

Efektivitas Penyerapan Kalsium pada Model Tikus Kurang Gizi yang Diberi Diet Berbasis Mocaf Diperkaya Inulin

Ilmi Dewi Astuti¹, Rimbawan Rimbawan², Budi Setiawan², Ainia Herminiati³

¹Program Studi Gizi, STIKes Banyuwangi, Banyuwangi, Indonesia

²Program Studi Ilmu Gizi, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

³Pusat Riset Teknologi Tepat Guna, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Indonesia

Email : ilmidewi@stikesbanyuwangi.ac.id

Abstract

This study aims to determine the calcium balance in undernourished rats fed with inulin-enriched MOCFAF-based diet. Twenty-seven Sprague Dawley male rats at post-weaning age were classified into 1 normal control groups and 8 undernourished groups. The undernourished rats were conditioned for one month then followed by intervention with MOCFAF-based diet for another one month. Calcium analysis was performed on the urine, feces, and tibial bones of rats. Data of calcium were processed using One Way Anova test followed by Post Hoc Duncan to determine mean differences between groups. The results showed that calcium absorption, calcium retention, and calcium bioavailability between groups differed significantly ($p < 0.05$). The highest calcium absorption and calcium retention were found in the protein-energy-deficient rats fed Manggu MOCFAF with inulin (KEP M2 = $97.47 \pm 0.39\%$ and $97.4 \pm 0.4\%$) respectively. Bioavailability of calcium was higher in the group of undernourished rats fed with MOCFAF-based diet. The highest level of calcium of the tibia was found in the protein-deficient rats fed Mentega MOCFAF with inulin (KP T2 = $41.1 \pm 3.59\%$) and was significantly different ($p < 0.05$) from the protein-energy-deficient rats fed Manggu MOCFAF without inulin group (KEP M1 = $25.7 \pm 6.71\%$). This study concluded that inulin-enriched MOCFAF-based diet could improve the calcium balance in undernourished rats.

Keyword: Calcium, inulin, MOCFAF, undernourished rats

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian diet berbasis MOCFAF diperkaya inulin terhadap efektivitas penyerapan kalsium pada model tikus kurang gizi. Sebanyak 27 tikus jantan galur *Sprague Dawley* usia lepas masa sapih dikelompokkan menjadi 9 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol normal dan 8 kelompok tikus kurang gizi. Pembuatan model tikus kurang gizi selama satu bulan dan dilanjutkan intervensi dengan diet berbasis MOCFAF selama satu bulan. Analisis kalsium dilakukan pada urin, feses, dan tulang tibia tikus. Data kalsium diolah menggunakan ANOVA dilanjutkan dengan *Post Hoc Duncan*. Hasil penelitian menunjukkan daya serap kalsium, retensi kalsium dan bioavailabilitas kalsium antar kelompok berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Daya serap dan retensi kalsium tertinggi terdapat pada kelompok tikus kurang energi protein yang diberi diet MOCFAF manggu dengan inulin (KEP M2 = $97,47 \pm 0,39\%$ dan $97,4 \pm 0,4\%$). Bioavailabilitas kalsium lebih tinggi pada kelompok tikus kurang gizi yang diberi diet berbasis MOCFAF. Kadar kalsium tulang tibia paling tinggi terdapat pada kelompok tikus kurang protein yang diberi diet MOCFAF mentega dengan inulin (KP T2 = $41,1 \pm 3,59\%$) dan berbeda signifikan dengan kelompok tikus kurang energi protein yang diberi diet MOCFAF Manggu tanpa inulin (KEP M1 = $25,7 \pm 6,71\%$). Disimpulkan bahwa diet berbasis MOCFAF dengan inulin dapat membantu penyerapan kalsium pada tikus kurang gizi.

Kata Kunci: Kalsium, inulin, MOCFAF, tikus kurang gizi

PENDAHULUAN

Secara global, pada tahun 2018 sebanyak 149 juta anak di bawah usia lima tahun atau sekitar 1 dari 4 anak terlalu pendek untuk usianya atau mengalami *stunting* (UNICEF/WHO/World Bank Group, 2019). Asia Tenggara memiliki prevalensi balita *stunting* sebesar 25% pada tahun 2018 (UNICEF/WHO/World Bank Group, 2019). Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2018 memperlihatkan prevalensi *stunting* di Indonesia sebesar 30,8%. Pada tahun 2019, prevalensi *stunting* di Indonesia turun menjadi 27,6% berdasarkan Studi Status Gizi Balita di Indonesia (SSGBI) tahun 2019. Nilai tersebut masih tergolong belum memenuhi target WHO, yaitu prevalensi *stunting* kurang dari 20% (Kemenkes, 2019). *Stunting* memiliki efek jangka panjang pada individu dan masyarakat, termasuk berkurangnya perkembangan kognitif dan fisik, berkurangnya kapasitas produktif dan kesehatan yang buruk, dan peningkatan risiko penyakit degeneratif seperti diabetes (WHO, 2014).

Berdasarkan WHO (2014), salah satu penyebab *stunting* adalah kualitas dan kuantitas makanan yang tidak adekuat. Di Indonesia sendiri, konsumsi pangan anak dilaporkan tidak sesuai dengan prinsip gizi seimbang (Hardiansyah, Hardinsyah and Sukandar, 2017). Sebagai upaya pencegahan terhadap *stunting*, diperlukan konsumsi pangan yang beragam, bergizi seimbang, dan aman untuk bayi usia 6-23 bulan sebagai Makanan Pendamping Air Susu Ibu (MP-ASI). Salah satu alternatif MP-ASI yang dapat diberikan untuk bayi adalah bubur instan. Bubur memiliki konsistensi yang lunak dan dapat diberikan pada balita yang perkembangan sistem gastrointestinalnya belum sempurna.

Inovasi yang dapat dilakukan pada bubur sebagai produk MP-ASI antara lain dengan melakukan diversifikasi bahan dasar, yaitu dengan mocaf sebagai sumber karbohidrat utama, kemudian bahan penunjang susu skim, dan tepung tempe sebagai sumber protein, difortifikasi oleh *micronutrient premix* (Fe, Zn, vitamin B₁, vitamin B₂, asam folat), juga diperkaya dengan inulin (Herminiati *et al.*, 2019). Produk bubur instan tersebut memenuhi standar MP-ASI, sesuai SNI No. 01-7111.1-2005 (BSN, 2005). MOCAF (*Modified Cassava Flour*) merupakan singkong (*Manihot esculenta Crantz*) yang diproses secara fermentasi dengan memanfaatkan BAL (Bakteri Asam Laktat) hingga menjadi produk akhir berupa tepung (Afifah dan Ratnawati, 2017). Sumber singkong yang digunakan dapat mempengaruhi karakteristik MOCAF (Fathoni *et al.*, 2016).

Selain zat gizi makro, asupan zat gizi mikro seperti kalsium pada balita perlu diberikan secara optimal, karena akan berpengaruh terhadap pertumbuhan linearnya. Pada produk bubur instan MOCAF, sumber protein dan kalsium berasal dari tepung susu skim dan tepung tempe. Kandungan kalsium susu skim sebesar 1300 mg dan tergolong kandungan kalsium tertinggi dibanding golongan susu lainnya (Hutagalung *et al.*, 2007). Kalsium pada tepung tempe juga tergolong tinggi, yakni sebesar 1400

mg/100g (Asyaifullah, 2015).

Meskipun kandungan kalsium pada suatu bahan pangan tinggi, tetapi bioavailabilitasnya belum tentu tinggi. Bioavailabilitas sendiri dapat diartikan sebagai jumlah mineral dalam bahan pangan yang dapat diserap dan dipergunakan oleh tubuh (Miller *et al.*, 2001). Bioavailabilitas kalsium dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya dapat disebabkan oleh ion kalsium. Ion kalsium dapat berikatan dengan zat anti gizi seperti oksalat dan fitat membentuk garam tak larut, sehingga dapat mengurangi daya serapnya (Dendougui dan Schwedt, 2004). Menurut Heuvel *et al.* (2000), untuk meningkatkan penyerapan kalsium dapat ditambahkan prebiotik, salah satunya dengan menggunakan inulin (Kennefick dan Cashman, 2000 ; Roberfroid, 2007). Inulin dapat mendorong pertumbuhan bakteri asam laktat yang membentuk asam lemak rantai pendek, sehingga terjadi penurunan pH lumen usus dan penyerapan kalsium meningkat (Roberfroid, 2007).

Sebelum dilakukan uji klinis terhadap produk bubur instan berbahan dasar *mocaf* pada balita, perlu dilakukan uji pra-klinis dengan menggunakan hewan coba. Penelitian yang dilakukan merupakan uji pra-klinis. Uji pra-klinis ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh diet berbasis *mocaf* yang diperkaya dengan inulin terhadap efektifitas penyerapan kalsium pada model hewan coba (tikus kurang gizi). Kalsium yang terserap baik nantinya akan mendukung pertumbuhan fisik termasuk pertumbuhan tulang, maturasi skeletal secara bertahap pada usia balita (Theobald, 2005).

METODE

Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian induk yang berjudul “Pengembangan produk pangan fungsional berbasis MOCAF yang diperkaya inulin untuk meningkatkan penyerapan kalsium pada balita” yang dilakukan oleh P2TTG LIPI Subang dari program INSINAS. Pengujian efektivitas produk pada hewan coba merupakan fokus penelitian. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok Faktorial (*randomized factorial block design*). Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Februari-Juni 2019. *Ethical Clearance* diperoleh dari Komisi Etik Hewan LPPM IPB dengan nomor 140-2019 IPB. Pembuatan diet untuk tikus percobaan dilakukan di Laboratorium Hewan Coba, Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia (FEMA) IPB. Analisis proksimat dilakukan di Laboratorium Biokimia, Departemen Gizi Masyarakat, (FEMA) IPB. Uji *in vivo* dengan hewan coba dilakukan di Laboratorium Hewan Coba, Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia (FEMA) IPB. Analisis kadar kalsium feses, urin, dan tulang tibia dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi Ternak Perah Fakultas Peternakan IPB.

Alat dan Bahan

Alat untuk pemeliharaan tikus percobaan antara lain kandang metabolik yang terbuat dari *stainless steel*, botol minum, gelas ukur untuk menampung urin, dan timbangan digital untuk menimbang berat badan tikus. Bahan utama formulasi diet berupa MOC AF Manggu (dari singkong varietas manggu) dan MOC AF Mentega (dari singkong varietas mentega yang mengandung beta karoten) diperoleh dari UKM di kawasan Subang (Jawa Barat), tepung tempe diperoleh dari P2TTG LIPI Subang, tepung susu skim diperoleh dari toko kue, inulin diperoleh dari distributor Orafiti di Jakarta, dan mikronutrien premix diperoleh dari distributor Mulenchemie di Jakarta. Hewan coba berupa tikus jantan galur *Sprague Dawley* diperoleh dari Balai Besar Penelitian Veteriner (BBLITVET) Bogor.

Bahan baku untuk pembuatan diet standar tikus berdasarkan AOAC (2005) terdiri atas kasein, minyak jagung, pati jagung, *carboxy methyl cellulose* (CMC), sukrosa, campuran mineral, campuran vitamin, diperoleh dari toko bahan kimia di Bogor. Alat yang digunakan untuk membuat diet dalam bentuk pasta yaitu timbangan digital, baskom, pengaduk, dan gelas ukur. Pengukuran kadar kalsium feses, urin, dan kadar kalsium tulang tibia menggunakan alat *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS). Alat dan bahan untuk pengambilan darah dan pembedahan pada akhir intervensi adalah larutan xylazin dan ketamin untuk anestesi, kapas, jarum suntik, tabung *ependorf*, alat sentrifuge, pisau bedah, papan bedah, sarung tangan (*hand gloves*), sabun antiseptik, masker, alkohol.

Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini terdiri atas 2 tahapan, yakni tahap pertama adalah pembuatan model tikus kurang gizi yaitu model tikus Kurang Protein (KP) dan model tikus Kurang Energi Protein (KEP). Setelah pembuatan model tikus kurang gizi, tahap kedua yakni intervensi formulasi diet berbasis MOC AF.

Pembuatan model tikus kurang gizi berdasarkan metode yang digunakan dalam penelitian Astuti (2020). Sebanyak 27 ekor tikus jantan galur *Sprague Dawley* berusia 21-28 hari (lepas masa sapih) dengan bobot 50-100 gram, diadaptasikan selama 10 hari dengan pemberian diet standar tikus yang diformulasikan berdasarkan *Association of Official Agricultural Chemists* (AOAC) dan minum secara *ad libitum* (AOAC, 2005). Bobot awal dari tikus ditimbang, selanjutnya dikandangkan secara individual. Pencahayaan diberikan selama 12 jam. Pemberian diet dilakukan setiap sore pada pukul 16.00 WIB. Pengukuran suhu dan kelembapan dalam ruangan dilakukan selama penelitian berlangsung dengan menggunakan *thermohigrometer* yang tersedia di dalam ruangan.

Pada hari ke 11 setelah adaptasi, tikus diberikan diet sesuai kelompok masing-masing. Kelompok kontrol normal (K) menggunakan diet standar mengikuti

metode berdasarkan AOAC dengan persentase protein diet sebesar 10%. Keseluruhan pakan dalam penelitian ini diberikan dalam bentuk pasta secara *ad libitum* dengan memperhatikan kebutuhan energi tikus masa pertumbuhan. Berdasarkan *National Research Council* (NRC), kebutuhan minimal energi tikus usia 4 minggu sebesar 227 kkal/BW_{kg}^{0,75} (NRC, 1995). Pakan memiliki densitas energi 3.9 kkal/g, sehingga jumlah pakan yang harus diberikan ke tikus minimal berjumlah 20 gram. Pembuatan model tikus KP dengan cara memberikan diet hasil modifikasi diet standar AOAC dengan persentase protein sebesar 5% dari total energi sehari. Pada kelompok tikus KEP diterapkan restriksi jumlah diet yang diberikan secara bertahap mulai dari 30% sampai 60%. Jumlah pakan kelompok perlakuan (KEP) menyesuaikan dengan jumlah konsumsi pakan kelompok kontrol normal *ad libitum* pada hari sebelumnya (Saito *et al.* 2010). Pemberian diet pada kelompok KP dan KEP selama \pm 30 hari bertujuan untuk membuat model tikus kurang gizi (Astuti 2020)

Setelah membuat tikus menjadi kurang gizi maka mulai diberikan intervensi diet berbasis MOCAF pada kelompok KP dan KEP selama 30 hari. Tikus dibagi menjadi 9 kelompok sesuai perlakuan masing-masing. Jenis perlakuan yang diberikan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan diet yang diberikan pada tikus percobaan

No	Kelompok tikus	Perlakuan
1	K (Kontrol normal)	Tikus kontrol normal dengan diet standar AOAC
2	KP M1	Tikus kurang protein yang diberikan diet MOCAF Manggu tanpa inulin
3	KP M2	Tikus kurang protein yang diberikan diet MOCAF Manggu dengan inulin
4	KP T1	Tikus kurang protein yang diberikan diet MOCAF Mentega tanpa inulin
5	KP T2	Tikus kurang protein yang diberikan diet MOCAF Mentega dengan inulin
6	KEP M1	Tikus kurang energi dan protein yang diberikan diet MOCAF Manggu tanpa inulin
7	KEP M2	Tikus kurang energi dan protein yang diberikan diet MOCAF Manggu dengan inulin
8	KEP T1	Tikus kurang energi dan protein yang diberikan diet MOCAF Mentega tanpa inulin
9	KEP T2	Tikus kurang energi dan protein yang diberikan diet MOCAF Mentega dengan inulin

Keseluruhan diet dalam penelitian ini diberikan dalam bentuk pasta secara *ad libitum* dengan memperhatikan kebutuhan energi tikus masa pertumbuhan. Diet intervensi berupa formulasi diet berbasis MOCAF yang diolah dari singkong Manggu dan singkong Mentega. Kandungan gizi diet berbasis MOCAF dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan gizi diet berbasis MOCAF

No	Komponen	Diet	Diet
		MOCAF	MOCAF
		Munggu	Mentega
1	Protein (%)	10,59	11,06
2	Lemak (%0	11,53	9,77
3	Karbohidrat (%)	76,03	77,49
4	Air (%)	3,41	3,92
5	Abu (%)	1,65	1,68
6	Kalsium (mg/100g)	595,78	633,70
7	Zat besi (mg/kg)	79,79	77,58
8	Zinc (mg/kg)	32,72	36,92
9	Kepadatan energi (kkal/100g)	450,25	442,13

Sumber: Astuti (2020)

Adapun untuk formulasi diet dibedakan menjadi 2, yakni diet tanpa inulin dan diet dengan pengayaan inulin. Pada formulasi diet berbasis MOCAF yang diperkaya inulin, diberikan penambahan 0,8 gram inulin pada setiap 100 gram jumlah diet, sedangkan produk tanpa inulin sumber serat akan didapatkan dari penambahan selulosa sebanyak 0,8 gram per 100 gram jumlah diet. Formulasi diet berbasis MOCAF dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Formulasi diet berbasis MOCAF

Bahan	Komposisi (%)
Tepung MOCAF	45
Tepung tempe	4,8
Susu skim	14,4
Inulin	0,8
Gula halus	25
Minyak kelapa sawit	10
Micronutrient premix (Fe, Zink, asam folat, vitamin B1, vitamin B2)	0,015
Jumlah	100

Sumber: Herminiati *et al.* (2019)

Selama periode intervensi diet berbasis MOCAF, pengumpulan feses dan urin dilakukan setiap hari. Pada hari terakhir intervensi, tikus dibedah untuk diambil tulang tibianya. Preparasi sampel feses dan urin untuk analisis kadar Ca menggunakan metode pengabuan basah, sedangkan preparasi tulang tibia menggunakan metode pengabuan kering. Hasil preparasi sampel dibaca menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) untuk mengetahui kadar kalsiumnya (AOAC, 2005).

Setelah diketahui kadar kalsiumnya, maka dilakukan perhitungan nilai daya serap kalsium, retensi kalsium, dan bioavailabilitas kalsium. Daya serap kalsium adalah proporsi jumlah kalsium yang diperoleh dengan cara mengurangi jumlah kalsium yang dikonsumsi dengan jumlah kalsium yang diekskresikan melalui feses.

$$\text{Daya serap Ca (\%)} = \frac{\text{Ca intake} - \text{Ca feses}}{\text{Ca intake}} \times 100\%$$

Retensi kalsium adalah proporsi jumlah kalsium yang diperoleh dengan cara mengurangi jumlah kalsium yang diserap dengan jumlah kalsium yang diekskresikan melalui urin.

$$\text{Retensi Ca (\%)} = \frac{\text{Ca intake} - \text{Ca feses} - \text{Ca urin}}{\text{Ca intake}} \times 100\%$$

Bioavailabilitas kalsium adalah proporsi kalsium yang ditahan di dalam tubuh (retensi kalsium) dibandingkan dengan kalsium yang diserap oleh tubuh (daya serap kalsium).

$$\text{Bioavailabilitas Ca (\%)} = \frac{\text{Retensi Ca}}{\text{Daya serap Ca}}$$

Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan analisis data menggunakan program komputer *Microsoft Excel* 2013 dan program *Statistical Program Social Science* (SPSS) versi 21.0. Analisis data yang dilakukan menggunakan uji normalitas, kemudian uji beda ANOVA untuk melihat perbedaan dari tiap perlakuan, dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan (DMRT) apabila terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan. *P-value* kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) ditetapkan sebagai batas signifikansi. Data disajikan dalam bentuk rata-rata dan standar deviasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Asupan, Daya Serap, Retensi dan Bioavailabilitas Kalsium

Bioavailabilitas mineral kalsium dengan metode keseimbangan mineral dapat dievaluasi dengan melihat daya serap mineral kalsium yang merupakan selisih antara kandungan kalsium pangan yang dikonsumsi dengan kalsium yang diekskresikan lewat feses (Guéguen and Pointillart, 2000). Selain pengukuran daya serap, analisis bioavailabilitas dengan metode keseimbangan mineral juga dilihat dari retensi mineral tersebut (Fairweather-Tait and Hurrell, 1996). Pengukuran retensi dilakukan untuk melihat banyaknya mineral yang dapat ditahan oleh tubuh setelah diserap.

Berdasarkan Tabel 4, total asupan kalsium pada kelompok N, KP, KEP berbeda signifikan. Perbedaan ini dikarenakan pemberian jumlah diet yang tidak sama antar kelompok. Daya serap dan retensi kalsium juga terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok. Kelompok KP dan KEP memiliki daya serap dan retensi kalsium lebih rendah dibanding kelompok N yang dapat disebabkan oleh rendahnya

kandungan protein pada kelompok KP dan KEP. Penelitian Kerstetter *et al.* (2003) menunjukkan bahwa terjadi penurunan absorpsi kalsium pada kelompok yang diberi diet rendah protein. Protein merupakan salah satu faktor yang dapat memengaruhi absorpsi kalsium. Ketika intake protein tercukupi maka terjadi peningkatan serum paratiroid hormon (PTH) yang dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi kalsitriol dalam sirkulasi, sehingga absorpsi kalsium meningkat (Kerstetter *et al.*, 2003).

Tabel 4. Total asupan kalsium, daya serap kalsium, retensi kalsium dan bioavailabilitas kalsium pada model tikus kurang gizi

Kelompok	Total asupan kalsium (mg)	Daya Serap Kalsium (%)	Retensi Kalsium (%)	Bioavailabilitas Kalsium (%)
N	3619,2 ± 579,85 ^a	66,6 ± 4,56 ^a	62,9 ± 6,47 ^a	94,2 ± 4,57
KP	2006,6 ± 259,01 ^b	49,2 ± 1,67 ^b	48,9 ± 1,58 ^b	99,3 ± 0,43
KEP	2207,7 ± 55,70 ^b	39,4 ± 6,29 ^c	38,5 ± 5,84 ^c	97,7 ± 1,23
<i>p value</i>	0,00	0,00	0,00	0,14

Keterangan : a,b) Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Total asupan kalsium pada 9 kelompok tidak berbeda nyata. Akan tetapi, daya serap, retensi, dan bioavailabilitas kalsium berbeda nyata. Daya serap dan retensi kalsium tertinggi terdapat pada kelompok KEP M2 yang diberi diet berbasis MOCAF manggu dengan inulin. Hal ini menunjukkan peran inulin sebagai prebiotik mampu meningkatkan penyerapan kalsium. Inulin dapat meningkatkan kelarutan kalsium pada lumen usus halus karena terbentuknya *short chain fatty acids* (SCFA) yang dapat menurunkan pH usus halus, sehingga terjadi peningkatan luas permukaan penyerapan dan peningkatan produksi calbindin sebagai protein transport kalsium dapat meningkatkan penyerapan kalsium pada usus besar (Roberfroid, 2007). Berbagai studi dengan menggunakan hewan coba, juga menunjukkan hasil yang serupa, bahwa inulin dapat meningkatkan absorpsi kalsium di usus (Franck, 2006). Penelitian Coudray *et al.* (2005) dengan menggunakan desain paralel pada tikus wistar jantan yang diberi pakan mengandung inulin sebesar 10% selama 40 hari mampu menunjukkan peningkatan absorpsi Ca dan Mg (Coudray *et al.*, 2005). Begitu juga dengan penelitian Demigné *et al.* (2008) menggunakan tikus jantan usia 3 bulan yang diberikan pakan yang mengandung inulin sebesar 7,5% selama 3 bulan, menunjukkan adanya peningkatan absorpsi Ca pada bulan pertama, akan tetapi efek tersebut menghilang pada bulan ke 3 (Demigné *et al.*, 2008). Jenis inulin dari umbi chicory diyakini memiliki efek yang lebih baik (Demigné *et al.*, 2008). Krupa-Kozak *et al.* (2017) meneliti efek pemberian 7% inulin dalam bentuk cairan yang dikombinasikan diet bebas gluten pada tikus jantan 4 minggu juga menunjukkan peningkatan absorpsi mineral khususnya Ca, P, Mg (Krupa-Kozak *et al.*, 2017).

Tabel 5. Total asupan kalsium, daya serap kalsium, retensi kalsium dan bioavailabilitas kalsium sesudah intervensi diet berbasis MOCAF

Kelompok	Total asupan kalsium (mg)	Daya serap kalsium (%)	Retensi kalsium (%)	Bioavailabilitas kalsium (%)
N	3634,0 ± 699,52	66,6 ± 4,56 ^c	62,94 ± 6,47 ^c	94,2 ± 4,57 ^b
KP M1	2678,1 ± 400,11	93,4 ± 1,32 ^b	93,3 ± 1,35 ^{ab}	99,9 ± 0,05 ^a
KP M2	3218,4 ± 655,98	93,3 ± 0,72 ^b	93,2 ± 0,77 ^{ab}	99,9 ± 0,06 ^a
KP T1	2570 ± 186,6	91,81 ± 0,73 ^b	91,7 ± 0,70 ^b	99,9 ± 0,02 ^a
KP T2	3108,3 ± 203,37	93,4 ± 1,74 ^b	93,4 ± 1,71 ^{ab}	99,9 ± 0,04 ^a
KEP M1	3082,2 ± 234,62	94,8 ± 0,79 ^{ab}	94,8 ± 0,77 ^{ab}	99,9 ± 0,02 ^a
KEP M2	3353,4 ± 289,17	97,47 ± 0,39 ^a	97,4 ± 0,40 ^a	99,9 ± 0,03 ^a
KEP T1	2706,2 ± 99,02	94,1 ± 0,99 ^{ab}	94,1 ± 0,99 ^{ab}	99,9 ± 0,01 ^a
KEP T2	2926,5 ± 508,55	94,4 ± 2,53 ^{ab}	94,4 ± 2,52 ^{ab}	99,9 ± 0,05 ^a
<i>p value</i>	0,09	0,00	0,00	0,00

Keterangan : a,b) Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Ada beberapa faktor yang dapat memengaruhi penyerapan kalsium di traktus gastrointestinal. Faktor yang dapat meningkatkan penyerapan kalsium, yaitu laktosa, karbohidrat, protein, dan vitamin D. Faktor-faktor yang dapat menurunkan penyerapan kalsium yaitu serat, fitat, oksalat, kation divalen yang berlebihan (Zn, Mg), dan fosfor (Bueno dan Czepielewski, 2008; Gropper *et al.*, 2008). Peningkatan ekskresi kalsium melalui urin juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti sodium dan kafein (Gropper *et al.*, 2008). Faktor-faktor yang memengaruhi penyerapan kalsium seperti karbohidrat, protein, vitamin D, serat, fitat, oksalat, dan fosfor merupakan contoh dari faktor eksternal. Selain faktor eksternal, terdapat juga faktor internal seperti hormon dan parakrin yang memengaruhi penyerapan kalsium. Mekanisme enterosit usus dalam menyerap kalsium di usus, yaitu dengan merangsang aliran kalsium paraseluler, aktivasi Ca_v 1.3, serta aktivasi NHE3. Terdapat faktor intrinsik yang menghambat penyerapan kalsium, contohnya yaitu FGF-23 dan stanniokalsin yang distimulasi oleh $1,25(OH)_2D_3$ (Wongdee *et al.*, 2019).

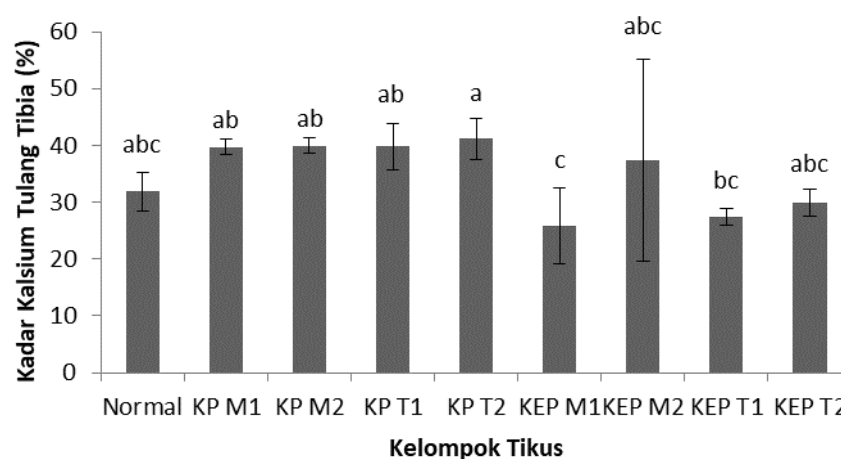
Kandungan mineral yang tinggi dalam bahan pangan tidak menjamin daya serapnya tinggi pula. Oleh karena itu, perlu dilakukan perhitungan nilai bioavailabilitas. Pada penelitian ini bioavailabilitas kalsium pada kelompok diet berbasis MOCAF hampir mencapai 100%. Hal ini menunjukkan kandungan kalsium pada produk tersebut dapat terserap dan dipergunakan dengan baik oleh tubuh. Hasil penelitian ini juga serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Syahril (2019). Penelitian Syahril menyatakan bahwa pada kelompok tikus jantan tumbuh yang diberi tepung nano daun kelor mempunyai nilai bioavailabilitas sebesar 98-99% (Syahril, 2019). Asupan dan bioavailabilitas kalsium yang mencukupi terutama pada

masa pertumbuhan, akan berpengaruh terhadap kepadatan massa tulang di masa puncaknya. Hasil serupa juga ditemukan pada penelitian Salinas *et al.* (2017) yang meneliti pemberian diet berupa roti gandum yang ditambahkan kalsium karbonat dan inulin pada tikus jantan tumbuh selama 60 hari menunjukkan peningkatan bioavailabilitas kalsium yang dilihat dari kenaikan tingkat penyerapan kalsium, kandungan mineral tulang, densitas tibia proksimal, serta volume tulang (Salinas *et al.*, 2017). Proses pemanggangan pada pembuatan roti gandum tersebut tidak memengaruhi tingkat absorpsi dan bioavailabilitas kalsium (Salinas *et al.*, 2017). Pernyataan tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan nilai absorpsi dan bioavailabilitas kalsium tetap tinggi pada diet berbasis MOCAF, walaupun pada proses pembuatan diet tersebut juga menggunakan pemanasan.

Kadar Kalsium Tulang Tibia

Sekitar 99% kalsium tubuh ditemukan pada tulang dan gigi, sementara sekitar 1% ditemukan di dalam cairan ekstrasel, seperti serum dan plasma darah. Kalsium adalah nutrisi esensial yang harus ada dalam *diet* karena tidak dapat disintesis oleh tubuh (Kılıç *et al.*, 2012). Kebutuhan kalsium pada tikus untuk pertumbuhan menurut NRC sebesar 0,5% (NRC, 1995).

Pada hasil penelitian ini terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p=0,02$). Kelompok KP yang diberi intervensi produk MOCAF memiliki kadar kalsium lebih tinggi dibanding kelompok kontrol normal. Secara detail kadar kalsium dapat dilihat pada Gambar 1. Kelompok kontrol normal memiliki kadar Ca tulang tibia sebesar $31,8 \pm 3,32$ %, KP M1 sebesar $39,72 \pm 1,38$ %, KP M2 sebesar $39,94 \pm 1,28$ %, KP T1 sebesar $39,7 \pm 4,1$ %, KP T2 sebesar $41,1 \pm 3,59$ %, KEP M1 sebesar $25,7 \pm 6,71$ %, KEP M2 sebesar $37,3 \pm 17,7$ %, KEP T1 sebesar $27,48 \pm 1,47$ %, KEP T2 sebesar $29,9 \pm 2,35$ %.



Gambar 1. Kadar kalsium tulang tibia tikus pasca intervensi diet berbasis MOCAF

Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian Syahrial yang meneliti pengaruh tepung nano daun kelor terhadap kadar kalsium tulang tibia pada tikus tumbuh jantan didapatkan rentang kadar kalsium sebesar 35-37% (Syahrial, 2019). Penelitian Triawanti *et al.* (2018) juga membuktikan hal yang sama yaitu kadar kalsium tulang yang meningkat signifikan pada tikus kurang gizi yang diberi perlakuan diet yang mengandung seluang, walaupun nilainya masih dibawah kelompok dengan diet standar (Triawanti *et al.*, 2018). Kondisi matriks tulang femur dan deposisi kadar kalsium pada tulang femur tikus umur balita dengan perlakuan tikus normal yang diberi *purified diet* (K) 37,85%; tikus kurang protein yang diberikan *purified diet* dan bubur instan yang difortifikasi *micronutrient premix* dan di-perkaya inulin (KP+I) 28,02%; tikus kurang protein yang diberikan *purified diet* dan bubur instan tanpa fortifikasi *micronutrient premix* dan tanpa pengayaan inulin (KP-I) 21,60%; tikus kurang energi protein yang diberikan *purified diet* dan bubur instan yang difortifikasi *micronutrient premix* dan diperkaya inulin (KEP+I) 23,02%; dan tikus kurang energi protein yang diberikan *purified diet* dan bubur instan tanpa fortifikasi *micronutrient premix* dan tanpa pengayaan inulin (KEP-I) 21,29%; menunjukkan bahwa terjadi peningkatan deposisi kadar kalsium pada tulang femur tikus kurang protein dan kurang energi protein yang mengonsumsi bubur instan yang diperkaya inulin (Herminiati *et al.*, 2020).

Dalam Gambar 1 dapat terlihat bahwa antara kelompok KP dan KEP kadar kalsium lebih tinggi terdapat pada kelompok tikus yang diberi diet MOCAF dengan inulin. Hal ini menunjukkan inulin dapat membantu penyerapan kalsium. Hasil penelitian Coxam menyatakan bahwa inulin tipe fruktan dapat menstimulasi penyerapan kalsium, yang berpengaruh pada fisiologi tulang (Coxam, 2005). Hasil penelitian lain juga menyatakan bahwa terlihat peningkatan kepadatan tulang dengan kadar kalsium ($28,67 \pm 1,97\%$) pada tikus defisien kalsium yang diberi diet defisien kalsium dan yogurt kering yang diperkaya inulin sebanyak 2,20%, hal ini menunjukkan telah terjadi peningkatan penyerapan kalsium dan perbaikan kondisi tulang akibat aktivitas fisiologi inulin (Herminiati *et al.*, 2020). Proses pembentukan tulang melibatkan *osteoblast* sebagai sel utama penghasil matriks tulang, *osteoblast* mengatur konsentrasi ion kalsium pada matriks melalui pelepasan kalsium dari intraseluler (Guyton dan Hall, 1996).

Kadar kalsium tertinggi terdapat pada kelompok KP T2, yang diberi diet MOCAF Mentega dengan inulin. MOCAF Mentega kaya akan beta karoten yang berfungsi sebagai antioksidan. Kandungan beta karoten pada MOCAF dari singkong mentega sebesar 5,52 mg/kg. Konsumsi beta karoten mempunyai efek positif terhadap kesehatan tulang (Regu *et al.*, 2017). Beta karoten sebagai antioksidan dapat menekan osteoklastogenesis dan resorpsi tulang dengan cara menekan jalur aktivator reseptor nuklear ligan kappa-B (Wang *et al.*, 2017)

Jika dibandingkan dengan diet MOCAF Manggu, kandungan protein dan kalsium pada diet MOCAF Mentega lebih tinggi. Bahan dasar yang digunakan yaitu MOCAF Manggu dan MOCAF Mentega, diketahui kandungan proteinnya lebih besar terdapat pada MOCAF Mentega. Hal serupa juga ditemukan pada penelitian Lestari yang menunjukkan bahwa kandungan protein MOCAF Mentega sebesar 3,4% sedangkan MOCAF Manggu sebesar 1,88%. Kandungan protein, kalsium serta beta karoten pada MOCAF Mentega yang lebih tinggi diyakini memiliki efek sinergis terhadap penyerapan kalsium dibanding MOCAF Manggu (Lestari, 2016). Walaupun kandungan protein dan beta karoten pada MOCAF manggu lebih rendah dibanding MOCAF Mentega, akan tetapi kedua jenis tersebut sudah memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dibanding bahan dasarnya, yaitu singkong (Gunawan *et al.*, 2015). Kandungan protein yang lebih tinggi dikarenakan proses pembuatan MOCAF melalui proses fermentasi yang dapat mengubah kandungan karbon dan nitrogen pada suatu bahan makanan menjadi protein oleh mikroorganisme (Hu *et al.*, 2012)

KESIMPULAN

Diet berbasis MOCAF dengan inulin secara umum mampu meningkatkan efektivitas penyerapan kalsium pada tikus kondisi kurang gizi ditandai dengan peningkatan daya serap kalsium, retensi kalsium, bioavailabilitas kalsium serta kadar kalsium tulang tibia. Berdasarkan penelitian ini, MOCAF yang diperkaya inulin dapat digunakan sebagai bahan alternatif pembuatan produk makanan pendamping untuk meningkatkan efektivitas penyerapan kalsium pada balita guna memenuhi kebutuhan gizi pada periode tumbuh kembang. Perlu penelitian lebih lanjut dengan menggunakan jumlah sampel yang lebih banyak, waktu penelitian yang lebih lama, dan juga memerhatikan komposisi pakan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program INSINAS dengan Nomor kontrak 065/P/RPL-LIPI/INSINAS/II/2019 atas dukungan dana penelitian yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, N. and Ratnawati, L. (2017) 'Quality assessment of dry noodles made from blend of mocaf flour, rice flour and corn flour', *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 101(1), pp. 1–10. doi: 10.1088/1755-1315/101/1/012021.
- Asyaifullah, K *et al.* (2015) Bioavailabilitas mineral kalsium dari tepung tempe dan tepung kedelai rebus pada tikus percobaan khalid asyaifullah. Institut Pertanian Bogor
- BSN (2005) 'SNI 01-07111.1-2005 Makanan Pendamping Air Susu Ibu (MP-ASI)-Bagian 1 : Bubur Instan', *Standar Nasional Indonesia*, pp. 1–14.
- Bueno, A. L. and Czepielewski, M. A. (2008) 'A importância do consumo dietético de cálcio e vitamina D no crescimento', *Jornal de Pediatria*, 84(5), pp. 386–394. doi: 10.2223/JPED.1816.
- Cashman, Shirley Kennefick, K. D. (2000) 'Investigation of an in vitro model for predicting the effect of food components on calcium availability from meals', *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51(1), pp. 45–54. doi: 10.1080/096374800100895.
- Chemits, T. A. of O. A. (2005) *Official Methods of Analysis*. Edited by W. Horwitz. Maryland: AOAC International.
- Coudray, C. *et al.* (2005) 'Stimulatory effect of inulin on intestinal absorption of calcium and magnesium in rats is modulated by dietary calcium intakes: Short- and long-term balance studies', *European Journal of Nutrition*, 44(5), pp. 293–302. doi: 10.1007/s00394-004-0526-7.
- Coxam, V. (2005) 'Inulin-type fructans and bone health: state of the art and perspectives in the management of osteoporosis', *British Journal of Nutrition*. Cambridge University Press (CUP), 93(S1), pp. S111–S123. doi: 10.1079/bjn20041341.
- Demigné, C. *et al.* (2008) 'Comparison of native or reformulated chicory fructans, or non-purified chicory, on rat cecal fermentation and mineral metabolism', *European Journal of Nutrition*, 47(7), pp. 366–374. doi: 10.1007/s00394-008-0736-5.
- Dendougui, F. and Schwedt, G. (2004) 'In vitro analysis of binding capacities of calcium to phytic acid in different food samples', *European Food Research and Technology*, 219(4), pp. 409–415. doi: 10.1007/s00217-004-0912-7.
- Fairweather-Tait, S. and Hurrell, R. F. (1996) 'Bioavailability of Minerals and Trace Elements', *Nutrition Research Reviews*, 9(1), pp. 295–324. doi: 10.1079/NRR19960016.
- Fathoni, A., Hartati, N. S. and Mayasti, N. K. I. (2016) 'Minimalisasi Penurunan Kadar Beta-Karoten dan Protein dalam Proses Produksi Tepung Ubi Kayu', *Pangan*, 25(2), pp. 113–124.
- Franck, A. (2006) 'Oligofructose-enriched inulin stimulates calcium absorption and bone mineralisation', *Nutrition Bulletin*, 31(4), pp. 341–345. doi: 10.1111/j.1467-3010.2006.00584.x.

- Gropper, S. S., Smith, J. L. and Groff, J. L. (2008) *Advanced Nutrition and Human Metabolism, Fifth Edition*. 5th edn. USA: Wadsworth Cengage Learning. doi: 10.1111/j.1753-4887.1997.tb01621.x.
- Guéguen, L. and Pointillart, A. (2000) 'The Bioavailability of Dietary Calcium', *Journal of the American College of Nutrition*, 19(2), pp. 119S-136S. doi: 10.1080/07315724.2000.10718083.
- Gunawan, S. *et al.* (2015) 'Effect of fermenting cassava with *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Rhizopus oryzae* on the chemical composition of their flour', *International Food Research Journal*, 22(3), pp. 1280–1287.
- Guyton, A. C. and Hall, J. E. (1996) *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit (Human Physiology and Mechanism of Disease)*. 3rd edn. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Hardiansyah, A., Hardinsyah, H. and Sukandar, D. (2017) 'Kesesuaian Konsumsi Pangan Anak Indonesia Dengan Pedoman Gizi Seimbang', *Nutri-Sains: Jurnal Gizi, Pangan dan Aplikasinya*, 1(2), p. 35. doi: 10.21580/ns.2017.1.2.2452.
- Herminiati, A. *et al.* (2019) 'Formulasi Bubur Instan sebagai Makanan Pendamping Air Susu Ibu (MP-ASI) Berbahan Dasar Mocaf'. Indonesia.
- Herminiati, A., Kristanti, D., *et al.* (2020) 'Characteristics of inulin-enriched instant porridge and its effectiveness to increase calcium absorption in infant rat models', *Current Research in Nutrition and Food Science*, 8(1), pp. 256–267. doi: 10.12944/CRNFSJ.8.1.24.
- Herminiati, A., Rimbawan, R., *et al.* (2020) 'The application and effectiveness of Difructose Anhydride III to increase absorption of calcium in calcium-deficient rats', 10(4), pp. 168–179.
- van den Heuvel, E. G. H. M., Schoterman, M. H. C. and Muijs, T. (2000) 'Transgalactooligosaccharides Stimulate Calcium Absorption in Postmenopausal Women', *The Journal of Nutrition*, 130(12), pp. 2938–2942. doi: 10.1093/jn/130.12.2938.
- Hu, C. C., Liu, L. Y. and Yang, S. S. (2012) 'Protein enrichment, cellulase production and in vitro digestion improvement of pangolagrass with solid state fermentation', *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 45(1), pp. 7–14. doi: 10.1016/j.jmii.2011.09.022.
- Hutagalung, H. *et al.* (2007) *Ilmu Gizi Dasar*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Kementerian Kesehatan RI (2019) 'Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Indonesia tahun 2018', *Riset Kesehatan Dasar 2018*, pp. 182–183.
- Kerstetter, J. E., O'Brien, K. O. and Insogna, K. L. (2003) 'Dietary protein, calcium metabolism, and skeletal homeostasis revisited', *American Journal of Clinical Nutrition*, 78(3 SUPPL.), pp. 584–592. doi: 10.1093/ajcn/78.3.584s.
- Kılıç, A. *et al.* (2012) 'Are There any Toxic Effects of Food Additive Tricalcium Phosphate on Pregnant Rats and', 40(2), pp. 171–181.
- Krupa-Kozak, U. *et al.* (2017) 'Administration of inulin-supplemented gluten-free diet modified calcium absorption and caecal microbiota in rats in a calcium-

- dependent manner', *Nutrients*, 9(7). doi: 10.3390/nu9070702.
- Lestari, S. (2016) 'Prosiding seminar nasional agroinovasi spesifik lokasi untuk ketahanan pangan pada era masyarakat ekonomi ASEAN ; analisis daya saing lada hitam di kabupaten Lampung Timur', pp. 165–173.
- Miller, G. D., Jarvis, J. K. and McBean, L. D. (2001) 'The Importance of Meeting Calcium Needs with Foods', *Journal of the American College of Nutrition*, 20(2), pp. 168S-185S. doi: 10.1080/07315724.2001.10719029.
- Nutrition, A. and Agriculture, B. (1995) *Nutrient Requirements of Laboratory*. National Academies Press. doi: 10.17226/4758.
- Regu, G. M. *et al.* (2017) 'Association between dietary carotenoid intake and bone mineral density in Korean adults aged 30–75 years using data from the fourth and fifth korean national health and nutrition examination surveys (2008–2011)', *Nutrients*, 9(9). doi: 10.3390/nu9091025.
- Roberfroid, M. B. (2007) 'Inulin-Type Fructans : Functional', (5), pp. 2493–2502.
- Saito, K. *et al.* (2010) 'Effect of mild restriction of food intake on gene expression profile in the liver of young rats: Reference data for in vivo nutrigenomics study', *British Journal of Nutrition*, 104(7), pp. 941–950. doi: 10.1017/S0007114510001625.
- Salinas, M. V. *et al.* (2017) 'Calcium–inulin wheat bread: prebiotic effect and bone mineralisation in growing rats', *International Journal of Food Science and Technology*, 52(11), pp. 2463–2470. doi: 10.1111/ijfs.13531.
- Syahrial (2019) *Pengaruh Pemberian Nano Daun Kelor (Moringa oleifera) Terhadap Kadar Mineral Serum Darah dan Tulang pada Tikus Jantan Tumbuh dan Betina yang Diovariectomi*. Institut Pertanian Bogor.
- Theobald, H. (2005) 'Dietary calcium and health', *Nutrition Bulletin*, 30(3), pp. 237–277. doi: 10.1111/j.1467-3010.2005.00514.x.
- Triawanti *et al.* (2018) 'Nutritional status improvement in Malnourished rat (*Rattus norvegicus*) after Seluang fish (*Rasbora* spp.) treatment', *Current Research in Nutrition and Food Science*, 6(1), pp. 127–134. doi: 10.12944/CRNFSJ.6.1.14.
- UNICEF, WHO and Group, W. B. (2019) *Levels and trends in child malnutrition: Key Findings of the 2019 Edition of the Joint Child Malnutrition Estimates*, WHO. Geneva. doi: 10.18356/6ef1e09a-en.
- Wang, F. *et al.* (2017) 'β-Carotene suppresses osteoclastogenesis and bone resorption by suppressing NF-κB signaling pathway', *Life Sciences*. Elsevier Inc, 174, pp. 15–20. doi: 10.1016/j.lfs.2017.03.002.
- WHO (2014) *Stunting Policy Brief, WHO Global Nutrition Target*.
- Wongdee, K. *et al.* (2019) 'Factors inhibiting intestinal calcium absorption: hormones and luminal factors that prevent excessive calcium uptake', *Journal of Physiological Sciences*. Springer Japan, 69(5), pp. 683–696. doi: 10.1007/s12576-019-00688-3.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)