

Pengaruh Pemberian Nano Kalsium dari Eksoskeleton Kepiting Bakau (*Scylla sp.*) Selama Masa Kebuntingan dan Laktasi terhadap Kekerasan Gigi Tikus (F1)

Ade Komariah*, Novia Alamsyah

Universitas Trisakti Jakarta

*E-mail: akomariah67@gmail.com

Abstract: Nano kalsium merupakan modifikasi kalsium yang memiliki peran penting dalam proses pembentukan tulang dan gigi. Pembentukan gigi yang kuat dipengaruhi oleh asupan kalsium yang cukup baik semasa neonatal dan pascanatal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kalsium secara oral yang telah dilakukan modifikasi fisik dalam bentuk nano partikel yang diberikan selama masa kebuntingan dan laktasi dalam mempengaruhi kekerasan gigi pada anak tikus (F1). Pengujian partikel nano menggunakan uji *Scanning Electron Microscope* (SEM), sedangkan untuk mengetahui pengaruh pemberian nano kalsium terhadap gigi dilakukan percobaan dengan membagi menjadi 3 kelompok perlakuan yaitu tikus kontrol, tikus perlakuan nano kalsium selama kebuntingan, tikus perlakuan nano kalsium saat masa laktasi, kemudian uji kekerasan gigi tikus (F1) dengan menggunakan alat uji kekerasan *mikro vickers*. Berdasarkan hasil analisis SEM dengan perbesaran 1.000x menunjukkan bahwa ukuran partikel serbuk nanokalsium memiliki kisaran nilai ≤ 1000 nm. Uji kekerasan pada tiap kelompok percobaan dapat dilihat angka kekerasan yang dihasilkan dalam satuan *Hardness Value* (HV). Berdasarkan uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$) pada masing masing kelompok perlakuan, hal ini membuktikan bahwa pemberian nano kalsium pada tiap kelompok perlakuan memiliki hasil yang berbeda-beda. Pada penelitian ini kelompok kontrol memiliki nilai kekerasan gigi yang paling rendah, sedangkan tikus perlakuan nano kalsium selama laktasi memiliki nilai kekerasan gigi yang paling tinggi.

Keywords: nanokalsium, SEM, *mikro vickers*, nilai kekerasan

1. PENDAHULUAN

Pada awal pertumbuhan, setiap individu memerlukan asupan gizi yang cukup agar proses tumbuh kembang dapat berjalan dengan baik dan sempurna. Salah satu unsur terpenting dalam membantu proses tumbuh kembang adalah kalsium (Almatsier 2004).

Akan tetapi, salah satu masalah yang dihadapi Kalsium merupakan mineral paling banyak terdapat dalam tubuh, yaitu 1,5-2% dari berat badan orang dewasa dan mengatur pekerjaan hormon-hormon dan faktor pertumbuhan. Berdasarkan jumlah yang ada 99% kalsium berada didalam jaringan keras, yaitu tulang dan gigi (Amir *et al.* 2014).

Kalsium sangat dibutuhkan oleh Ibu hamil pada saat memasuki trimester III kehamilan, pada masa inilah janin mulai tumbuh dengan pesat, terutama untuk pembentukan tulang dan giginya. Kebutuhannya sekitar 1.200 mg per hari jauh lebih besar dibandingkan dengan kebutuhan normal yang hanya 1000 mg per hari. Kebutuhan kalsium maternal meningkat pada masa awal kehamilan hingga proses melahirkan dan menyusui. Kebutuhan ini diperlihatkan oleh meningkatnya absorpsi kalsium di saluran pencernaan, dan meningkatnya resorpsi tulang pada masa

kehamilan. Kalsium di transfer secara aktif ke fetus; melalui jalur yang hampir bersamaan, dan tidak ada penghalang melalui sawar plasenta (Lagerkvist *et al.* 1996).

Kalsium diperoleh dari hasil ekstraksi cangkang rajungan. Pemanfaatan limbah cangkang menjadi permasalahan lingkungan yang belum sepenuhnya ditangani, namun dengan memberikan perlakuan terhadap cangkang menjadi salah satu alternatif penyelesaian limbah cangkang. Limbah cangkang krustase mengandung 30-40% protein, 30-50% kalsium karbonat, dan 20-30% kitin. Keberadaan kalsium dalam limbah cangkang rajungan menjadi salah satu alternatif pemanfaat yang luas di bidang farmasi dan kesehatan yaitu sebagai penguat gigi dan tulang (Arbia *et al.* 2011).

Keberadaan kalsium dalam lingkungan sekitar gigi memiliki sifat-sifat yang potensial untuk terjadinya peningkatan kapasitas kekerasan pada gigi, dimana fungsi utama kalsium memberikan kekerasan dan kekuatan pada tulang dan gigi, namun pentingnya peran kalsium tidak diimbangi dengan proses penyerapan kalsium dalam tubuh yang masih mengalami kendala, disebabkan karena ukuran partikel kalsium yang masih cukup besar, sehingga hanya 23% yang terserap dengan baik (Coe *et al.* 1996). Akibatnya dapat menimbulkan defisiensi kalsium yang berdampak pada berbagai



keluhan padatulang, gigi, darah, syaraf, dan metabolisme tubuh. Asupan kalsium yang tidak terpenuhi selama kehamilan mengakibatkan terjadi pengambilan kalsium yang disimpan dalam tulang untuk mempertahankan fungsi biologis normal (Tongchan *et al.* 2009).

Kalsium yang umum dikonsumsi terdapat dalam bentuk mikro kalsium. Ukuran partikel kalsium terkait dengan besarnya penyerapan ke dalam tubuh. Akibat ukuran partikel kalsium yang cukup besar, para peneliti melakukan inovasi baru yaitu dengan memodifikasi bentuk fisik kalsium menjadi bentuk nanokalsium yang diharapkan dapat mempermudah proses penyerapan dan membantu mencukupi kebutuhan sehari-hari. Menurut Suptijah 2009, kalsium dalam bentuk nano partikel menyebabkan reseptor cepat masuk, sehingga dapat dimanfaatkan oleh tubuh dengan sempurna (Suptijah *et al.* 2011).

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan *posttest randomized controlled group design*. Dua kelompok penelitian yaitu kelompok eksperimental (X1) dan kelompok kontrol (X0), dimana kelompok eksperimental diberikan perlakuan sedangkan kelompok kontrol tidak. Eksperimen dilakukan dengan memberikan perlakuan pada tikus *Sprague Dawley* yang diberikan nano kalsium secara oral selama masa kebuntingan dan laktasi untuk melihat ada tidaknya pengaruh pemberian kalsium yang telah dimodifikasi fisik menjadi nano partikel terhadap kekerasan gigi anak tikus (F1).

Kelas X MIA 1 dijadikan sebagai kelas eksperimen dengan menggunakan strategi pembelajaran *two stay two stray*, yaitu dengan adanya pembagian tugas pada setiap kelompok, dua orang siswa tinggal di dalam kelompok dan dua orang siswa bertamu ke kelompok lain. Dua orang yang tinggal bertugas memberikan informasi kepada tamu tentang hasil diskusi kelompoknya, sedangkan dua orang yang bertamu bertugas mencatat hasil diskusi kelompok yang dikunjunginya dan menjelaskan kembali informasi yang di dapat dari kelompok lain kepada teman kelompok yang bertugas untuk tinggal. Sedangkan kelas X MIA 3 dijadikan sebagai kelas kontrol dengan menggunakan pembelajaran konvensional.

2.1 Tahap Persiapan

Subjek Penelitian adalah tikus *Sprague dawley*. Tikus betina umur 3-4 bulan dengan bobot badan 150-200 mg yang diperoleh dari Unit Pengelola Hewan Laboratorium (UPHL) Institut Pertanian Bogor.

2.2 Pembuatan Nano Kalsium

Bahan baku cangkang rajungan dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan bagian sisa daging rajungan dikeringkan dengan panas matahari selama 2 hari. Cangkang kering dipotong-potong atau dihancurkan. Dilakukan demineralisasi cangkang rajungan dengan merendam cangkang yang telah dipotong-potong dengan larutan HCl 3,0 N dengan perbandingan cangkang dengan larutan HCl adalah 1: 15 (w/v). Demineralisasi dilakukan dalam pemanasan 90°C selama 1 jam. Pisahkan serpihan dengan cairan dengan menggunakan saringan kasa. Setelah cairan terpisah teteskan dengan perlahan NaOH 1% hingga timbul endapan berwarna putih, dilakukan netralisasi dan spray dry, setelah itu lakukan uji SEM.

2.3 Penyiapan Tikus Bunting dan Laktasi

Penelitian diawali dengan tahap aklimatisasi selama satu minggu. Fase proestrus dapat diketahui dengan cara membuat preparat apusan vagina dari setiap tikus betina kemudian diwarnai dengan metilen biru 0,1%. Pengamatan apusan vagina dilakukan dengan mikroskop dengan pembesaran 100 kali, dan adanya sel epitel berinti yang dominan merupakan ciri fase proestrus. Duabelas jam kemudian, fase proestrus akan memasuki fase estrus yang merupakan fase birahi tikus betina dan merupakan fase pengawinan. Pengawinan dilakukan dengan menyatukan tiga ekor tikus betina yang berada pada fase estrus dengan dua ekor tikus jantan dalam satu kandang. Keesokan harinya dilakukan pembuktian perkawinan dengan cara: setiap tikus betina diamati vaginanya dan tikus dinyatakan kawin bila ditemukan plak pada vagina tikus. Bila tidak ditemukan, maka dilanjutkan dengan pembuatan apusan vagina dan tikus dinyatakan kawin bila ditemukan sperma dalam cairan apusan vagina. Adanya plak pada vagina atau sperma pada tikus betina dihitung sebagai kebuntingan hari ke nol. Untuk perlakuan laktasi diberikan nano kalsium peroral dengan menggunakan sonde pada tikus yang telah melahirkan dan sedang menyusui.

2.4 Penentuan Dosis dan Perlakuan Pemberian Nano Kalsium

Pemberian dosis menggunakan perhitungan dosis berdasarkan konversi Laurence & Bacharach 1964, konversi dosis manusia (70 kg) ke tikus (200 gr) = 0,018. Dosis kalsium yang dianjurkan pada ibu hamil adalah 1200mg per hari. Dosis kalsium pada tikus hamil (200 gr) = (1200 x 0,018) mg = 21,6 mg. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 21,6 mg kalsium. Sedangkan pelarut yang digunakan yaitu air sebanyak 2cc.

2.4.1 *Perlakuan Kontrol*

Tikus hamil dimasukkan kedalam kandang dengan pemberian pakan sebanyak satu kali sehari sebanyak 25gr dan aquadest secara *ad libitum* selama masa kebuntingan dan laktasi.

Pemberian aquadest sebanyak 2ml secara oral dilakukan dengan menggunakan sonde. Memegang tikus dengan menjepit bagian tekuk menggunakan ibu jari dan jari telunjuk, dan ekornya dijepit diantara jari manis dan kelingking. Sebelum masukkan sonde oral, posisi kepala dan keadaan mulut harus diperhatikan. Ketika hewan dipegang dengan posisi terbalik pastikan posisi kepala menengadiah atau posisi dagu sejajar dengan tubuh dan mulut terbuka sedikit. Pemberian pada kebuntingan dihentikan setelah anak F1 lahir, sedangkan untuk masa laktasi dihentikan pada masa sapih.

Setelah melahirkan, pengambilan gigi tikus dan dilakukan pada hari ke 30 untuk dilakukan pengujian kekerasan vickers pada kekerasan gigi anak F1.

2.4.2 *Perlakuan 1 (Pakan + Nano Kalsium + Kebuntingan)*

Konversi dosis manusia (70 kg) ke tikus (200 gr) = 0,018. Dosis kalsium yang dianjurkan pada ibu hamil adalah 1200mg per hari. Dosis kalsium pada tikus hamil (200 gr) = (1200 x 0,018) mg = 21,6 mg. Tikus hamil dimasukkan kedalam kandang dengan pemberian pakan sebanyak satu kali sehari sebanyak 25g dan nano kalsium sebanyak 21,6 mg/ekor selama masa kebuntingan.

Pemberian nano kalsium secara oral dilakukan dengan menggunakan sonde, yang sebelumnya nano kalsium dilarutkan dengan 2 ml aquades. Pemberian nano kalsium dilakukan setelah ditemukannya sperma yang ditentukan sebagai hari ke 0. Cara pemberian nano kalsium dengan memegang tikus dengan menjepit bagian tekuk menggunakan ibu jari dan jari telunjuk, dan ekornya dijepit diantara jari manis dan kelingking. Sebelum memasukkan sonde oral, posisi kepala dan keadaan mulut harus diperhatikan. Ketika hewan dipegang dengan posisi terbalik pastikan posisi kepala menengadiah atau posisi dagu sejajar dengan tubuh dan mulut terbuka sedikit.

Setelah melahirkan, pengambilan gigi tikus dan dilakukan pada hari ke 30 untuk dilakukan pengujian kekerasan vickers padagigi tikus F1.

2.4.3 *Perlakuan 2 (Pakan + Nano Kalsium + Laktasi)*

Tikus laktasi dimasukkan kedalam kandang dengan pemberian pakan sebanyak satu kali sehari sebanyak 25g dan nano kalsium sebanyak 21,6mg/ekor selama masa laktasi. Pemberian nano kalsium dilakukan secara oral menggunakan sonde.

Setelah anak tikus lahir sampai lepas sapih, pengambilan gigi tikus dan dilakukan pada hari ke 30

(saat anak tikus lepas sapih) untuk dilakukan pengujian kekerasan vickers pada kekerasan gigi anak F1.

3. HASIL PENELITIAN

3.1 Hasil Uji *Scanning Electrone Microscope (SEM)*

Aplikasi teknologi nano dalam bidang farmasi mempunyai berbagai keunggulan antara lain dapat meningkatkan kelarutan senyawa, mengurangi dosis pengobatan dan meningkatkan absorpsi. Oleh karena itu, bahan nanopartikel banyak digunakan pada sistem penghantaran obat terbaru pada berbagai bentuk sediaan kosmetik dan dermatologikal. Sifat pembawa bahan nanopartikel mempunyai berbagai keuntungan seperti mencegah hidrasi kulit, meningkatkan efek absorpsi, meningkatkan penetrasi zat aktif.

Ukuran nanopartikel dari nanokalsium dilihat melalui uji SEM (*Scanning Electron Microscope*). Nanopartikel didefinisikan sebagai penyebaran partikel atau partikel padat dengan kisaran ukuran 10-1000 nm. Hasil analisis SEM dengan perbesaran 1.000x menunjukkan bahwa ukuran partikel serbuk nanokalsium memiliki kisaran nilai 1000 nm. Modifikasi fisik menunjukkan nano kalsium yang dihasilkan memenuhi standar partikel nano, yaitu perubahan bentuk fisik kalsium menjadi partikel berbentuk bulat yang berukuran lebih kecil.

3.2 Hasil Uji Vickers Gigi Tikus (F1)

Setelah melakukan penelitian dengan hewan coba dan pengambilan sampel berupa gigi rahang bawah tikus pada hari ke 30, gigi tikus tersebut kemudian diuji kekerasan dengan menggunakan alat uji vickers yang berada di Laboratorium Uji Departemen Teknik Metalurgi dan Material Universitas Indonesia. Modifikasi fisik kalsium menjadi nanopartikel diberikan secara oral untuk dapat meningkatkan kekerasan gigi tikus F1 pada masa kebuntingan dan laktasi.

Hasil uji vickers gigi tikus perlakuan kontrol terdiri dari dua sampel yaitu sampel gigi tikus perlakuan kontrol selama kebuntingan, dan sampel gigi tikus perlakuan kontrol selama laktasi. Pada tikus kontrol tidak ada perlakuan yang diberikan secara khusus pada masa kebuntingan maupun laktasi, tikus kontrol hanya diberi pakan sesuai takaran yaitu 25gram setiap harinya, kemudian setelah tikus melahirkan ditunggu sampai tikus (F1) lahir dan lepas sapih dan kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil gigi tikus (F1) (Tabel 1).



Tabel 1. Hasil uji vickers gigi tikus

Kode Sampel	Penjejakan	Beban Indentasi gram force (gf)	Nilai Kekerasan Hardnes Value (HV)
Kontrol Kebuntingan	1	100	38
	2	200	36
	3	300	35
Kontrol Laktasi	1	100	40
	2	200	37
	3	300	34

Hasil uji vickers gigi tikus perlakuan kontrol selama kebuntingan pada penjejakan pertama dengan beban 100 gram force (gf) memiliki nilai kekerasan sebesar 38 hardness value (HV), untuk penjejakan ke-2 dengan beban 200 gf memiliki nilai kekerasan 36 HV, sedangkan untuk penjejakan ke-3 dengan beban 300 gf memiliki nilai kekerasan 35 HV.

Sampel gigi tikus perlakuan kontrol selama laktasi pada penjejakan pertama dengan beban 100gf memiliki nilai kekerasan sebesar 40 HV, untuk penjejakan ke-2 dengan beban 200gf juga memiliki nilai kekerasan 37 HV, sedangkan untuk penjejakan ke-3 dengan beban 300 gf memiliki nilai kekerasan 34 HV.

Pada perlakuan pertama tikus diberi nano kalsium sesuai takaran dosis selama masa kebuntingan yaitu 21 hari, kemudian setelah tikus melahirkan ditunggu sampai tikus (F1) lepas saph dan kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil gigi tikus (F1). Hasil uji vickers gigi tikus perlakuan 1 terdiri dari dua sampel yaitu sampel gigi tikus nano kalsium kebuntingan 1, sampel gigi tikus nano kalsium kebuntingan 2 (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji mikro vickers tikus perlakuan nano kalsium selama masa kebuntingan

Kode Sampel	Penjejakan	Beban Indentasi gram force (gf)	Nilai Kekerasan Hardnes Value (HV)
Laktasi I	1	100	119
	2	200	115
	3	300	112
Laktasi II	1	100	114
	2	200	74
	3	300	75

Hasil uji vickers gigi tikus perlakuan pertama terdiri dari dua sampel yaitu sampel gigi tikus nano kalsium selama kebuntingan 1 pada penjejakan pertama dengan beban 100 gram force (gf) memiliki nilai kekerasan sebesar 71 hardness value (HV), untuk penjejakan ke-2 dengan beban 200 gf memiliki nilai

kekerasan 72 HV, sedangkan untuk penjejakan ke-3 dengan beban 300 gf memiliki nilai kekerasan 69HV.

Pada sampel gigi tikus nano kalsium selama kebuntingan 2 pada penjejakan pertama dengan beban 100gf memiliki nilai kekerasan sebesar 71HV, untuk penjejakan ke-2 dengan beban 200 gf memiliki nilai kekerasan 74HV, sedangkan untuk penjejakan ke-3 dengan beban 300 gf memiliki nilai kekerasan 75HV. Nilai kekerasan gigi tikus pada perlakuan nano kalsium secara keseluruhan memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan tikus kontrol.

Pada perlakuan kedua, tikus tidak diberi nano kalsium pada masa kebuntingan tetapi diberikan nano kalsium sesuai takaran dosis selama masa laktasi yaitu 21 hari, kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil gigi tikus (F1) tersebut. Hasil uji kekerasan gigi tikus perlakuan selama laktasi terdiri dari dua sampel yaitu sampel gigi tikus perlakuan laktasi 1 dan tikus perlakuan laktasi 2 (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil uji mikro vickers tikus perlakuan nano kalsium selama masa laktasi

Kode Sampel	Penjejakan	Beban Indentasi gram force (gf)	Nilai Kekerasan Hardnes Value (HV)
Kalsium I	1	100	71
	2	200	72
	3	300	69
Kalsium II	1	100	71
	2	200	74
	3	300	75

Hasil uji vickers gigi tikus perlakuan kedua yaitu tikus dengan pemberian nano kalsium pada saat masa laktasi terdiri dari dua sampel yaitu sampel gigi tikus perlakuan laktasi 1 pada penjejakan pertama dengan beban 100 gram force (gf) memiliki nilai kekerasan sebesar 119 hardness value (HV), untuk penjejakan ke-2 dengan beban 200 gf memiliki nilai kekerasan 115 HV, sedangkan untuk penjejakan ke-3 dengan beban 300 gf memiliki nilai kekerasan 112 HV.

Pada sampel gigi perlakuan laktasi 2 pada penjejakan pertama dengan beban 100gf memiliki nilai kekerasan sebesar 114HV, untuk penjejakan ke-2 dengan beban 200 gf memiliki nilai kekerasan 11HV, sedangkan untuk penjejakan ke-3 dengan beban 300 gf memiliki nilai kekerasan 109HV.

Pada hasil uji mikro vickers gigi tikus perlakuan nano kalsium yang diberikan selama laktasi, menunjukkan nilai kekerasan yang paling tinggi dibandingkan dengan nilai kekerasan gigi tikus kontrol dan tikus pemberian nano kalsium selama kebuntingan.

Nilai uji kekerasan gigi dengan menggunakan mikro vickers pada masing masing perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda-beda. Setelah data dari uji kekerasan diperoleh, kemudian data tersebut dianalisis dengan menggunakan *T-test* untuk sampel

independen. *T-test* ini dilakukan karena data antar variabel yang satu dengan yang lain bersifat independen atau tidak berkaitan. Analisis data dengan menggunakan *T-test* ini dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan nilai kekerasan gigi tikus pada variabel kontrol dengan perlakuan selama kebuntingan, dan perlakuan selama laktasi, selain itu untuk menguji hipotesis apakah H_0 ditolak atau diterima.

Untuk mengetahui data penelitian memiliki distribusi normal atau tidak, maka dilakukan uji normalitas. Uji normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah data kurang dari 50 buah. Berdasarkan hasil perhitungan nilai kekerasan gigi baik variabel kontrol, perlakuan selama kebuntingan, dan perlakuan selama laktasi memiliki nilai signifikan di atas angka 0,05 ($p \geq 0,05$), oleh karena itu dinyatakan bahwa data yang diperoleh memiliki distribusi yang normal.

Hasil *T-test* pada masing-masing kelompok perlakuan baik pada tikus kontrol dengan tikus perlakuan selama kebuntingan, tikus kontrol dengan perlakuan selama laktasi, dan tikus perlakuan selama kebuntingan dengan tikus perlakuan selama laktasi memiliki nilai signifikan 0,000. Oleh karena nilai sig. lebih kecil dari 0,05 ($p < 0,05$) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian nano kalsium pada masa kehamilan dan laktasi terhadap nilai kekerasan gigi tikus.

Seperti yang telah diketahui sebelumnya, gigi sebagian besar terdiri dari mineral yang terkalsifikasi pada saat proses pembentukan gigi. Salah satu mineral yang penting bagi pembentukan gigi adalah kalsium. Kekurangan kalsium dapat menyebabkan terganggunya pembentukan dan pertumbuhan gigi. Kalsium dalam gigi juga dapat mempengaruhi kekerasan dari gigi tersebut.

Berdasarkan penelitian kalsium dengan ukuran partikel yang normal hanya dapat diserap oleh tubuh sebanyak 23% saja,⁵ oleh karena itu modifikasi ukuran partikel kalsium menjadi ukuran nano diharapkan dapat mempermudah penyerapan kalsium dalam tubuh secara optimal.

Menurut rumus konversi oleh Laurence & Bacharach (1964), pemberian dosis nano kalsium pada tikus hamil dan tikus pada saat menyusui dihitung berdasarkan kebutuhan kalsium pada manusia pada saat hamil dan menyusui. Pemberian nano kalsium pada tikus hamil dilakukan selama 21 hari yaitu masa kehamilan tikus, sedangkan pada saat menyusui dilakukan terus menerus sampai anak tikus berumur 21 hari. Setelah anak tikus berusia 30 hari (ketika pertumbuhan gigi sudah dapat dilakukan analisa), kemudian dilakukan pengambilan gigi tikus F1 dan diuji kekerasan dengan alat *micro vickers*.

Uji kekerasan gigi tikus F1 dengan menggunakan *micro vickers* diawali dengan meletakkan sampel diatas resin berbentuk silindris supaya pada saat dilakukan

indentasi sampel dapat tetap stabil. Setelah itu sampel diletakkan di landasan alat uji kemudian diindentasi dengan indenter berbentuk piramida intan dengan beban 100gf, 200gf, dan 300gf. Indentasi dengan menggunakan tiga macam beban yang berbeda dilakukan karena sampel yang diuji belum diketahui nilai kekerasannya.²¹

Hasil dari uji kekerasan gigi tikus dengan menggunakan *micro vickers* pada tikus kontrol, tikus perlakuan 1 yaitu tikus dengan pemberian nano kalsium pada masa kebuntingan, dan tikus dengan perlakuan 2 yaitu tikus dengan pemberian nano kalsium pada masa laktasi memiliki nilai yang berbeda-beda pada masing-masing kelompok percobaan. Pada tikus perlakuan nano kalsium selama kebuntingan memiliki nilai kekerasan gigi yang lebih tinggi dibandingkan dengan tikus kontrol. Sedangkan tikus perlakuan nano kalsium pada masa laktasi memiliki nilai kekerasan paling tinggi diantara ketiga kelompok percobaan.

Setelah menganalisis semua nilai uji kekerasan gigi tikus dengan menggunakan *T-test*, hasil yang diperoleh adalah nilai sig. lebih kecil dari 0,05 ($p < 0,05$) sehingga terbukti bahwa terdapat pengaruh pemberian nano kalsium terhadap nilai kekerasan gigi baik pada masa kebuntingan maupun laktasi.

Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa kalsium dengan modifikasi fisik menjadi partikel nano dapat mengoptimalkan kerja kalsium, sehingga menjadi lebih mudah di absorpsi dalam tubuh.¹⁶ Nano kalsium yang diberikan pada masa kehamilan diabsorpsi dengan baik oleh tubuh induk tikus. Absorpsi kalsium yang berlangsung dalam usus halus ini kemudian disalurkan ke bayi tikus melalui plasenta (Clements dan Fraser 1992).

Pada perlakuan kedua yaitu pemberian nano kalsium pada induk tikus pada saat laktasi memperlihatkan hasil yang sangat baik yaitu memiliki rata-rata nilai kekerasan sangat tinggi. Nilai kekerasan gigi pada perlakuan kedua lebih tinggi dibandingkan yang lain.

Modifikasi fisik kalsium, selain dengan mengubahnya menjadi nanopartikel agar absorpsinya di dalam tubuh dapat ditingkatkan, juga dapat dengan adanya bantuan dari vitamin D dalam tubuh. Susu induk tikus yang diberikan ke tikus F1, memiliki kandungan vitamin yang berlimpah salah satunya adalah vitamin D. Kandungan vitamin D yang relatif tinggi (1-3,5 micrograms/liter),²² berguna untuk membantu meningkatkan absorpsi kalsium yang berguna untuk pembentukan tulang dan gigi (Clements dan Fraser 1992).

4. DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S. (2004). *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Umum.
- Amir, R.L., Sunarti, D.F., Utami, S.R., & Abbas, B. (2014). *Chitosan as a potential osteogenic factor compared with dexamethasone in cultured*



macaque dental pulp stromal cells. [online].
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24992928.
27/01/2015.

- Lagerkvist. (1996). *Increased blood lead and decreased calcium levels during pregnancy: a Prospective study of swedish women living near a smelter*. Umeå: Am J Public Health.
- Arbia, W., Leila, A. Lydia, A. & Abdeltif, A. (2011). Chitin extraction from crustacean shell by biological methods – a review. *CEGEP*.
- Coe, F.L., Parks, J.H., Webb, D.R. (1992). *Stone-forming potential of milk or calcium-fortified orange juice in idiopathic hypercalciuric adults*. Kidney International. University of Chicago, Illinois.
- Tongchan, P., Pruptipalai, S., Niyomwas, S., & Thongraung, C. (2009). Effect of calcium compound obtained from fish by product on calcium metabolism in rats. *Asian.J Food Ag-Ind.* 2(04): 669-676
- Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. (2010). *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. Washington: National Academy Press.
- Suptijah, P., Agoes, M. Jacoeb., & Rachmania, D. (2011). Karakterisasi Nano Kitosan cangkang Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 15 (2): 78-84.
- Clements, M. R. & Fraser, D. R. (1998). Vitamin D Supply to the Rat Fetus and Neonate. The American Society for Clirical Investigation Inc. 81: 1768-1773.
- Manohanraj, V. J. & Chen, Y. (2006). Nanoparticles-A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5 (1): 561-573.

Penanya 1:

Dr. Rr. Eko Susetyarini, M.Si

Pertanyaan:

Ditinjau dari latar belakangnya, implikasi penelitian ini dapat ditunjukkan untuk ibu hamil. Ditinjau dari perlakuannya digunakan pembandingan pemberian aquades untuk kelompok kontrol dan pemberian nano kalsium untuk kelompok perlakuan. Mengapa dalam kelompok perlakuan tidak menggunakan pil kalsium yang diberikan kepada ibu hamil di rumah sakit atau puskesmas, sehingga ada pengaruh kontrol positif dan kontrol negatifnya, lalu bagaimana kita membandingkan komposisi yang paling baik diantara tiap perlakuan?

Jawaban:

Penelitian ini masih ada kekurangan dan sedang dilanjutkan, pemberian nano kalsium dari kontrol positif belum dilakukan. Saya sedang melanjutkan penelitian

ini dengan faktor pembandingan melalui pemberian susu ibu hamil yang juga mengandung nano kalsium.

Penanya 2:

Abdul Basith, S.Pd, M.Pd, M.Si

Pertanyaan:

Berapa lama penelitian dilakukan?

Telah dijelaskan bahwa sumber nano kalsium diperoleh dari cangkang kepiting. Umumnya terdapat zat yang terkandung pada kepiting berpotensi menjadi zat alergi. Apakah selama penelitian ditemukan tikus yang mengalami kelainan?

Jawaban:

Penelitian ini dilakukan dalam jangka waktu yang cukup lama. Masa adaptasi memerlukan waktu sekitar 2 minggu, karena untuk proses pengawinannya dan menentukan untuk menentukan tikus putih tersebut sudah positif hamil atau belum agak sulit. Sedangkan perlakuan pada saat masa laktasi lebih mudah karena masa laktasi tikus sudah jelas setelah melahirkan sehingga pada saat itu langsung diberi perlakuan. Dengan demikian, pemberian perlakuan untuk tikus putih sendiri memerlukan waktu sekitar 3 bulan. Kemudian pembuatan nano kalsium memerlukan waktu sekitar 2 minggu, dan melakukan berbagai uji sekitar 2 bulan sehingga kurang lebih waktu penelitian ini sekitar 6 bulan.

Penelitian ini sebenarnya hanya fokus untuk mengetahui tingkat kekerasan gigi tikus yang dipengaruhi pemberian nano kalsium dari cangkang kepiting. Namun selama perkembangan penelitian tidak ditemukan adanya indikasi kelainan pada tikus putih tersebut. Pada penelitian lanjutan saya meninjau histologis organ-organ tikus putih yang diberi perlakuan nano kalsium, dari segi histologis juga tampaknya tidak ada perubahan apapun yang menunjukkan tanda kelainan pada tikus tersebut. Sebenarnya senyawa nano kalsium ini banyak digunakan pada produk makanan, namun sampai saat ini belum ditemukan efek alergi dari pemberian nano kalsium.

Penanya 3:

Aulia Risqi Rohmatin

Pertanyaan:

Berapa lama jarak waktu dari kelahiran untuk melakukan proses pengambilan gigi tikus?

Jawaban:

Pemberian perlakuan nano kalsium dilakukan dengan jangka waktu yang sama. Untuk perlakuan pada masa kebuntingan, dilakukan selama masa kebuntingan tikus sampai melahirkan. Untuk perlakuan pada masa laktasi dilakukan selama 30 hari setelah melahirkan. Sedangkan proses pengambilan gigi tikus dilakukan 30 hari setelah tikus putih F1 lahir.

