

Protein dan vitamin D3 meningkatkan kadar fosfor maksila anak tikus putih *Rattus novvergicus* galur Wistar dengan berat badan lahir rendah

Protein and vitamin D3 increase the phosphorus levels of maxillary in malnourished mice pup

Riski Amalia Hidayah¹, Emy Huriyati², Lisdrianto Hanindriyo³

¹ Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia

² Departemen Gizi Kesehatan, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

³ Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

ABSTRACT

Background: Protein deficiency during pregnancy leads to malnutrition in the newborn. One of the signs is low birth weight, which impacts bone and teeth growth problems, most probably related to vitamin D and phosphorus deficiency. Adequate protein and vitamin D3 during the nursing period increase the phosphorus level of bone related to fosfor absorption, which increases in the gut. **Objective:** This research was conducted to determine the effect of protein and vitamin D3 during the nursing period on increasing phosphorus levels of maxillary in prenatal malnutrition mice. **Methods:** Experimental study with post-test-only control group design. Thirty the *Rattus novvergicus* Wistar strain mice were divided into five groups (n=6). The positive control group (healthy mice suckle in mother who received a standard protein diet and vitamin D3 0.36 IU/g BW/day/oral), negative control group (malnourished mice suckle in mother who received a low protein diet), and three groups of malnutrition mice suckle in mother who receives intervention standard protein diet with vitamin D3 0.36 IU/g BW/day/oral, low protein diet with vitamin D3 0,36 IU/g BW/day/oral, and a standard protein diet without vitamin D3. The parameter measured was phosphorus levels in the maxillary. **Results:** ANOVA test results showed significant phosphorus level differences of maxillary between groups (p<0.001), and the Post Hoc test showed differences between the control group with interventions 1, 2, and 3 groups. **Conclusion:** Intervention of a standard protein diet without vitamin D3 or a low protein diet with vitamin D3 0.36 IU/day/oral significantly increases the phosphorus level of maxillary in malnourished mice. However, combining a standard protein diet and vitamin D3 0.36 IU/day/oral is the most optimum for improving maxillary bone phosphorus levels in malnourished mice.

KEYWORDS: maxillary bone; phosphorus level; prenatal malnutrition; protein; vitamin D3

ABSTRAK

Latar belakang: Kekurangan protein saat kehamilan dapat menyebabkan malnutrisi pada anak. Kondisi tersebut salah satunya ditandai dengan berat badan lahir rendah (BBLR) yang berdampak pada gangguan pertumbuhan tulang dan gigi akibat dari defisiensi vitamin dan mineral penting untuk pertumbuhan tulang dan gigi. Asupan protein dan vitamin D3 yang adekuat selama masa menyusui diharapkan dapat meningkatkan kadar fosfor dalam tulang terkait dengan peningkatan penyerapan senyawa tersebut dalam usus. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian diet protein dan vitamin D3 masa menyusui terhadap peningkatan kadar fosfor dalam tulang maksila anak tikus yang mengalami malnutrisi prenatal. **Metode:** Penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group*. Tiga puluh anak tikus *Rattus novvergicus* galur Wistar dibagi ke dalam lima kelompok (n=6) yaitu kelompok kontrol positif (anak tikus sehat menyusui pada induk dengan diet protein standar dan vitamin D3 0,36 IU/g BB/hari/oral), kelompok kontrol negatif (anak tikus BBLR yang menyusui pada induk dengan diet protein rendah), dan tiga kelompok perlakuan anak tikus BBLR yang menyusui pada induk dengan perlakuan pemberian diet protein standar dengan vitamin D3 0,36 IU/g BB/hari/oral (P1), pemberian diet protein rendah dengan vitamin D3 0,36 IU/g BB/hari/oral (P2), dan pemberian diet protein standar tanpa vitamin D3 (P3). Parameter yang diukur adalah kadar fosfor dalam tulang maksila. **Hasil:** Analisis dengan uji ANOVA menunjukkan perbedaan bermakna rerata kadar fosfor antarkelompok (p<0,001). Uji lanjutan *Post Hoc* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3. **Simpulan:** Pemberian diet protein standar tanpa vitamin D3 maupun diet protein rendah dengan vitamin D3 0,36 IU/g BB/hari/oral meningkatkan kadar fosfor tulang

Korespondensi: Riski Amalia Hidayah, Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman, Kampus Karangwangkal, Jl. Dr. Soeparno, Purwokerto Utara, Jawa Tengah 53122, Indonesia, e-mail: riski.hidayah@unsoed.ac.id

Cara sitasi: Hidayah RA, Huriyati E, Hanindriyo L. Protein dan vitamin D3 meningkatkan kadar fosfor maksila anak tikus putih *Rattus novvergicus* galur Wistar dengan berat badan lahir rendah (BBLR). Jurnal Gizi Klinik Indonesia. 2023;19(4):165-172. doi: 10.22146/ijcn.57276

maksila anak tikus BBLR secara signifikan. Namun, kombinasi pemberian diet protein standar dan vitamin D3 0,36 IU/hari per oral paling optimal dalam meningkatkan kadar fosfor tulang maksila anak tikus BBLR.

KATA KUNCI: tulang maksila; kadar fosfor; malnutrisi prenatal; protein; vitamin D3

PENDAHULUAN

Malnutrisi akibat kekurangan asupan protein saat kehamilan berdampak pada pertumbuhan fisik, salah satunya adalah pertumbuhan tulang. Malnutrisi yang terjadi sepanjang minggu terakhir kehamilan melahirkan bayi berat badan lahir rendah (BBLR) [1]. Kekurangan protein saat kehamilan menyebabkan gangguan kalsifikasi tulang karena mempengaruhi deposit fosfor dalam tulang [2-4]. Fosfor merupakan salah satu komponen penentu kualitas tulang. Rendahnya kadar bahan anorganik tersebut dapat menyebabkan berbagai kelainan pada tulang maksila antara lain peningkatan risiko fraktur maksila, kerapuhan bahkan kehilangan tulang alveolar (*alveolar bone loss*) di masa mendatang sehingga berpengaruh pada pola erupsi gigi yang menyebabkan kondisi maloklusi dan dapat memperparah berbagai penyakit periodontal salah satunya adalah periodontitis sampai terjadi kehilangan gigi [5,6].

Prevalensi maloklusi di Indonesia masih tinggi sekitar 80% dari jumlah penduduk dan merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang cukup besar dan dapat mengakibatkan berbagai kelainan rongga mulut seperti karies dan penyakit periodontal jika tidak ditangani secara optimal [7,8]. Penyakit periodontal merupakan penyakit gigi dan mulut kedua terbanyak setelah karies gigi yang diderita masyarakat di dunia dan dialami oleh hampir 90% masyarakat Indonesia [9]. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018, prevalensi permasalahan gigi dan mulut masyarakat Indonesia mencapai 57,6% [10]. Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2004, menyatakan penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit gigi dan mulut yang membutuhkan pembiayaan yang besar ditinjau dari kerugian ekonomi yang ditimbulkan serta menjadi beban dalam masalah kesehatan masyarakat di Indonesia.

Protein membentuk matriks organik tulang yang merupakan tempat deposisi mineral fosfor pada proses kalsifikasi tulang [11]. Peningkatan asupan protein secara tidak langsung dapat meningkatkan sintesis vitamin D3 yang berdampak pada peningkatan absorpsi fosfat

anorganik dalam usus serta penurunan *parathyroid hormone* (PTH) sehingga dapat meningkatkan kekuatan dan masa tulang serta menurunkan risiko terjadinya fraktur [4]. Hambatan pembentukan matriks organik karena kekurangan protein akan menyebabkan berkurangnya deposisi mineral salah satunya fosfor dalam matriks tulang sehingga menyebabkan penurunan kadar fosfor tulang [12]. Kadar fosfor tulang yang adekuat menjadi salah satu tolok ukur kualitas dan kepadatan massa tulang seluruh tubuh di masa mendatang. Pada penelitian ini menggunakan sampel tulang maksila karena struktur tulang panjang manusia secara umum sama dengan struktur maksila dan mandibula [13], maksila mengalami risiko gangguan tumbuh kembang dua kali lebih besar dibandingkan mandibula [14] serta tulang alveolar yang merupakan bagian dari maksila mengalami laju turnover tulang tercepat di seluruh tubuh sehingga dapat menjadi cerminan kualitas tulang di seluruh tubuh dan risiko fraktur tulang awal dapat terlihat dari sini [15].

Protein dan vitamin D3 tidak bisa berjalan sendiri, diperlukan kombinasi kedua zat gizi tersebut untuk mencapai perkembangan tulang maksila yang optimal. Penelitian tentang pengaruh protein dan vitamin D3 pada masa menyusui terhadap kadar fosfor tulang maksila pada anak yang mengalami malnutrisi belum pernah dilakukan sebelumnya. Hal tersebut mendorong peneliti untuk melakukan penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian diet protein dan vitamin D3 pada masa menyusui terhadap peningkatan kadar fosfor dalam tulang maksila anak tikus yang mengalami malnutrisi prenatal.

BAHAN DAN METODE

Desain dan subjek

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *post test only control group design* yaitu salah satu desain eksperimen murni yang memiliki kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Induk tikus pada kelompok kontrol positif (K+) diberikan

perlakuan berupa diet protein standar (20%) mulai hari pertama kebuntingan sampai kelahiran yaitu 21 hari untuk menghasilkan anak tikus yang sehat dengan berat lahir normal. Kelompok kontrol negatif (K-) dan perlakuan (P1, P2, P3) diberikan pakan protein rendah (4%) pada induk tikus mulai hari pertama kebuntingan sampai kelahiran (21 hari) untuk menghasilkan anak tikus dengan berat badan lahir rendah (BBLR) dengan penurunan berat lahir lebih dari 15% apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Pembagian kelompok dalam penelitian ini meliputi lima kelompok yaitu K+ yaitu anak tikus sehat yang menyusu pada induk dengan perlakuan diet protein standar dan vitamin D3 dosis 0,36 IU/g BB/hari per oral (setara dengan 4.000 IU/ hari per oral pada manusia); K- yaitu kelompok anak tikus dengan BBLR yang menyusu pada induk dengan diet protein rendah; perlakuan 1 (P1) yaitu kelompok anak tikus dengan BBLR yang menyusu pada induk dengan perlakuan diet protein standar dan vitamin D3 dosis 0,36 IU/g BB/ hari per oral; perlakuan 2 (P2) yaitu kelompok anak tikus dengan BBLR yang menyusu pada induk dengan perlakuan diet protein rendah dan vitamin D3 dosis 0,36 IU/g BB/ hari per oral; dan perlakuan 3 (P3) yaitu kelompok anak tikus dengan BBLR yang menyusu pada induk dengan perlakuan diet protein standar.

Penelitian dilakukan pada bulan November 2019 sampai Februari tahun 2020 dengan lokasi penelitian yang dilakukan di beberapa tempat, yaitu pemeliharaan dan pemberian perlakuan pada hewan coba di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada sedangkan pengujian kadar fosfor maksila dengan spektrofotometer *visible spectronic 20* panjang gelombang 420 nm di Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Populasi penelitian adalah tikus putih *Rattus novergicus* galur Wistar yang diperoleh dari Biofarma Jakarta. Kriteria sampel penelitian meliputi induk tikus betina dan pejantan tikus berumur ± 10 minggu dengan berat 150-200 gram, sehat (aktif dan tidak cacat) serta anak tikus betina dengan kondisi malnutrisi yang ditandai dengan BBLR (penurunan berat badan lebih dari 15%), dan umur 22 hari saat dikorbankan. Kriteria eksklusi meliputi tikus yang sakit (penampakan rambut kusam, rambut rontok, keluarnya eksudat yang

tidak normal dari mata, mulut, anus, atau genital) dan mengalami penurunan keadaan fisik.

Penentuan besar sampel dalam penelitian eksperimen dengan menggunakan perhitungan rumus Federer serta menambahkan sampel untukantisipasi *dropout* sebesar 10%. Jumlah sampel pada tiap kelompok dalam penelitian sebesar enam ekor tikus dan total sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah 30 ekor tikus. Tikus yang memenuhi kriteria inklusi diambil secara acak (*simple random sampling*) dari populasi penelitian sejumlah 30 ekor tikus betina dan 10 ekor tikus jantan sebagai sampel karena setiap pejantan dapat mengawini 3 ekor tikus betina [16]. Penelitian ini sudah mendapat perizinan oleh *Medical Health Research Ethics Committee* (MHREC) Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada dengan nomor KE/FK/1219/EC/2019. Peneliti berusaha mematuhi etika penelitian pada hewan coba, yaitu harus mengikuti prinsip *replacement, reduction, refinement* (3R).

Pengumpulan dan pengukuran data

Variabel yang diteliti dalam penelitian ini adalah kadar fosfor dalam tulang maksila anak tikus dengan BBLR yang merupakan kadar ion fosfat yang terdapat dalam tulang yang berperan bersama dengan ion kalsium dalam proses kalsifikasi tulang maksila. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kandang tikus, tempat makan dan minum tikus, lap, timbangan digital matrix, spuit injeksi, gunting bedah, pisau, tang, tabung reaksi, mikropipet eppendorf, oven, furnace, *object glass*, labu erlenmeyer, spektrofotometer visible Spectronic 20 panjang gelombang 420 nm. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sarung tangan, masker, alkohol, eter, kapas, tip mikropipet, akuades, pejantan, induk tikus *Rattus novergicus* galur Wistar, HCl 37%, makanan tikus protein rendah 4% dan protein standar 20% (tidak termasuk vitamin D3), larutan stok standar fosfor (P) 1000 ppm buatan Merck Jerman, larutan pereaksi fosfor, minyak kelapa organik serta sediaan vitamin D3 per oral.

Hewan coba dari kelompok K- maupun perlakuan (P1, P2, P3) pada usia 22 hari diterminasi dengan cara dimasukkan dalam ruangan kecil kedap udara berisi

eter yang akan menguap dan memberikan efek sedasi. Pengambilan sampel dilakukan apabila anak tikus sudah tidak bernafas, kemudian dilakukan pengambilan sampel pada tulang maksila sinistra bagian palatum durum dan tulang alveolar untuk dilakukan pengukuran kadar fosfor [16]. Sampel tulang maksila dibersihkan dengan cairan fisiologis kemudian dibilas dengan air suling dan ditiriskan sampai air bilasan habis. Tulang maksila dipreparasi dengan cara dikeringkan terlebih dahulu dalam oven suhu 110°C selama satu jam untuk menghilangkan kadar airnya. Sampel selanjutnya diabukan pada suhu 700°C selama 6 jam dalam furnace kemudian didinginkan. Abu tulang alveolar ditimbang sebanyak 2 g dan ditambahkan HCl 37% kemudian diencerkan dengan akuades hingga diperoleh volume total sebesar 50 ml.

Pengukuran kadar fosfor tulang maksila terlebih dahulu menyiapkan larutan stok standar fosfat (P) 1.000 ppm buatan Merck Jerman. Larutan tersebut diencerkan sampai mendapatkan larutan standar P dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm. Tahap selanjutnya, larutan sampel tulang dipipet secukupnya (sampai sesuai range absorbansi standar) dan dituangkan dalam tabung reaksi kemudian ditambah akuades 25 ml lalu ditambahkan 2 ml larutan pereaksi fosfor (terdiri dari 1 g ammonium molibdat ditambah 60 ml akuades kemudian ditambahkan 28 ml H₂SO₄ 96-98% dan 5 g FeSO₄.7H₂O dan dijadikan 100 ml dengan akuades). Penambahan 2 ml larutan pereaksi fosfor juga dilakukan pada larutan standar fosfor dan blanko (akuades). Sampel, standar, dan blanko masing-masing ditambahkan akuades sampai batas tabung reaksi (25 ml) dan masing-masing dihomogenkan. Larutan standar dan blanko dimasukkan dalam kuvet dan dilewatkan pada sinar spektrofotometer visible kemudian akan muncul nilai absorbansinya di layar komputer yang akan menentukan konstanta dari persamaan linier $y = ax + b$ serta nilai regresinya sebagai standar perhitungan kadar fosfor. Tahap selanjutnya, larutan sampel dimasukkan dalam kuvet dan dilewatkan pula pada sinar spektrofotometer visible dengan pengulangan pembacaan sebanyak tiga kali dengan selisih waktu agar hasil yang didapat stabil. Kadar logam pada sampel akan diubah ke dalam bentuk persen.

Analisis data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer STATA versi 13, kemudian dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk test* ($N < 50$) untuk mengetahui sebaran data dan uji homogenitas menggunakan *Levene test*. Analisis univariat meliputi analisis data dengan menghitung nilai rerata berat badan tikus. Apabila data terdistribusi normal dan homogen, analisis data dilakukan dengan menggunakan uji *One-way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan antarkelompok perlakuan dan kontrol negatif. Jika mendapatkan hasil yang secara signifikan berbeda, maka dilanjutkan uji *Post-Hoc* menggunakan uji Bonferroni. Data yang tidak terdistribusi normal, tidak homogen maupun keduanya dapat dilakukan analisis data non parametrik *Kruskal Wallis*, jika mendapatkan hasil yang secara signifikan berbeda maka dilanjutkan uji *Post-Hoc* menggunakan uji *Wilcoxon*.

HASIL

Penelitian menggunakan tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar betina sebanyak 30 ekor dan jantan 10 ekor berumur kurang lebih 10 minggu. Kondisi awal tikus tampak sehat berdasar kriteria rambut tidak kusam atau rontok, aktif bergerak, tidak cacat, dan tidak memiliki kelainan anatomis. Tikus diadaptasi selama tujuh hari, dipisahkan antara tikus jantan dan betina. Tikus yang telah diadaptasi memiliki kondisi umum yang baik dan sehat kemudian dilakukan penimbangan sebelum dan setelah adaptasi untuk menentukan tidak terjadinya penurunan berat badan yang drastis pada tikus.

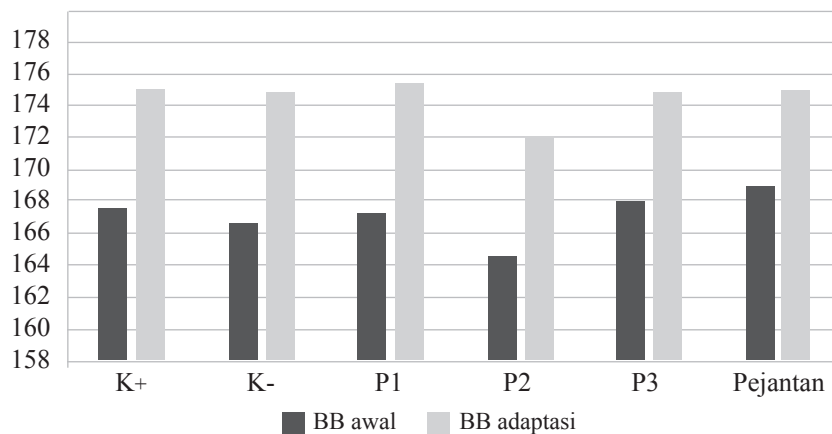
Gambar 1 menunjukkan tidak adanya penurunan berat badan pada semua kelompok induk maupun pejantan dan berat badan tikus setelah adaptasi masih dalam batas normal untuk usianya yaitu 150-200 g sehingga semua tikus tersebut masuk dalam kriteria sampel penelitian. Tikus yang telah hamil (yang ditandai dengan adanya sumbat vagina dan ulasan vagina positif mengandung sperma) dibagi menjadi lima kelompok secara acak dengan satu kelompok diberikan pakan protein standar (K+) dan empat kelompok lain diberikan pakan protein rendah (K-, P1, P2, P3). Induk tikus ditimbang tiap

minggu untuk menentukan jumlah pemberian pakan yaitu sebesar 10% dari berat badan.

Tikus yang lahir pada setiap kelompok dilakukan penimbangan dan hasil pengukuran berat lahir anak tikus disajikan pada **Tabel 1**. Kelompok K+ yang mendapat pakan diet standar memiliki rerata berat lahir sebesar 8,32±0,47g yang merupakan patokan berat normal anak tikus dalam penelitian ini. Anak tikus dikategorikan mengalami malnutrisi (BBLR) apabila berat lahirnya memiliki selisih penurunan dengan berat K+ sebesar lebih dari 15%. Berat lahir anak tikus pada kelompok K-, P1, P2, dan P3 yang diberi pakan protein rendah

memiliki selisih penurunan lebih dari 15% dibandingkan K+ sehingga dapat dikategorikan mengalami malnutrisi (BBLR).

Tabel 2 merupakan hasil uji kadar fosfor tulang maksila pada kelompok anak tikus malnutrisi yang diberikan perlakuan diet protein dan vitamin D3 (K-, P1, P2, P3). Berdasarkan hasil uji normalitas dengan *Saphiro-wilk*, data kadar fosfor terdistribusi normal dan homogen pada semua kelompok dengan $p>0,05$ sehingga analisis data rerata kadar fosfor menggunakan *One-way ANOVA*. Hasil analisis data menunjukkan terdapat perbedaan bermakna rerata kadar fosfor antarkelompok



Gambar 1. Diagram rerata berat badan tikus sebelum dan setelah adaptasi

Tabel 1. Kadar fosfor (P) tulang maksila pada kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan

Karakteristik	Kelompok				
	K+ (n=65)	K- (n=47)	P1 (n=50)	P2 (n=53)	P3 (n=34)
Berat badan lahir (g)	8,32±0,47	4,40±0,58	4,18±0,39	4,08±0,27	4,56±0,50

Nilai disajikan dalam rerata ± SD; n = jumlah tikus

K+ : Kelompok anak tikus sehat yang menyusu pada induk dengan diet protein standar + vitamin D3;

K- = kelompok anak tikus malnutrisi yang menyusu pada induk dengan diet protein rendah;

P1 = kelompok anak tikus malnutrisi yang menyusu pada induk dengan diet protein standar + vitamin D3;

P2 = kelompok anak tikus malnutrisi yang menyusu pada induk dengan diet protein rendah + vitamin D3;

P3 = kelompok anak tikus malnutrisi yang menyusu pada induk dengan diet protein standar.

Tabel 2. Kadar fosfor (P) tulang maksila pada kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan

Karakteristik	Kelompok				p
	K- (n=6)	P1 (n=6)	P2 (n=6)	P3 (n=6)	
Kadar fosfor (%)	6,53±0,33 ^a	9,52±0,35 ^b	7,39±0,22 ^c	7,83±0,21 ^c	<0,001*

Nilai disajikan dalam rerata ± SD; n = jumlah tikus

K- = kelompok anak tikus malnutrisi yang menyusu pada induk dengan diet protein rendah;

P1 = kelompok anak tikus malnutrisi yang menyusu pada induk dengan diet protein standar + vitamin D3;

P2 = kelompok anak tikus malnutrisi yang menyusu pada induk dengan diet protein rendah + vitamin D3;

P3 = kelompok anak tikus malnutrisi yang menyusu pada induk dengan diet protein standar;

* = signifikan ($p<0,05$, uji *One Way ANOVA*);

^{a, b dan c} = notasi berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p<0,05$).

($p < 0,001$). Selanjutnya, untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda secara bermakna dilakukan uji *Post Hoc Bonferroni* dengan hasil terdapat perbedaan bermakna rerata kadar fosfor antara kelompok K- dengan P1, K- dengan P2, dan K- dengan P3. Rerata kadar fosfor kelompok P1 dengan P2 dan P1 dengan P3 memiliki perbedaan yang bermakna sedangkan rerata fosfor antara kelompok P2 dengan P3 tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

BAHASAN

Pertambahan berat badan tikus sebelum dan setelah adaptasi menunjukkan peningkatan berat badan pada semua kelompok tikus dan pejantan. Berat badan tikus setelah adaptasi masih berada dalam kriteria inklusi dan kisaran normal yaitu 150-200 g. Berdasarkan kriteria *World Health Organization* (WHO), tikus penelitian harus mencapai berat badan antara 150-200 g pada usia 2-3 bulan. Pada penelitian ini, kebuntingan tikus berlangsung selama 21 hari. Kebuntingan tikus berlangsung selama 21-22 hari [16]. Pada kondisi kontrol pencahayaan yang baik, 57% tikus lahir pada hari ke-21 sedangkan sisanya pada hari ke-22.

Anak tikus dikategorikan mengalami malnutrisi prenatal (BBLR) apabila berat lahirnya kurang dari 15% dari berat kontrol [17]. Berat lahir anak tikus kelompok K-, P1, P2, P3 yang diberi pakan protein rendah memiliki berat lahir kurang dari 5 g yaitu kurang dari 15% dibandingkan kontrol (± 8 g) sehingga dapat dikategorikan mengalami malnutrisi prenatal (BBLR). Hasil tersebut selaras dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa berat lahir anak tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar kurang dari normal apabila di bawah 5 g [16]. Kondisi tersebut diakibatkan oleh pemberian diet protein rendah (4%) pada masa kebuntingan tikus. Dua studi lain menyatakan bahwa diet rendah protein 5-10% dibandingkan dengan diet protein standar 21% (kontrol) pada tikus selama kebuntingan secara signifikan melahirkan bayi tikus dengan berat yang lebih rendah dibandingkan kontrol [18,19]. Kekurangan nutrisi salah satunya protein saat kehamilan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan janin, gangguan perkembangan otot, mengurangi kepadatan

tulang serta menyebabkan gangguan metabolisme pada janin dalam kandungan maupun bayi yang akan dilahirkan [20].

Kelompok dengan perlakuan diet protein 20% dan vitamin D3 0,36 IU/hari per oral menunjukkan peningkatan rerata kadar fosfor tertinggi dan berbeda signifikan diantara kelompok lain yang mengalami malnutrisi prenatal. Rerata kadar fosfor tulang maksila menunjukkan hasil terdapat perbedaan yang signifikan berupa peningkatan rerata kadar fosfor pada kelompok yang diberikan vitamin D3 dengan protein 4% maupun protein 20% saja bila dibandingkan kontrol negatif. Tidak terdapat perbedaan signifikan rerata kadar fosfor maksila antara kelompok yang mendapatkan diet protein 20% saja maupun vitamin D3 0,36 IU/hari dengan protein 4%. Peningkatan asupan protein dapat meningkatkan kadar *Insulin Growth Factor-1* (IGF-1) sehingga meningkatkan sintesis vitamin D3. Kondisi tersebut akan berdampak pada peningkatan absorpsi fosfat anorganik dalam usus. Peningkatan sintesis vitamin D3, absorpsi kalsium serta fosfat anorganik mengakibatkan penurunan PTH yang mereduksi resorpsi tulang. Peningkatan sintesis vitamin D3 juga dapat menginduksi formasi tulang. Semua kondisi tersebut dapat meningkatkan kekuatan dan masa tulang serta menurunkan risiko terjadinya fraktur [4]. Vitamin D3 berperan dalam homeostasis fosfor untuk mineralisasi tulang. Kecukupan vitamin D3 meningkatkan penyerapan fosfor sebanyak 80% [21]. Vitamin D3 meregulasi kadar PTH yang berperan penting dalam regulasi fosfor dalam tulang [11,22]. Kekuatan tulang meningkat sebanding dengan kandungan mineral tulang [23]. Pada masa pertumbuhan aktivitas tulang tinggi. Kepadatan tulang pada masa pertumbuhan mempengaruhi kualitas tulang pada usia lanjut [24].

Tulang yang sehat harus mengandung kepadatan atau densitas yang tinggi. Densitas tulang adalah kandungan mineral tulang pada suatu area tulang yang bergantung dari jumlah bahan anorganik yaitu salah satunya fosfor dalam tulang. Penurunan densitas tulang menyebabkan tulang menjadi lemah dan tidak mampu menahan tekanan sehingga mudah patah [11]. Hambatan kalsifikasi tulang ditandai dengan menurunnya kadar fosfor tulang [2]. Kalsium dan fosfor merupakan mineral anorganik utama tulang. Penurunan kadar fosfor dalam

tulang akan menyebabkan penurunan kualitas tulang. Kematangan tulang ditentukan oleh jumlah deposisi mineral kalsium dan fosfor. Kekurangan protein menyebabkan kekurangan subunit skelet rahang yang berdampak pada deformasi dan proporsi rahang berupa penurunan densitas tulang. Penurunan densitas tulang rahang menyebabkan tulang penyangga gigi (rahang dan alveolar) kurang kuat sehingga gigi goyang dan tanggal yang menyebabkan gangguan pengunyahan [25].

Tumbuh kembang dipengaruhi oleh faktor genetik, lingkungan dan hormonal. Nutrisi merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi tumbuh kembang tulang prenatal. Perkembangan tulang terjadi secara berkesinambungan. Nutrisi dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tulang dengan cara mengubah reaksi pada faktor pertumbuhan yang berpengaruh pada diferensiasi sel serta pembentukan matriks tulang [26]. Protein berperan penting sebagai penyusun matriks organik tulang yang merupakan tempat deposisi kalsium dan fosfor pada tulang. Protein juga berfungsi mengikat kalsium sehingga semakin banyak protein dalam tubuh semakin banyak pula kalsium yang dapat diikat. Metabolisme tulang dapat berjalan lancar dengan bantuan protein dan vitamin D. Vitamin D meningkatkan absorpsi kalsium dan fosfor di usus sehingga dapat meningkatkan deposisi kedua mineral tersebut di tulang. Kekurangan protein maupun vitamin D dalam tubuh akan menyebabkan terhambatnya metabolisme kalsium dan fosfor [11,27]. Apabila asupan vitamin D3 saja tercukupi, tetapi asupan protein tidak tercukupi maupun sebaliknya, maka akan menyebabkan terhambatnya metabolisme kalsium dan fosfor dalam tulang anak malnutrisi prenatal.

SIMPULAN DAN SARAN

Pemberian diet protein 20% tanpa vitamin D3 maupun diet protein 4% dengan vitamin D3 0,36 IU/hari per oral meningkatkan kadar fosfor tulang maksila anak tikus dengan BBLR secara signifikan. Namun, pemberian kombinasi diet protein standar 20% dan vitamin D3 0,36 IU/hari per oral paling optimal dalam meningkatkan kadar fosfor tulang maksila anak tikus dengan BBLR (malnutrisi). Perlu dilakukan penelitian

dengan kelompok perlakuan yang lebih bervariasi. Penelitian yang melibatkan pemeriksaan mineral tulang lain, yaitu serum fosfor dan vitamin D juga diperlukan untuk hasil yang lebih akurat.

Pernyataan konflik kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini.

RUJUKAN

1. Kominiarek MA, Rajan P. Nutrition recommendations in pregnancy and lactation. *Med Clin North Am.* 2016;100(6):1199-215. doi: 10.1016/j.mcna.2016.06.004
2. Kovacs CS. Bone development and mineral homeostasis in the fetus and neonate: roles of the calciotropic and phosphotropic hormones. *Physiol Rev.* 2014;94(4):1143-218. doi: 10.1152/physrev.00014.2014
3. AO Ehizele, PI Ojehanon, O Akhionbare. Nutrition and oral health. *Benin Journal of Postgraduate Medicine* 11(1). doi: 10.4314/bjpm.v11i1.48830
4. Bonjour JP. The dietary protein, IGF-I, skeletal health axis. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2016;28(1):39-53. doi: 10.1515/hmbci-2016-0003
5. Darcey J, Horner K, Walsh T, Southern H, Marjanovic EJ, Devlin H. Tooth loss and osteoporosis: to assess the association between osteoporosis status and tooth number. *Br Dent J.* 2013;214(4):E10. doi: 10.1038/sj.bdj.2013.165
6. Penoni DC, Leão ATT, Fernandes TM, Torres SR. Possible links between osteoporosis and periodontal disease. *Revista Brasileira de Reumatologia (English Edition).* 2017;57(3):270-3. doi: 10.1016/j.rbre.2016.03.004
7. Mitchell L. Introduction to orthodontics, 4st ed. New York: Oxford University Press; 2013.
8. Laguhi VA, Anindita PS, Gunawan PN. Gambaran maloklusi dengan menggunakan HMAR pada pasien di Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal e-Gigi(eG).* 2014;2(2):1-7.
9. Soeroso Y. Perkembangan terapi periodontal non bedah pada periodontitis kronis. The Third National Scientific Seminar in Periodontics. Hotel Aryaduta, Jakarta 6-7 September 2014.
10. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Hasil Utama RISKESDAS 2018. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kemenkes RI; 2018.
11. Guyton AC, Hall JE. Guyton and Hall Buku ajar fisiologi kedokteran. Singapura: Elsevier; 2016.
12. Jekl V, Krejcirova L, Buchtova M, Knotek Z. Effect of high phosphorus diet on tooth microstructure of rodent incisors. *Bone.* 2011;49(3):479-84. doi: 10.1016/j.bone.2011.04.021

13. Miles TS. Bone and calcium metabolism. In: Clinical oral physiology. United Kingdom: QP United Kingdom; 2004.
14. Wishney M, Darendeliler MA, Dalci O. Craniofacial growth studies in orthodontic research — lessons, considerations and controversies. *Australasian Orthodontic Journal*. 2018;34(1). doi: 10.21307/aoj-2020-059
15. Jonasson G, Skoglund I, Rythén M. The rise and fall of the alveolar process: Dependency of teeth and metabolic aspects. *Arch Oral Biol*. 2018;96:195-200. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.09.016
16. Malole MBM, Pramono CSU. Pengantar hewan-hewan percobaan di laboratorium, Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2009.
17. Mu M, Wang SF, Sheng J, Zhao Y, Li HZ, Tao FB, et al. Birth weight and subsequent blood pressure: a meta-analysis. *Arch Cardiovasc Dis*. 2012;105(2):99-113. doi: 10.1016/j.acvd.2011.10.006
18. Xie Z, Dong Q, Ge J, Chen P, Li W, Hu J. Effect of low birth weight on impaired renal development and function and hypertension in rat model. *Ren Fail*. 2012;34(6):754-9. doi: 10.3109/0886022X.2012.676526
19. Hassan EK, Hegazy MS. Histopatological and weight changes of the rat fetal liver of females fed with low protein diet during pregnancy. *AAMJ*. 2014;12(2): 257-75.
20. Pillai SM, Sereda NH, Hoffman ML, Valley EV, Crenshaw TD, Govoni KE, et al. Effects of poor maternal nutrition during gestation on bone development and mesenchymal stem cell activity in offspring. *PLoS One*. 2016;11(12):e0168382. doi: 10.1371/journal.pone.0168382
21. D'Ortenzio L, Kahlon B, Peacock T, Salahuddin H, Brickley M. The rachitic tooth: refining the use of interglobular dentine in diagnosing vitamin D deficiency. *Int J Paleopathol*. 2018;22:101-8. doi: 10.1016/j.ijpp.2018.07.001
22. Nair R, Maseeh A. Vitamin D: the “sunshine” vitamin. *J Pharmacol Pharmacother*. 2012;3(2):118-26. doi: 10.4103/0976-500X.95506
23. Mandema JW, Zheng J, Libanati C, Perez Ruixo JJ. Time course of bone mineral density changes with denosumab compared with other drugs in postmenopausal osteoporosis: a dose-response-based meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(10):3746-55. doi: 10.1210/jc.2013-3795
24. Peters BS, Martini LA. Nutritional aspects of the prevention and treatment of osteoporosis. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2010;54(2):179-85. doi: 10.1590/s0004-27302010000200014
25. Bozzini CE, Champin G, Alippi RM, Bozzini C. Bone mineral density and bone strength from the mandible of chronically protein restricted rats. *Acta Odontol Latinoam*. 2011;24(3):223-8.
26. Pudyani PS. Reversibilitas kalsifikasi tulang akibat kekurangan protein pre dan post natal. *Dental Journal: Majalah Kedokteran Gigi*. 2005;38(3):115-9. doi: 10.20473/j.djmg.v38.i3.p115-119
27. Marks DB, Allan DM, Colleen MS. Biokimia kedokteran dasar: sebuah pendekatan klinis, edisi 1. Jakarta: EGC; 2000.