S., et al. (2017). Ikan teri memiliki sumber nutrisi penting dan nilai ekonomis yang tinggi, karena dimanfaatkan sebagai lauk pauk makanan masyarakat Indonesia setiap hari. Ikan teri selain mudah didapat dan diolah dalam berbagai bentuk menu masakan, juga dapat dikonsumsi untuk semua kalangan usia. (Nasution et al. 2018)

1.2.6.1 Nanokalsium ikan teri. Komposisi nutrisi, pola makan dan aktivitas fisik berperan dalam memodulasi kepadatan mineral tulang, kandungan mineral tulang, remodeling, dan memaksimalkan puncak massa tulang yang pada gilirannya dapat berdampak pada kesehatan tulang di kemudian hari. Oleh karena itu, gizi anak-anak mungkin mempunyai konsekuensi seumur hidup yang terdiri dari zat gizi makro (protein, lemak, dan karbohidrat) dan juga zat gizi mikro termasuk kalsium, magnesium, fosfor,

kalium, vitamin D (VitD), Vitamin K, protein dan omega 3 asam lemak. Faktanya, sejumlah elemen makanan berdampak negatif terhadap kesehatan tulang, termasuk lemak jenuh dan Vitamin A. Namun, konsensus dalam literatur berfokus pada dua nutrisi yang berkaitan dengan kesehatan tulang, yaitu kalsium dan VitD. Kalsium adalah nutrisi utama yang terlibat dalam homeostasis tulang karena perannya dalam pertumbuhan dan perkembangan tulang. Saat ini Inggris saat ini merekomendasikan >700 mg/hari dan berbagai studi penelitian yang menggunakan dosis setinggi 1600 mg. Menariknya, meskipun suplementasi kalsium dapat mempengaruhi kesehatan tulang, namun tidak dapat digunakan sebagai pengganti terapi estrogen, bifosfonat, atau kalsitonin yang diresepkan, tetapi hanya sebagai tindakan pencegahan ketika individu masih dalam kisaran skor-T normal. Namun demikian, masih harus dilihat apakah ada interaksi spesifik antara kalsium makanan dan nutrisi lainnya secara positif terkait dengan karakteristik dimensi tulang atau yang dapat membantu penyerapan kalsium sehingga efek optimal dari suplementasi kalsium yang optimal pada kesehatan tulang menjadi konklusif. (Tomlinson et al., 2019)

Kalsium (Ca) adalah nutrisi utama yang penting dalam kesehatan tulang. Penting untuk memastikan asupan Ca yang cukup untuk mendukung percepatan pertumbuhan selama masa anak-anak dan remaja ketika tulang terakumulasi dan tumbuh dengan cepat. Selama periode ini, perolehan kepadatan mineral tulang sangat penting untuk perolehan massa tulang dan pembentukan tulang orang dewasa; oleh karena itu, memastikan kecukupan asupan Ca sangat penting untuk memperoleh puncak massa tulang yang lebih besar untuk mencegah osteoporosis pada usia tua. Rekomendasi asupan Ca berbeda-beda di setiap negara, dan jumlah asupan Ca yang optimal untuk mempertahankan pertumbuhan tulang masih belum jelas. Vitamin D dan kalsium diketahui memainkan peran penting dalam kesehatan tulang. Asupan kalsium optimal diperkirakan 400 mg/hari sejak lahir hingga 6 bulan, 600 mg/hari pada bayi (6 hingga 12 bulan), 800 mg/hari pada anak kecil (1–5 tahun) dan 800–1,200 mg/hari untuk anak yang lebih tua (6–10 tahun), dan 1.200–1.500 mg/hari untuk remaja dan dewasa muda (11–24 tahun) Jumlah asupan Ca yang direkomendasikan untuk remaja pria dan wanita AS berusia 9 hingga 18 tahun adalah 1,3 g/hari dan untuk mereka yang berusia 4 hingga 8 tahun dan 19 hingga 50 tahun adalah 1 g/hari. (Pan et al., 2020)

Tabel 5. Referensi Intake Calsium dan Vitamin D Berdasarkan Usia

Age	Calcium (mg/day)		Vitamin D (IU/day)	
	RDA	UL	RDA	UL
0–6 Months	-	1,000		1,000
6–12 Months	-	1,500		1,500
1–2 Years	500	2,500		2,500
3–5 Years	600	2,500	400–600	3,000
6–8 Years	700	2,500		3,000
9–11 Years	800	3,000		4,000
12–14 Years	M, 1,000; F, 900	3,000		4,000
15–18 Years	M, 900; F, 800	3,000		4,000

RDA, recommended daily allowance; UL, upper limit; M, male; F, female.

Adapted from The Korean Nutrition Society. 2020 Dietary Reference Intakes for Koreans.³⁸⁾

Studi meta-analisis menunjukkan bahwa peningkatan kalsium melalui makanan/susu, dengan dan tanpa vitamin D, secara signifikan meningkatkan komposisi mineral tubuh dan tulang belakang lumbal pada anak-anak dengan asupan kalsium awal yang rendah. Suplementasi kalsium dan vitamin D di atas asupan nutrisi yang direkomendasikan mempunyai pengaruh kecil terhadap tulang terutama pada anak-anak prapubertas yang aktif. (Proia et al., 2021) Di sisi lain, suplementasi kalsium tampaknya bermanfaat bagi populasi anak-anak dengan asupan harian yang rendah. Kalsium merupakan mineral penting dalam tubuh, mengontrol pembentukan dan pemeliharaan tulang dan gigi, kontraksi otot, transmisi sinyal saraf, apoptosis sel dan pembekuan darah. (Eisenhauer et al., 2019)

Ikan teri adalah jenis ikan kecil tinggi protein dan sumber kalsium terbaik karena memiliki kandungan kalsium yang bersifat tidak mudah larut dan tahan dalam air. (Bahri et al., 2024) DepKes (2005) menjelaskan bahwa ikan teri segar memiliki kandungan gizi antara lain energi 77 kkal, fosfor 500 mg, lemak 1 g, besi 0,05 mg, protein 16 gram, dan kalsium 500 mg dengan kadar protein ikan teri segar per 100 g adalah 10,3 g (Rustanti 2013). Keistimewaan ikan teri yang dapat dikonsumsi seluruh tubuhnya menjadikan ikan teri sebagai sumber kalsium, fosfor dan protein tinggi.

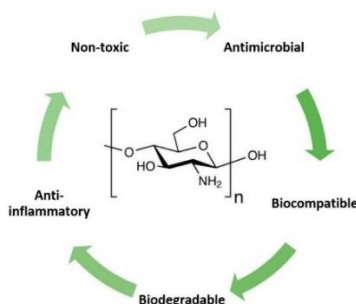
Masyarakat Indonesia umumnya mengetahui dan memahami bahwa susu merupakan sumber kalsium utama, namun kenyataannya ikan teri adalah sumber kalsium lain yang memiliki kandungan kalsium lebih besar. Nasoetion et al. (2009) melaporkan ikan teri memiliki kandungan kalsium sebesar 2,381 mg lebih besar dari kandungan kalsium susu sapi sebesar 143 mg. Putra (2013) melakukan penelitian tentang perbedaan kandungan kalsium (Ca) pada susu sapi lokal dan ikan teri nasi, menghasilkan perbedaan signifikan yaitu kandungan kalsium susu sapi sebesar 106,32 mg per 100 g lebih rendah dibandingkan kalsium ikan teri sebesar 330,10 mg per 100 g. Ikan teri memiliki kandungan kalsium lebih tinggi daripada susu sebesar 972 mg per 100 g (Persatuan Ahli Gizi Indonesia 2009).

Hasil penelitian kadar kalsium tepung ikan teri lebih tinggi dari kadar kalsium tepung ikan gabus yaitu 16,86%-22,77% (Cucikodana et al. 2012), dan kadar kalsium tepung tulang ikan nila antara 18,7%-21,48% (Lakahena et al. 2014). Purnasari et al. (2016) menjelaskan bahwa kandungan kalsium yang dimiliki ikan teri sangat tinggi dan memiliki bioavailabilitas kalsium setara dengan produk susu untuk asupan kalsium pada tingkat marginal. Kadar kalsium tepung ikan teri tinggi karena ukuran ikan yang sangat kecil dan dimakan utuh dengan tulangnya (Rahmi et al. 2018). Burr (2002) menjelaskan bahwa peningkatan pembentukan kristal hidroksiapatit akibat adanya pengendapan ion kalsium dan fosfat pada matriks tulang dapat memengaruhi meningkatnya densitas tulang

Pemberian dosis nanokalsium menggunakan perhitungan dosis berdasarkan konversi Laurence & Bacharach 1964. Seperti contoh pemberian dosis konversi dari dosis manusia (70 kg) ke tikus (200 gr) = 0,018. Dosis kalsium yang dianjurkan pada anak usia 10 hingga 14 tahun yang menjadi patokan usia pertumbuhan tulang efektif adalah 1300mg per hari. Dosis kalsium pada tikus (200 gr) = (1300 x 0,018) mg = 23.4 mg. (Komariah & Alamsyah, 2015)

1.2.6.2 Nanokitosan kulit udang. Kitosan adalah polisakarida deasetilasi dari kitin, biopolimer alami yang terutama ditemukan pada cangkang krustasea laut dan dinding sel jamur. Kitin adalah polisakarida nitrogen berwarna putih, keras, tidak elastis.

Bersifat hidrofobik dan tidak larut dalam air dan sebagian besar pelarut organik, kecuali hexafluoroisopropanol, hexafluoroacetone, dan chloroalcohols. Kelarutan kitin yang buruk ini merupakan batas ekstrim untuk aplikasi praktisnya. Namun setelah deasetilasi, protonasi gugus amino bebas dari residu D-glukosamin memberikan kelarutan yang lebih baik dari kitosan dan mengubahnya menjadi polikation dan selanjutnya dapat membentuk kompleks ionik dengan berbagai spesies anionik alami atau sintetik, misalnya DNA, protein, lipid, atau polimer sintetik bermuatan negatif seperti poli(asam akrilat). Karakteristik kitosan yang bermuatan positif ini tidak hanya meningkatkan kelarutan, non toksisitas, biodegradabilitas, dan biokompatibilitasnya, namun juga secara langsung berkontribusi terhadap muco-adhesi, hemostasis, dan sifat antimikroba. (Ezoddini-Ardakani et al., 2012) Dikombinasikan dengan sifatnya yang murah dan ekonomis, kitosan telah dipelajari secara ekstensif dan digunakan secara luas dalam aplikasi biofarmasi dan biomedis selama beberapa decade.



Gambar 10. Sifat biologis yang unik memungkinkan penggunaan kitosan dalam banyak aplikasi biomedis

Kitosan (CS) adalah polisakarida semi-kristal linier yang tersusun dari β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-asetamida-2-deoksi-b-D-glukan(N-asetilD-glukosamin) dan β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoksib-D-glukan (D-glukosamin) unit. Berat molekulnya berkisar antara 10 hingga lebih dari 1000 kDa. Kitosan tidak banyak terdapat di lingkungan, namun dapat dengan mudah diproduksi melalui proses alkaline n-deasetilasi biopolimer alami yang biasa ditemukan pada cangkang krustasea laut dan di dinding sel jamur (kitin).

Kitosan memiliki kemampuan dalam mendukung pertumbuhan dan diferensiasi sel, terutama sel-sel osteoblast yang bertanggung jawab untuk pembentukan tulang. Kitosan dapat meningkatkan aktivitas dan proliferasi sel osteoblast melalui diferensiasi sel induk mesenkim. Osteoblast adalah sel yang berperan dalam pembentukan matriks tulang baru dan bertanggung jawab untuk mineralisasi tulang. Dengan mendukung aktivitas osteoblast, kitosan membantu dalam pembentukan tulang baru. (Alonso-Goulart et al., 2021) Efektifitas nanokitosan dalam proses penyerapan mineral dalam metabolisme tulang. Nanokitosan, berkat ukuran partikelnya yang kecil dan sifat-sifat uniknya, dapat meningkatkan penyerapan mineral dan mendukung kesehatan tulang. (Guadarrama-Escobar et al., 2023) Nanokitosan dapat meningkatkan bioavailabilitas mineral penting seperti kalsium, magnesium, dan fosfat, yang diperlukan untuk pembentukan dan pemeliharaan tulang. Nanokitosan dapat membentuk kompleks dengan mineral ini, meningkatkan stabilitas dan penyerapan mereka di saluran pencernaan. Kitosan, termasuk nanokitosan, memiliki kemampuan unik dalam mengikat lemak. Dimana memiliki muatan positif yang dapat berinteraksi dengan asam lemak bebas yang bermuatan

negatif dan lipid lainnya. Interaksi elektrostatis ini memungkinkan nanokitosan mengikat lemak dan membentuk kompleks yang tidak larut. (Merlo et al., n.d.)(Mawazi et al., 2024) Sebagai polisakarida multifungsi alami, kitosan telah banyak dipelajari untuk biomedis, bedah, dan rekayasa jaringan serta aplikasi farmasi berkat biokompatibilitas, biodegradabilitas, dan muko adhesinya. Aplikasi kitosan dalam bidang medis dan farmasi yang paling penting adalah pemberian obat, pembalut luka, dan biokomposit scaffold untuk rekayasa tulang. Dalam konteks rekayasa tulang, kelembaman fisiologis dan efek toksik yang rendah dari scaffold berbahan dasar kitosan telah dibuktikan oleh banyak penelitian *in vitro* dan *in vivo*. Selain itu, tidak ada reaksi alergi dan inflamasi pada implantasi, injeksi, atau aplikasi topikal bahan berbasis kitosan dalam tubuh manusia yang terbukti. Yang paling penting, percobaan *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa semua scaffold biokomposit berbasis kitosan ini tidak beracun, dan memiliki sifat biokompatibilitas, osteokonduktivitas, dan osteogenesis yang sangat baik, mendorong proliferasi sel dan adhesi sel yang baik, sehingga menyebabkan peningkatan regenerasi tulang baru. (Levengood & Zhang, 2014) Mengenai aplikasi klinis kitosan yang lebih spesifik pada regenerasi tulang alveolar dan tulang rahang, beberapa laporan praklinis menunjukkan hasil yang menjanjikan, bahkan untuk mempercepat osseointegrasi implan gigi dan merekonstruksi cacat ukuran kritis

Namun, penggunaan kitosan sebagai scaffold dibatasi karena berkurangnya bioaktivitas dan sifat mekanik. Kerugian ini telah diatasi dengan mencampurkan kitosan dengan polimer sintetik atau alami lainnya [poli(vinil alkohol), poli- ϵ -kaprolakton, alginat, kolagen, serat sutra, dll.], biomaterial (hidroksiapatit, β -trikalsium fosfat, SiO₂, dll.), atau molekul farmakologi bioaktif (protein morfogenetik tulang 2 (BMP-2), faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), bifosfonat, dll. (Aguilar et al., 2019)

Dari literatur sebelumnya dikatakan bahwa penggunaan dosis kitosan 1000–1500 mg/hari efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total pada manusia tanpa efek samping yang signifikan.(Kumar et al., 2004)

1.2.7 Fat Mass Dan Lean Mass

Pertumbuhan dan perkembangan tulang terbentuk selama masa anak-anak dan masa remaja mempengaruhi puncak massa tulang dan tingkat kepadatan tulang individu di masa depannya. Perubahan skeletal yang massive selama remaja terutama selama periode pubertas yang mengikuti percepatan pertumbuhan menjadi karakter proses metabolisme tulang. (Eisenhauer et al., 2019) Oleh karena itu, masa kanak-kanak merupakan tahap kehidupan yang penting untuk mengidentifikasi faktor-faktor seperti seperti massa tubuh dan distribusi lemak yang dapat memengaruhi kepadatan mineral tulang.(Piñar-Gutierrez et al., 2022)

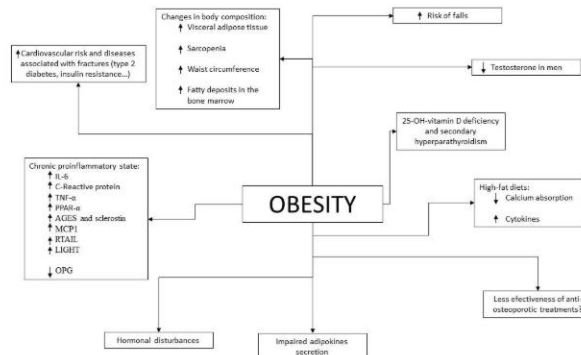
Kompartemen evaluasi antropometrik menyiratkan kuantifikasi komponen utama tubuh antara lain lemak, otot, tulang, dan massa visceral. (Meliscki et al., 2017) Komposisi tubuh ditemukan sebagai prediktor penting untuk kepadatan tulang yang rendah.

Beberapa parameter yang dijadikan variable komposisi tubuh antara lain (Lin et al., 2023) :

1. Derajat Obesitas Abdominal : perbandingan lingkaran pinggang dan pinggul. Obesitas abdomen didiagnosis pada kasus lebih dari 0,90 untuk pria dan 0,85 untuk Wanita
2. Tingkat Metabolisme Basal (Kkal) : kebutuhan energi minimum yang dibutuhkan tubuh untuk mempertahankan fungsi vital saat istirahat
3. Massa Lemak Tubuh (Kg) : Massa lemak tubuh mengacu pada jumlah lemak dalam tubuh. Massa Lemak Tubuh adalah jumlah lemak subkutan, lemak visceral, dan lemak di sekitar otot.
4. Indeks Massa Tubuh (Kg/m²) : ukuran lemak tubuh berdasarkan berat dan tinggi badan seseorang. Dihitung dengan membagi berat badan seseorang dalam kilogram (kg) dengan tinggi badannya dalam meter kuadrat (m²)
5. Kandungan Mineral Tulang (Kg) : berat mineral dalam tulang
6. Massa Bebas Lemak (Kg-BFM) : berat segalanya kecuali lemak tubuh. Ini termasuk otot, air, tulang, organ—segala sesuatu yang bukan lemak tubuh
7. Massa Mineral (Kg) : Mineral mengacu pada jumlah total mineral anorganik yang terlarut dalam tulang dan cairan tubuh yang masing-masing mewakili mineral tulang dan non-tulang.
8. Derajat Obesitas (%) : perbandingan berat badan saat ini dengan berat badan ideal.
Derajat Obesitas = $(\text{berat badan saat ini} / \text{berat badan standar menurut tinggi badan}) \times 100$
9. Persen Lemak Tubuh (%) : h ukuran jumlah lemak dalam tubuh sebagai persentase dari total berat badan. Dihitung dengan membagi berat lemak tubuh dengan total berat badan dan mengalikannya dengan 100.
10. Massa Lean Rangka (Kg) : Massa tanpa lemak kerangka mengacu pada otot tanpa lemak dan jaringan tulang yang ditemukan di kerangka. Ini adalah jumlah total otot, tulang, dan jaringan ikat dalam tubuh yang tidak terdiri dari lemak.
11. Massa Otot Rangka (Kg) : umumnya menunjukkan massa tubuh tanpa lemak pada setiap lengan dan tungkai
12. Area Lemak Visceral (cm²) : perkiraan area lemak yang mengelilingi organ dalam di perut. Area Lemak Visceral di bawah 100cm² adalah kisaran sehat.

Terdapat beberapa penelitian yang mengungkapkan peran komposisi tubuh terhadap kepadatan tulang. Misalnya penelitian yang dilakukan Correa-Rodríguez et al. menemukan hubungan antara tinggi badan, berat badan, Indeks Massa Tubuh, Lean mass, Fat mass, dan Indeks Kualitas Tulang di kalangan dewasa muda Spanyol. Kepadatan Mineral Tulang yang tinggi ditemukan berhubungan dengan peningkatan Indeks Massa Tubuh dan lingkaran pinggang. Brunner dan rekannya menemukan bahwa Lean Mass memiliki pengaruh positif terhadap kualitas tulang di bagian tumit. Kesimpulan serupa ketika meneliti hubungan antara Lean Mass dan Kepadatan Mineral Tulang di leher femoralis. Lean Mass terdiri dari komponen massa otot, massa tulang, air, dan organ dalam kulit dan jaringan ikat. Massa otot telah diidentifikasi sebagai faktor pelindung kesehatan tulang, karena ditemukan adanya hubungan positif antara massa otot dan Kepadatan Mineral Tulang. Hubungan ini dapat dikaitkan bahwa kepadatan mineral tulang seiring dengan massa otot yang optimal sehingga meningkatkan kekuatan otot yang berperan dalam mobilitas. (Hue et al., 2023) Massa otot terkait erat dengan Lean Mass, yang menyiratkan bahwa kontraksi otot yang kuat menghasilkan stimulasi osteogenik yang kuat pada jaringan sehingga berpotensi

meningkatkan kepadatan tulang sebagai indeks kualitas tulang. Pada penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa metabolisme glikogen otot yang berhubungan dengan stimulasi mekanis dan perubahan sistemik dapat meningkatkan perkembangan tulang dan menggambarkan adaptasi tulang terhadap beban fisiologis maksimum, yaitu kekuatan tertinggi yang diberikan oleh otot. (Deng et al., 2021)



Gambar 11. Mekanisme patofisiologi obesitas terhadap Kesehatan tulang

Penelitian menunjukkan bahwa Persentase Lemak Tubuh dan Fat Mass merupakan prediktor negatif Indeks Kualitas Tulang walaupun tampaknya menjadi tidak konsisten oleh karena pada penelitian lain dimana ditemukan bahwa indikator lemak tubuh menunjukkan peran positif terhadap indeks kepadatan tulang dan kualitas tulang. (Cheon, 2017) Berdasarkan hasil studi epidemiologi, pada berbagai mekanisme patofisiologis mungkin terdapat hubungan yang menguntungkan dan/atau merugikan antara lemak tubuh dan kualitas tulang. Ada kemungkinan bahwa kelebihan lemak tubuh mempengaruhi massa tulang dan dapat mengganggu Kesehatan tulang pada anak-anak. (López-Peralta et al., 2022) Di satu sisi, beberapa makalah telah merujuk pada prinsip hukum Wolff dimana tulang beradaptasi sebagai respons terhadap stres yang dialaminya. Kelebihan beban mekanis yang dihasilkan akan mengakibatkan deformasi tulang yang akan memicu serangkaian sinyal transduksi yang akan merangsang pemeliharaan massa tulang melalui aktivitas osteoblastik dan jalur pensinyalan Wnt / β -catenin. Namun, hanya meningkatkan kuantitas tetapi bukan kualitas tulang atau kekuatan tulang. (Suva et al., 2005)

Tulang memiliki keterbatasan untuk beradaptasi dengan beban mekanis yang berlebihan juga tidak dapat beradaptasi di luar batas penambahan berat badan tertentu. Mekanisme terkait lemak tubuh dapat meningkatkan kepadatan tulang melalui produksi hormon seksual oleh adiposit, dengan efek antiresorptif dan anabolik yang dikenal luas. Mengenai pembentukan tulang, estrogen meningkatkan diferensiasi osteogenic sel induk mesenkim (MSC) dan pematangan osteoblas. Sehubungan dengan resorpsi tulang, estrogen menghambat pembentukan osteoklas dan menginduksi apoptosis osteoklas. (Piñar-Gutierrez et al., 2022) Dengan ketidakkonsistenan dalam hubungan antara jaringan tulang dan jaringan adiposa kemudian dilakukan identifikasi peran jaringan adiposa dalam fisiopatogenesis terkait dengan kualitas tulang. (Abdala1 et al., n.d.) Dalam meta-analisis baru-baru ini, Dolan dkk mengelompokkan sampel berdasarkan usia dan menemukan bahwa adipositas memiliki efek negatif pada massa tulang orang di bawah usia 25 tahun, menunjukkan bahwa pengaruh negatif dari peningkatan

adipositas lebih mencolok ketika metabolisme tulang dalam keadaan fluks, seperti yang terjadi selama periode pertumbuhan. (Bierhals et al., 2019)

Distribusi lemak lokal khususnya jaringan adiposa subkutan dan jaringan adiposa visceral telah terbukti menjadi indikator risiko penyakit. Walaupun jaringan adiposa subkutan (SAT) dan jaringan adiposa visceral (VAT) mengekspresikan kelompok gen yang sama, struktur dan fungsinya berbeda, menyebabkan efek fisiologis yang berbeda pada tubuh. Lemak visceral berperan penting dalam menjaga Kesehatan tulang dengan mengeluarkan asam lemak, hormon, sitokin yang dapat merangsang pembentukan tulang dengan memproduksi estrogen dari precursor steroid, dan meningkatkan kadar leptin dan insulin dan yang berdampak besar pada metabolisme. Namun, penumpukan lemak visceral yang berlebihan dikaitkan dengan peningkatan risiko penyakit kronis. Meskipun banyak penelitian, hubungan antara lemak visceral dan kesehatan tulang masih kontroversial, namun mayoritas penyelidikan telah menemukan hubungan antara peningkatan lemak tubuh dengan penurunan kepadatan tulang. (Lin et al., 2023) Hubungan yang rumit dan beragam antara lemak visceral dan sistem kerangka melibatkan beberapa faktor. Sitokin inflamasi utama yang dikeluarkan oleh lemak tubuh, seperti IL-6 dan TNF- α , menyebabkan respon peradangan sistemik, mengganggu keseimbangan metabolisme, dan merusak kesehatan tulang. (Bierhals et al., 2019) Adipositokin, termasuk leptin dan adiponektin, mempunyai dampak langsung pada metabolisme tulang. Leptin dapat meningkatkan diferensiasi osteoblast dan menghambat diferensiasi sel osteoklas melalui penghambatan reseptor NF- κ B dan meningkatkan ekspresi osteoprotegerin. Namun, melalui aktivasi sistem saraf simpatik dan efek transkrip oleh Kokain – Amfetamin Regulated Transcript (CART), leptin juga dapat mencegah pertumbuhan tulang. Demikian pula, adiponektin tampaknya mempengaruhi metabolisme lemak tubuh, Melalui jalur sinyal MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) dapat mendorong proliferasi dan perkembangan osteoblast sedangkan dengan meningkatkan RANKL dan menghambat produksi osteoprotegerin, secara tidak langsung juga dapat meningkatkan pembentukan osteoklas, sehingga mengakibatkan penurunan kepadatan tulang. (Piñar-Gutierrez et al., 2022) Di sisi lain, diketahui bahwa kadar vitamin D menjadi lebih rendah Dimana menghasilkan pelepasan sitokin yang dapat mempengaruhi kesehatan tulang. (Abdala1 et al., n.d.) Hubungan antara lemak subkutan dan kesehatan tulang telah menjadi bahan perdebatan. Penelitian telah menghasilkan hasil yang bertentangan. Beberapa penelitian seperti penelitian Pria Afro-Karibia yang Lebih Tua dan penelitian lain pada wanita yang lebih tua, menemukan bahwa jumlah SAT yang lebih tinggi dikaitkan dengan peningkatan kepadatan tulang yang lebih tinggi, yang menunjukkan adanya efek perlindungan pada kesehatan tulang. Lemak subkutan dapat membantu kekuatan tulang pada wanita muda yang sehat menurut penelitian Vicente Gilsanz dkk. (Lin et al., 2023)

Ketegangan statis yang dihasilkan oleh akumulasi lemak memiliki pengaruh yang lemah terhadap kekuatan tulang jika dibandingkan dengan ketegangan fungsional yang dihasilkan oleh otot pada tulang. Pada saat yang sama, baik adiposit maupun osteoblas mempunyai sel induk yang sama. Sel induk mesenkim ini diatur oleh factor transkripsi dan sinyal molekuler, seperti PPAR- γ , Runx2, Osx dalam proses diferensiasi menjadi osteoblas dan adiposit. Penelitian telah menunjukkan bahwa PPAR- γ sangat tereksresi dalam jaringan adiposa, membuat jaringan tulang lebih teresorbsi dibandingkan

mengalami pembentukan tulang, sehingga menyebabkan berkurangnya kualitas tulang. (Chang et al., 2021)(Cotter et al., 2009)

Pada penelitian terbaru juga menunjukkan bahwa kandungan mineral tulang dan massa mineral bermanfaat bagi kepadatan tulang dan kualitas tulang, karena kandungan mineral yang lebih tinggi pada tulang menunjukkan kekuatan tulang yang lebih besar. Angka ini juga lebih tinggi pada orang dengan kesehatan tulang normal. Oleh karena itu, promosi pola makan sehat menjadi sangat penting karena dapat meningkatkan mineral tulang. (Wang et al., 2024)

Dari beberapa penelitian sebelumnya, massa tubuh dapat dihitung melalui beberapa parameter antara lain melalui diameter puncak tulang femur, melalui perhitungan tinggi dan luas menggunakan metode bi-iliac dan yang lebih jarang lagi melalui perhitungan dimensi atau properti sendi dan penampang tulang. Mekanisme pengukuran massa tubuh seperti Lean Mass dan Fat Mass kurang mendapat perhatian. Massa tubuh terkait sekitar 80% dari variasi geometri penampang melintang. Menariknya, beberapa penelitian menunjukkan bahwa ukuran sendi dan penampang geometri lebih erat kaitannya dengan Lean Mass daripada Fat Mass meskipun hal ini belum diteliti secara ekstensif. (Pomeroy et al., 2018). Pada beberapa penelitian, diketahui bahwa dengan menggunakan metode “mekanis” sebagai dasar teori menjadikan persendian terutama pada tungkai bawah sebagai parameter untuk memperkirakan massa tubuh oleh karena ukuran proporsional dan beban mekanis yang ditopang. Sebagai komponen dari keseluruhan massa dan pembebanan tulang, baik Lean Mass maupun Fat Mass dapat secara individual berkaitan dengan sendi dan properti penampang melintang tulang . Tulang dan otot rangka membentuk “unit fungsional” Dimana properti penampang tulang merespons massa otot dan menghasilkan kekuatan untuk mempertahankan integritas mekanik melalui mekanisme umpan balik. Karena tulang dan otot rangka berasal dari sel progenitor yang sama dari somatic mesoderm dan mencapai puncak massa jaringan pada saat yang sama, mereka mungkin juga menunjukkan sifat yang berkorelasi yang dihasilkan dari genetik dan lingkungan yang sama selama perkembangan. Penelitian oleh Ruff menunjukkan bahwa relative pentingnya gaya gravitasi dan otot bervariasi berdasarkan tungkai, yang paling penting yaitu tungkai bawah lalu kemudian tungkai bagian atas, terutama pada laki-laki. Dengan menyesuaikan massa tubuh, terdapat korelasi yang kuat antara residual area otot dan kekuatan tulang humerus pada individu usia 17 tahun. Sedangkan dasar teori untuk hubungan antara Fat Mass dan properti tulang lebih lemah. Baik ukuran maupun property tulang lebih erat kaitannya dengan Lean Mass daripada Fat mass. Fat mass dianggap bukan merupakan predictor dari ukuran dan bentuk tulang. Hal ini ditunjukkan dari sebagian besar penelitian menggunakan parameter tulang femoralis melalui prosedur Dual X-ray Absorptiometry (DXA), dan Peripheral Quantitative Computed tomography (pQCT) yang melaporkan hasil yang sama. Terdapat beberapa alasan yang mendasari prediksi hubungan antara sifat penampang tulang dan adipositas bahwa massa lemak adalah komponen dari massa tubuh dan oleh karena itu berkontribusi pada pembebanan rangka; Bone Medullary Adipose tissue(BMAT) dapat menunjukkan hubungan terbalik dengan massa tubuh dan memiliki kesamaan sel progenitor yang sama dengan osteoblas sedangkan tulang merupakan sumber hormon yang berperan dalam pengaturan keseimbangan energi. Sifat tulang pada tungkai bawah harus lebih dekat berhubungan dengan massa

tubuh pada manusia sejak tungkai atas tidak secara rutin menopang massa tubuh setelah masa bayi. Oleh karena itu, kami juga memperkirakan bahwa tulang-tulang tungkai bawah (tibia, femur) akan memiliki hubungan yang lebih kuat dengan massa tubuh dan komponen-komponennya dibandingkan dengan tungkai atas. (Pomeroy et al., 2018)

Komposisi tubuh, antara lain Lean Mass dan Fat Mass dilaporkan berkaitan erat dengan kepadatan mineral tulang pada anak-anak dan remaja. LM secara jelas terkait dengan peningkatan kepadatan tulang karena beban mekanis yang ditambahkan ke kerangka. Namun, hubungan antara FM dan massa tulang masih belum jelas. FM pada awalnya dianggap sebagai faktor pelindung untuk kesehatan tulang karena peningkatan yang terjadi sebagai akibat dari total massa tubuh yang lebih tinggi; efek ini diperkirakan dimediasi oleh berbagai osteokin, adipokin, dan miokin. Namun, laporan terbaru telah mengindikasikan hubungan yang kompleks antara FM dan kesehatan tulang. Jaringan adiposa mungkin memiliki efek yang tidak menguntungkan pada kesehatan tulang karena peradangan, stres oksidatif dan derivasi adiposit dan osteoblas dari progenitor sel induk mesenkim. Sebuah meta-analisis tentang pengaruh jaringan adiposa pada massa tulang pada orang dewasa menemukan bahwa FM adalah berkorelasi positif dengan BMD dan persentase FM berhubungan dengan massa tulang yang rendah. (Deng et al., 2021)

1.3 Rumusan Masalah

Kesehatan tulang merupakan aspek penting dalam pertumbuhan dan perkembangan anak.. Salah satu faktor utama yang mempengaruhi kesehatan tulang adalah asupan kalsium. Kalsium merupakan mineral esensial yang diperlukan untuk pembentukan dan pemeliharaan tulang yang kuat. Namun, suplementasi kalsium konvensional sering kali kurang efektif dalam meningkatkan kesehatan tulang secara signifikan. Selain itu, banyak produk kalsium di pasaran yang kurang optimal dalam hal bioavailabilitas, sehingga kalsium yang dikonsumsi tidak sepenuhnya diserap oleh tubuh. Oleh karena itu, diperlukan inovasi dalam bentuk suplementasi kalsium yang lebih efektif dan memiliki tingkat penyerapan yang lebih tinggi.

Dalam upaya mencari solusi, nanokalsium dan nanokitosan muncul sebagai bahan alami yang menjanjikan. Nanokalsium yang diekstrak dari ikan teri diketahui memiliki ukuran partikel yang sangat kecil, sehingga meningkatkan bioavailabilitas dan penyerapan kalsium dalam tubuh. Di sisi lain, nanokitosan yang diekstrak dari kulit udang memiliki sifat biokompatibilitas dan bioaktivitas yang dapat mendukung penyerapan mineral tulang.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah terdapat perbedaan kandungan osteosit dengan pemanfaatan kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang terhadap status kesehatan tulang mandibula pada anak?
2. Apakah terdapat perbedaan kandungan Lean Mass dengan pemanfaatan kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang terhadap status kesehatan tulang mandibula pada anak?

3. Apakah terdapat perbedaan kandungan Fat Mass dengan pemanfaatan kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang terhadap status kesehatan tulang pada anak ?

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui efektifitas kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan ekstrak nanokitosan kulit udang terhadap status kesehatan tulang

1.4.2 Tujuan khusus

1. Untuk mengetahui perbedaan kandungan osteosit pada kelompok kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang terhadap status kesehatan tulang mandibula pada anak
2. Untuk mengetahui perbedaan kandungan Lean Mass pada kelompok kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang terhadap status kesehatan tulang mandibula pada anak
3. Untuk mengetahui perbedaan kandungan Fat Mass pada kelompok kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang terhadap status kesehatan tulang mandibula pada anak

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat pengembangan ilmu

1. Menambah pengetahuan ilmiah tentang potensi pemanfaatan kombinasi ikan teri dan kulit udang untuk peningkatan status kesehatan tulang pada anak
2. Pemanfaatan kombinasi ikan teri dan kulit udang dapat menjadi pertimbangan dalam peningkatan status kesehatan tulang pada anak sebagai bahan alternatif dalam bentuk suplemen yang murah dan mudah diperoleh.

1.5.2 Manfaat klinis

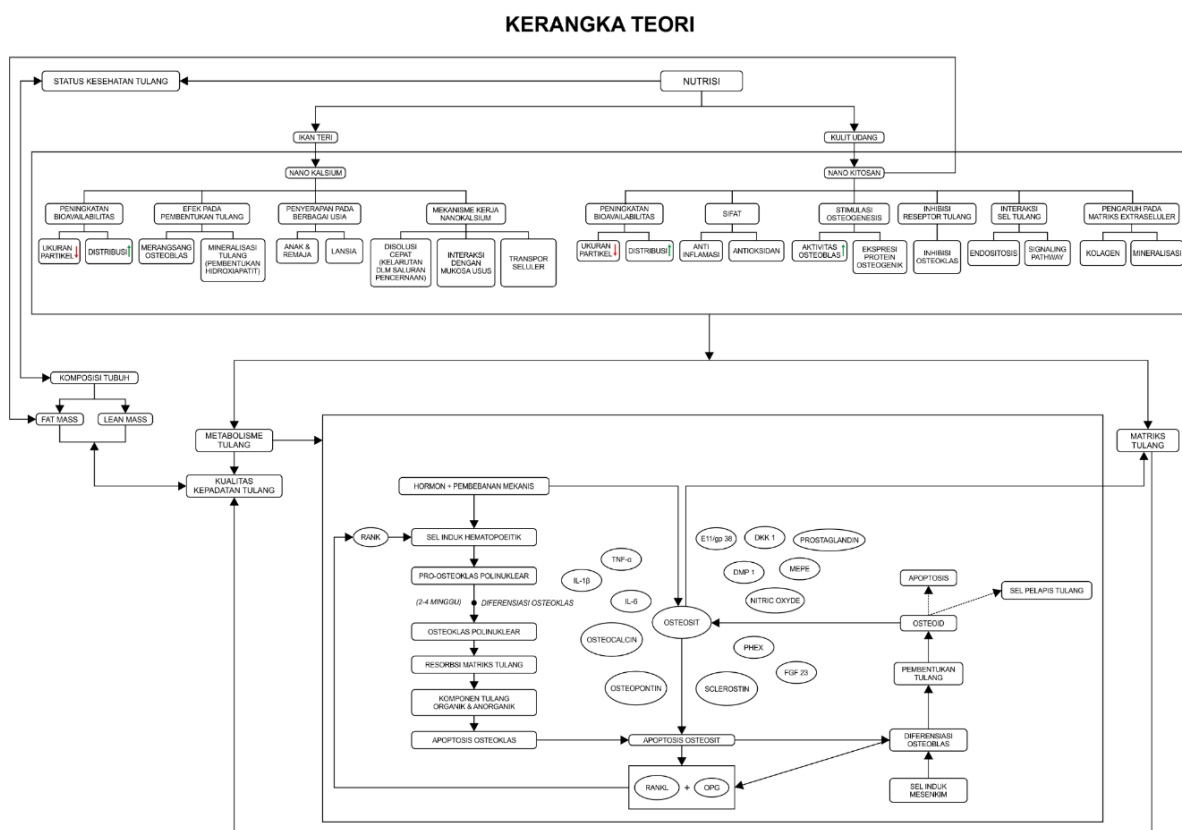
1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperkaya ilmu pengetahuan pada umumnya dan di bidang kedokteran gigi khususnya pada bagian kedokteran gigi anak
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi dokter gigi dan dokter gigi spesialis kedokteran gigi anak pada khususnya mengenai pengaruh pemanfaatan kombinasi ekstrak ikan teri dan ekstrak kulit udang sebagai sumber kalsium yang berperan dalam peningkatan status kesehatan tulang pada anak
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi alternatif sumber nutrisi kalsium dalam

peningkatan status kesehatan tulang pada anak

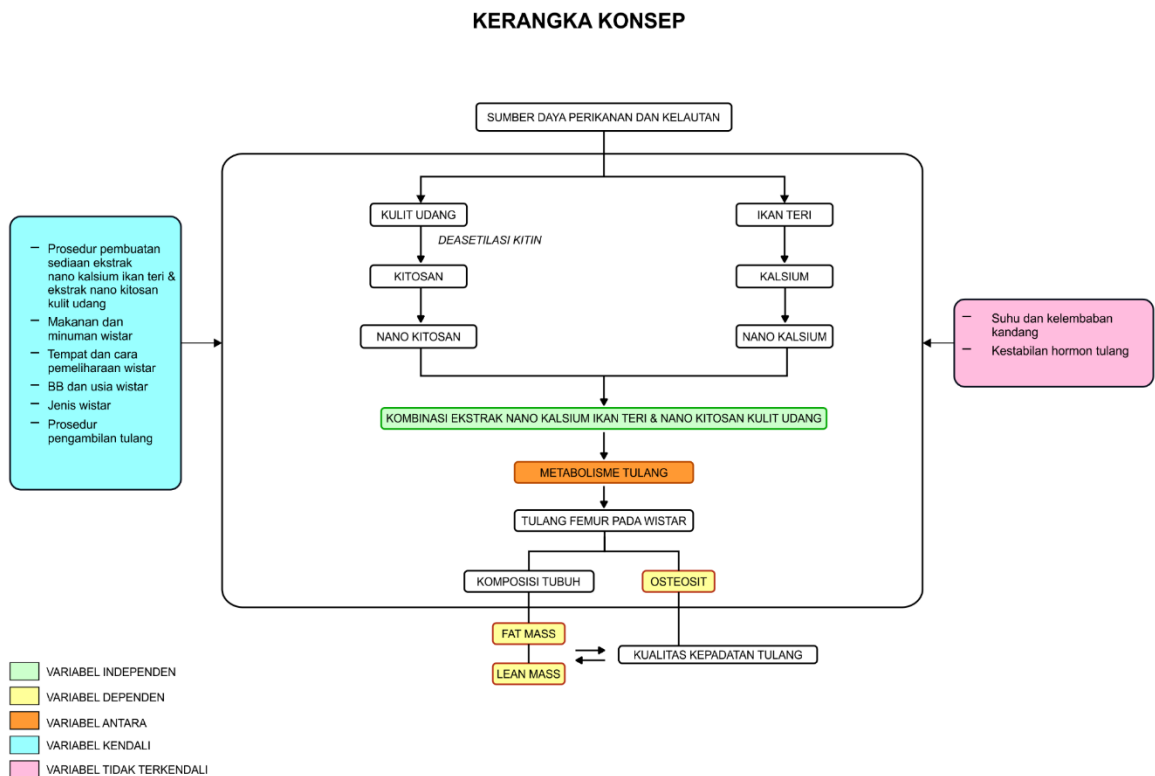
4. Hasil penelitian ini dapat dikembangkan untuk membuat suplementasi yang membantu peningkatan status kesehatan tulang pada anak
5. Hasil penelitian ini dapat menjadi dasar penelitian lanjutan yang berhubungan dengan pemanfaatan sumber daya alam maritim dan pemanfaatan kombinasi ekstrak ikan teri dan ekstrak kulit udang dalam peningkatan status kesehatan tulang pada anak

1.6 Kerangka Pemikiran

1.6.1 Kerangka Teori



1.6.2 Kerangka Konsep



1.7 Hipotesis

1. Kandungan osteocyte pada kelompok kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan ekstrak nanokitosan kulit udang memiliki perbedaan yang signifikan terhadap status kesehatan tulang mandibula pada anak
2. Kandungan Lean Mass pada kelompok kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan ekstrak nanokitosan kulit udang memiliki perbedaan yang signifikan terhadap status kesehatan tulang mandibula pada anak
3. Kandungan Fat Mass pada kelompok kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan ekstrak nanokitosan kulit udang memiliki perbedaan yang signifikan terhadap status kesehatan tulang mandibula pada anak

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *eksperimental laboratoris* dengan rancangan penelitian *posttest only control group design* yaitu kelompok yang diberi perlakuan dan kelompok kontrol kemudian dilakukan observasi dengan menggunakan tikus wistar sebagai subjek penelitian.

2.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

2.2.1 Waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli – Oktober 2024

2.2.2 Lokasi penelitian

1. Laboratorium Pengujian Kimia, Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkep tempat pembuatan ekstrak ikan teri dan ekstrak kulit udang
2. Klinik Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin (pemeliharaan hewan, pembuatan dan pewarnaan slide prepare, Perhitungan kandungan osteosit, kadar Lean Mass, dan kadar Fat mass)

2.3 Populasi dan Sampel Penelitian

2.3.1 Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah seluruh hewan coba galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang sehat dan beraktifitas normal, jenis kelamin Jantan, berat badan 150-220 gr, umur 6-8 minggu.

2.3.2 Sampel penelitian

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

2.3.3 Kriteria inklusi dan kriteria eksklusi

Kriteria Inklusi:

- a. *Rattus norvegicus* jantan dan berumur 6 - 8 minggu
- b. Berat badan rata rata 150-220 gram
- c. 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

Kriteria Eksklusi:

- a. Tikus wistar nampak sakit ditandai dengan rambut kusam, rontok, dan gerak tidak aktif, serta konsumsi pakan tidak lancar

- b. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium
- c. Tikus wistar mati selama penelitian

2.3.4 Besar sampel penelitian

Sebagai penelitian experimental laboratoris, jumlah sampel penelitian ini dihitung berdasarkan rumus Federer.

Cara menghitung sampel:

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

$$(5-1) \times (r-1) \geq 15$$

$$4r-4 \geq 15$$

$$r \geq 5$$

Keterangan: r = jumlah pengulangan perkelompok

t = jumlah kelompok penelitian

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

Berdasarkan perhitungan diatas jumlah sampel minimum sebanyak 5 sampel pada setiap kelompok. Karena ada 5 kelompok perlakuan maka total sampel yang digunakan adalah 25 ekor tikus

$$N = \frac{n}{1-f}$$

Keterangan:

N: besar sampel koreksi

n: Jumlah pengulangan

f : perkiraan proporsi drop out sebesar 10% (Yana, E 2014)

N : $5 : (1-10\%) = 10$

Maka jumlah sampel total dalam penelitian ini adalah 25 sampel

2.4 Identifikasi Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Penelitian

2.4.1 Identifikasi variabel penelitian

1. Variabel bebas: Ekstrak ikan teri dan Ekstrak kulit udang
2. Variabel antara: Status Kesehatan Tulang
3. Variabel terikat: Osteocyte, Lean Mass (LM), Fat Mass (FM)
4. Variabel Kendali: Prosedur pembuatan ekstrak , makanan dan minuman wistar, tempat dan cara pemeliharaan, BB dan usia wistar, Jenis wistar, Prosedur pengambilan tulang
5. Variabel Tak Terkendali: Suhu dan kelembaban kandang, kestabilan hormon tulang

2.4.2 Definisi operasional penelitian

1. Ekstrak nanokalsium ikan teri : Nanokalsium merupakan kalsium yang di proses menjadi partikel berukuran nano untuk meningkatkan bioavailabilitas dan penyerapan oleh tubuh. Ekstrak nanokalsium ikan teri diperoleh melalui proses ekstraksi dan nanoteknologi. Konsentrasi dan dosis ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini diukur dalam miligram per kilogram berat badan tikus (mg/kg BB)

2. Ekstrak nanokitosan kulit udang : Nanokitosan adalah kitosan yang diubah menjadi partikel nano untuk meningkatkan bioaktivitas dan biokompatibilitasnya. Ekstrak nanokitosan kulit udang diperoleh melalui proses ekstraksi dan nanoteknologi. Konsentrasi dan dosis ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini diukur dalam miligram per kilogram berat badan tikus (mg/kg BB)
3. Status kesehatan tulang adalah kondisi kesehatan tulang yang mencakup kekuatan, densitas, dan kualitas tulang. Diukur melalui beberapa parameter termasuk kandungan osteocyte, fat mass, dan lean mass pada tulang.
4. Osteocyte merupakan sel tulang yang berada dalam matriks tulang dan memainkan peran penting dalam pemeliharaan dan metabolisme tulang. Kandungan osteocyte diukur menggunakan teknik histomorfometri yaitu jumlah osteocyte per milimeter persegi jaringan tulang.
5. Fat Mass pada tulang merupakan jumlah massa lemak yang ada dalam jaringan tulang yang diukur menggunakan Teknik histologi berupa pewarnaan khusus (menyertakan jaringan lemak dan otot sekitarnya) dengan pewarnaan khusus H&E
6. Lean Mass pada tulang merupakan jumlah massa tanpa lemak (termasuk otot dan jaringan tanpa lemak lainnya) yang ada dalam jaringan tulang yang diukur menggunakan Teknik histologi berupa pewarnaan khusus dengan pewarnaan khusus H&E

2.5 Alat dan Bahan

2.5.1 Alat dan bahan pemeliharaan hewan coba *rattus novvergicus*

1. Kandang dengan lantai *Glassfiber Reinforced Concentrate (GRC)*, dinding dan atap dari bedding kawat
2. Tempat makan dan minum dari plastik khusus tikus yang dibeli dari klinik hewan

2.5.2 Alat dan bahan pembuatan ekstrak nanokalsium ikan teri

Alat

1. Blender atau Alat Penghancur: Digunakan untuk menghancurkan ikan teri menjadi serbuk kasar.
2. Alat Penggiling (Ball Mill atau Alat Penggilingan Nano): Digunakan untuk menggiling serbuk kasar menjadi partikel nano.
3. Oven atau Pengereng: Untuk mengeringkan serbuk ikan teri setelah dicuci.
4. Centrifuge: Digunakan untuk memisahkan partikel berdasarkan densitas setelah proses presipitasi.
5. Hot Plate atau Pemanas: Untuk memanaskan larutan selama proses demineralisasi dan deproteinasi.
6. Beaker: Wadah untuk mencampur bahan kimia selama proses ekstraksi.
7. Magnetic Stirrer: Untuk mencampur larutan secara homogen.
8. Filter dan Kertas Saring: Untuk menyaring larutan dan memisahkan endapan.
9. Pipet: Untuk menambahkan reagen kimia dengan presisi.
10. Timbangan Digital: Untuk mengukur jumlah bahan dengan akurat.

11. Scanning Electron Microscope (SEM) atau Transmission Electron Microscope (TEM): Untuk menganalisis ukuran partikel nanokalsium yang dihasilkan.
12. pH Meter: Untuk mengukur pH larutan selama proses ekstraksi.
13. Glassware Set: Termasuk gelas ukur, corong, dan tabung reaksi.

Bahan

1. Ikan Teri: Bahan baku utama yang akan diekstraksi untuk mendapatkan kalsium.
2. Asam Klorida (HCl): Digunakan dalam proses demineralisasi untuk melarutkan kalsium karbonat menjadi kalsium klorida.
3. Natrium Hidroksida (NaOH): Digunakan dalam proses presipitasi untuk mengendapkan kalsium dalam bentuk kalsium hidroksida.
4. Air Distilasi atau Deionisasi: Digunakan untuk mencuci dan melarutkan bahan selama proses.
5. Asam Asetat: Opsional, dapat digunakan untuk membantu dalam proses demineralisasi.
6. Etil Alkohol atau Metanol: Digunakan untuk mencuci endapan kalsium untuk memastikan kemurnian.
7. Buffer Larutan: Untuk menstabilkan pH selama proses tertentu.
8. Larutan Pengawet (seperti formalin): Digunakan untuk menyimpan sampel sebelum analisis lebih lanjut jika diperlukan.
9. Kertas Saring atau Membran Filter: Untuk memisahkan endapan selama proses filtrasi.
10. Reagen Pewarnaan (jika diperlukan untuk analisis mikroskopis): Untuk pewarnaan sampel yang akan dianalisis di bawah mikroskop.

2.5.3 Alat dan bahan pembuatan ekstrak nanokitosan kulit udang

Alat

1. Blender atau Penghancur: Untuk menghancurkan kulit udang menjadi serbuk kasar.
2. Saringan: Untuk memisahkan partikel yang lebih besar setelah penghancuran awal.
3. Oven atau Pengering: Untuk mengeringkan kulit udang sebelum dan sesudah proses kimia.
4. Timbangan Digital: Untuk mengukur bahan dengan presisi.
5. Beaker dan Gelas Ukur: Untuk mencampur dan mengukur reagen kimia.
6. Hot Plate atau Pemanas: Untuk memanaskan larutan selama proses demineralisasi dan deproteinasi.
7. Magnetic Stirrer: Untuk mencampur larutan secara homogen.
8. pH Meter: Untuk mengukur dan menyesuaikan pH larutan.
9. Centrifuge: Untuk memisahkan endapan dari larutan selama proses.
10. Ball Mill atau Alat Penggilingan Nano: Untuk menggiling kitosan menjadi nanopartikel.
11. Vacuum Filter atau Filtrasi: Untuk menyaring larutan setelah reaksi kimia.
12. SEM (Scanning Electron Microscope) atau TEM (Transmission Electron Microscope): Untuk analisis ukuran partikel nanokitosan.
13. Spektrofotometer UV-Vis: Untuk menganalisis konsentrasi nanokitosan.

14. Kaca Pembesar atau Mikroskop Cahaya: Untuk pengamatan awal ukuran partikel dan bentuknya.
15. Peralatan Pelindung Diri (APD): Seperti sarung tangan, kacamata pelindung, dan jas lab untuk keamanan.

Bahan

1. Kulit Udang: Bahan baku utama yang akan diekstraksi.
2. Asam Klorida (HCl): Digunakan untuk proses demineralisasi untuk menghilangkan mineral dari kulit udang.
3. Natrium Hidroksida (NaOH): Digunakan dalam proses deproteinasi dan deasetilasi untuk mengubah kitin menjadi kitosan.
4. Asam Asetat (CH₃COOH): Untuk melarutkan kitosan selama proses pembuatan larutan kitosan.
5. Sodium Tripolifosfat (STPP): Digunakan dalam proses gelasi ionik untuk membuat nanopartikel kitosan.
6. Air Distilasi atau Deionisasi: Digunakan untuk mencuci dan melarutkan bahan selama proses.
7. Etanol atau Metanol: Digunakan untuk mencuci endapan dan menghilangkan kontaminan organik.
8. Buffer Larutan: Untuk menstabilkan pH selama beberapa tahap proses.

2.5.4 Alat dan bahan perlakuan hewan coba

Alat

1. Alat Euthanasia:
2. CO₂ Chamber atau Overdose Anestesi: Metode yang umum digunakan untuk euthanasia hewan laboratorium.
3. Scalpel: Pisau bedah steril untuk melakukan pembedahan pada hewan coba.
4. Gunting Bedah: Gunting tajam dan steril untuk memotong jaringan lunak.
5. Pinset: Pinset steril untuk memegang dan memindahkan jaringan.
6. Retraktor: Alat untuk membuka jaringan dan mendapatkan akses ke tulang femur.
7. Gergaji Bedah atau Bone Cutter: Alat untuk memotong tulang femur jika diperlukan.
8. Steril Surgical Gloves: Sarung tangan steril untuk menjaga kebersihan selama prosedur.
9. Forceps: Untuk memegang tulang atau jaringan selama pembedahan.
10. Tray atau Petri Dish Steril: Untuk menempatkan tulang femur setelah diambil.
11. Gauze dan Cotton Swabs: Untuk membersihkan area bedah dan menyerap cairan.
12. Fiksatif (misalnya, Formalin): Untuk menyimpan tulang setelah diambil jika diperlukan untuk analisis lebih lanjut.
13. Alat Penyimpanan: Botol atau kontainer steril untuk menyimpan tulang femur.
14. Marker atau Label: Untuk menandai spesimen tulang yang diambil.
15. Cool Box atau Freezer: Untuk menyimpan tulang femur sebelum diproses lebih lanjut.

Bahan

1. **Anestesi**: Untuk menginduksi anestesi sebelum euthanasia, seperti isofluran atau ketamin/xylazine.
2. **Antiseptik**: Seperti povidone-iodine atau alkohol untuk membersihkan area pembedahan.
3. **Saline Steril**: Untuk mencuci area bedah dan menjaga kelembapan jaringan.
4. **Media Penyimpanan**: Seperti PBS (Phosphate Buffered Saline) atau media lain untuk menjaga tulang selama transportasi.
5. **Fiksatif (Formalin atau Ethanol)**: Jika tulang akan difiksasi untuk analisis histologi.

2.6 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini melalui proses kalibrasi alat secara berkesinambungan

2.6.1 Pembuatan ekstrak anokalsium Ikan Teri

Bahan baku ikan teri yang segar atau dikeringkan dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran dan garam yang menempel. Setelah itu, ikan teri dikeringkan untuk menghilangkan kandungan air. Ikan teri yang sudah kering dihancurkan menggunakan blender atau alat penghancur lainnya untuk memperoleh bentuk serbuk kasar. Serbuk kasar dari ikan teri kemudian digiling lebih lanjut menggunakan alat penggiling yang lebih halus hingga mencapai ukuran partikel yang lebih kecil. Proses Dekalsifikasi dilakukan dengan penambahan asam dimana serbuk ikan teri dicampur dengan larutan asam (biasanya 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. Proses presipitasi kalsium dilakukan dengan penambahan basa yaitu Larutan kalsium klorida ditambahkan ke dalam larutan basa (biasanya 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 atau metode penggilingan nano lainnya. Ukuran partikel nanokalsium yang dihasilkan dianalisis menggunakan alat seperti Scanning Electron Microscope (SEM) atau Transmission Electron Microscope (TEM) untuk memastikan bahwa ukurannya berada dalam skala nano. Nanokalsium yang dihasilkan dikemas dalam wadah yang bersih dan kering untuk menghindari kontaminasi dan penyerapan kelembapan.

2.6.2 Pembuatan ekstrak nanokitosan kulit udang

Bahan Baku Kulit udang yang segar atau telah dikeringkan. Kulit udang dicuci bersih dengan air untuk menghilangkan kotoran dan kontaminan lainnya. Setelah itu, kulit udang dikeringkan hingga kadar air minimal. Ekstraksi Kitosan dari Kulit Udang dapat dilakukan dengan tahapan **Demineralisasi** Dimana Kulit udang direndam dalam larutan asam (misalnya asam klorida 1-2%) selama beberapa jam untuk menghilangkan mineral, terutama kalsium karbonat. Proses ini diikuti dengan pencucian dengan air untuk menghilangkan sisa asam. Lalu **Deproteinasi** Dimana Kulit udang yang telah didekalsifikasi kemudian direndam dalam larutan basa (biasanya natrium hidroksida 1-5%) pada suhu tinggi untuk menghilangkan protein. Proses ini diikuti dengan pencucian dengan air untuk menghilangkan sisa basa. Hingga tahap **Deasetilasi** Dimana Kitosan diperoleh dengan mendeasetilasi kitin yang ada dalam kulit udang. Proses ini dilakukan dengan merendam kitin dalam larutan basa kuat (misalnya natrium hidroksida 40-50%) pada suhu tinggi untuk jangka waktu tertentu. Hasilnya 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. Proses **Gelasi Ionik** dilakukan dengan Kitosan dilarutkan dalam asam asetat kemudian ditambahkan ke dalam larutan sodium tripolifosfat (STPP) untuk membentuk nanopartikel melalui proses pengadukan cepat. Ukuran partikel nanokitosan dianalisis menggunakan Dynamic Light Scattering (DLS) atau Transmission Electron Microscopy (TEM). Kemudian Nanokitosan dikemas dalam wadah kedap udara untuk menghindari kontaminasi dan penyerapan kelembaban.

2.6.3 Pemeliharaan hewan coba

Hewan coba tikus wistar jantan yang digunakan merupakan hewan coba jinak dengan perawatan sederhana yang memiliki fungsi metabolisme mirip manusia. Sebelum perlakuan, tikus wistar jantan diadaptasikan dan dipelihara secara berkelompok (4-5 ekor per kandang). Adaptasi hewan dilakukan selama 7 hari sebelum perlakuan untuk mengkondisikan hewan dalam keadaan sehat. Makanan berupa pellet dan sayuran yang setiap hari dikombinasikan. Temperatur dan kelembapan ruangan dibiarkan berada pada kisaran alamiah.

2.6.4 Penentuan dosis kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan ekstrak 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 1300 mg/hari sedangkan untuk nanokitosan menunjukkan efek positif dengan dosis

1500 mg/hari

Berdasarkan tabel konversi dosis hewan dengan manusia diperoleh nilai konversi manusia dengan berat badan 70 kg dapat dikonversi pada tikus dengan bobot 200 gr dengan faktor konversi pada tikus sebesar 0,018. (Salekhah, 2021)

Sehingga untuk bobot tikus wistar jantan ideal dengan rentang 150 – 220 gr, dan berpatokan pada dosis harian manusia direntang usi 10 – 14 tahun didapatkan hasil perhitungan dosis asupan harian untuk :

Nanokalsium : $1300 \times 0,018 = 23,4 \text{ mg} / 200 \text{ gr tikus} = 20 \text{ mg} / 200 \text{ gr tikus}$

Nanokitosan : $1500 \times 0,018 = 27 \text{ mg} / 200 \text{ gr tikus} = 30 \text{ mg} / 200 \text{ gr tikus}$

Saat menentukan dosis kombinasi sebagai dosis permulaan sebaiknya dimulai dari dosis konservatif menggunakan dosis yang lebih rendah dari rentang yang telah diuji :

Nanokalsium : 10 mg

Nanokitosan : 20 mg

2.6.5 Perlakuan hewan coba

Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok. Pemberian makan pakan standar sebanyak 2 kali sehari (pagi dan sore) serta diberi minum air mineral diberikan pada seluruh kelompok yaitu kelompok 1 sebagai kelompok kontrol negatif, kelompok 2 sebagai kelompok kontrol positif yang ditambahkan pemberian susu HL, kelompok 3 sebagai kelompok perlakuan 1 yang ditambahkan pemberian ekstrak nanokalsium ikan teri, kelompok 4 sebagai kelompok perlakuan 2 yang ditambahkan pemberian ekstrak nanokitosan kulit udang serta kelompok 5 sebagai kelompok perlakuan yang ditambahkan kombinasi ekstrak nanokalsium ikan teri dan nanokitosan kulit udang. Perlakuan diberikan setiap hari sampai hari ke-40. Setelah 40 hari, Hewan coba diinduksi dengan anestesi yang sesuai untuk memastikan tidak ada rasa sakit selama prosedur. Euthanasia dilakukan menggunakan metode yang telah disetujui, yaitu anestesi dengan kombinasi ketamin dan xylazine masing-masing dengan dosis 0,1 ml total 0,2 ml per ekor dengan teknik injeksi intramuskuler sampai tanda-tanda vital tikus hilang. Prosedur pengambilan tulang mandibula dimulai dari hewan coba ditempatkan pada permukaan kerja steril. Area pembedahan disterilkan menggunakan antiseptik larutan NaCl. Kulit dan otot di sekitar mandibula dipotong menggunakan scalpel dan gunting bedah. Tulang mandibula diidentifikasi dan dipisahkan dari jaringan sekitarnya menggunakan pinset dan retraktor. Jika diperlukan, tulang dipotong menggunakan bone cutter atau gergaji bedah. Tulang mandibula yang diambil ditempatkan pada tray atau petri dish steril kemudian dicuci dengan saline steril jika diperlukan. Tulang difiksasi menggunakan formalin atau disimpan dalam media penyimpanan yang sesuai.

2.6.6 Prosedur persiapan sediaan tulang

Tahapan Pembuatan Sediaan Tulang Mandibula Wistar

1. **Pembersihan:** Bersihkan tulang dari sisa jaringan lunak menggunakan larutan saline dingin atau alkohol 70%. Hindari merusak struktur tulang.
2. **Fiksasi:** Tempatkan tulang dalam larutan fiksatif seperti formalin 10% selama 24-48 jam untuk menjaga struktur jaringan.
3. **Dekalsifikasi:** Jika diperlukan analisis histologi, tulang dapat didekalsifikasi menggunakan larutan dekalsifikasi seperti EDTA atau asam formiat selama 2-4 minggu tergantung pada ketebalan tulang.

Tahapan Prosesing Jaringan Tulang Mandibula Wistar

1. **Dehidrasi:** Tulang didehidrasi melalui rangkaian larutan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, dan 100%).
2. **Penyematan:** Tulang kemudian disematkan dalam parafin atau resin untuk memungkinkan pemotongan bagian tipis.
3. **Pemotongan:** Gunakan mikrotom untuk memotong irisan tipis (5-10 μ m) dari tulang yang disematkan.
4. **Pewarnaan:** Irisan tulang diwarnai dengan pewarna histologi seperti Hematoxylin dan Eosin (H&E) atau pewarna khusus seperti Masson's Trichrome untuk menilai struktur tulang dan sel-sel terkait.
5. Hasil Pewarnaan kemudian dikeringkan dalam inkubator lalu difoto menggunakan kamera optilab yang hasilnya kemudian dianalisis menggunakan aplikasi image-J sehingga menghasilkan data dalam bentuk sebaran nilai

2.6.7 Pengumpulan dan Analisis Data

1. Jenis Data : Data Primer
2. Pengolahan Data : SPSS 26.0 untuk windows 10
3. Analisis Data : Uji Analisis dengan uji Shapiro-Wilk dan Uji One-way Anova. Uji Shapiro-Wilk adalah uji normalitas data yang digunakan untuk melihat apakah data terdistribusi normal. Uji One-way Anova adalah uji yang digunakan untuk menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelima kelompok penelitian.
4. Penyajian Data : dalam bentuk tabel dan gambar

2.7 Izin Etik

Penelitian ini telah mendapat ijin dari Badan Etika Penelitian Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin dengan Nomor: 0200/PL.09/KEPK FKG-RSGM UNHAS/2024.

2.8 Alur Penelitian

