

Pengaruh Pemberian *Purified Diet* Defisien Kalsium yang Disuplementasi dengan Inulin terhadap Neraca Kalsium *Spraguedawley (Rattus Norvegicus)* (The Effect of Calcium-Deficient Purified Diet Supplemented with Inulin on Calcium Balance in Spraguedawley's White Rats (*Rattus Norvegicus*))

Nurhayu^{1*}, Dewi Apri Astuti², Sri Suharti²

¹Fakultas Peternakan Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Bumi Tridarma Andonohu Jl. H.E.A. Mokodompit, Kendari, Sulawesi Tenggara, Indonesia 93232

²Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680

*Corresponding author: nurnurhayu@uho.ac.id

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi neraca kalsium dan efek suplementasi inulin pada tikus putih (*Sparague dawley*) yang diberi *purified diet* defisien kalsium tanpa atau dengan inulin. Penelitian ini menggunakan 12 ekor tikus putih betina (*Sprague dawley*) berumur lebih dari 15 bulan yang dipelihara selama 2 bulan. Rancangan penelitian menggunakan RAL dengan 3 perlakuan dan 4 ulangan. 1) K = *purified diet* kontrol, 2) DK = *purified diet* defisien kalsium dan 3) I = *Purified diet* defisien kalsium yang disuplementasi dengan 2.20% inulin. Setiap pagi sisa diet ditimbang. Dalam menghitung konsumsi bahan kering dan neraca kalsium, darah dan feses dikoleksi 5 hari sebelum akhir pemeliharaan. Kalsium plasma dianalisis dengan menggunakan kit O-C FAST®. Konsentrasi kalsium difeses, tulang femur, hati dan ginjal dianalisis dengan menggunakan metode pengabuan basah dan dibaca dengan menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsumsi bahan kering, pertambahan bobot badan harian, kalsium di tulang femur, ginjal dan hati tidak berbeda nyata diantara masing-masing perlakuan. Konsumsi kalsium, kalsium di feses dan kalsium plasma perlakuan kontrol secara signifikan lebih tinggi ($P < 0.01$) dibandingkan perlakuan *purified diet* defisien kalsium. Suplementasi 2.20% inulin pada *purified diet* defisien kalsium dapat meningkatkan penyerapan kalsium dan retensi kalsium di tulang femur sekitar 11.35%.

Kata kunci: inulin, neraca kalsium dan tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Abstract. This study was aimed to evaluate calcium balance and effect of inulin supplementation on white rats (*Sparague dawley*) fed purified diet deficiency calcium with or without inulin. This study used 12 female white rats (*Sprague dawley*) aged more than 15 months were maintained over 2 months. The study using Completely Randomized design with 3 treatments and 4 replications. 1) control purified diet, 2) calcium deficiency purified diet, and 3) calcium deficiency purified diet supplemented with inulin. Treatment was conducted for 2 months, and every morning feeds residual were weighed. To evaluate dry matter digestibility and calcium balance, blood and feces was sampled for five days prior to the end of the experiment. Plasma calcium was analyzed using O-C FAST® kit. Calcium concentrations in feces, femur bone, liver and kidney were analyzed using wet ashing method and read using AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*). The results showed that dry matter intake, daily body weight gain, calcium of femur bone, kidney and liver were not significantly different among the treatments. Calcium intake, calcium in the feces and calcium in the plasma of control treatment significantly higher ($P < 0.01$) than in calcium deficiency purified diet. Supplementation 2.20% of inulin on calcium deficiency purified diet able to increase the calcium absorption and there is an increasing of calcium retention in bone about 11.35%.

Keywords: inulin, calcium balance, *Rattus norvegicus*

1. Pendahuluan

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) termasuk hewan menyusui (kelas mamalia) yang mempunyai peranan penting dalam kehidupan manusia karena penggunaannya sebagai hewan model di laboratorium. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan coba/hewan model karena mempunyai respon yang cepat serta dapat memberikan gambaran secara ilmiah, yang mungkin terjadi pada manusia maupun hewan lain [1]. Salah satu cara untuk membuat hewan model defisien kalsium yaitu dengan mengatur kadar kalsium pada ransumnya. Hewan model yang defisiensi kalsium merupakan hewan model yang kekurangan kalsium dalam tubuhnya atau secara fisiologis mengalami penurunan sebanyak 10% dibawah normalnya kadar kalsium plasma [2]. Kadar kalsium normal pada tikus berkisar antara 11-13 mg/dl [3]. Defisiensi kalsium akan menyebabkan ketidaknormalan pada tulang seperti riketsia dan osteoporosis [4].

Inulin merupakan suatu polisakarida yang terdapat pada berbagai tanaman yang termasuk family *Kompositae* dan *Graninae*. Inulin pertama kali diisolasi dari tanaman *Inula helenium*. Senyawa ini juga ditemukan dalam umbi tanaman *chicory*, *dandelion* dan *artichoke* [5]. Inulin juga dapat diperoleh dari bawang merah, bawang daun, bawang putih, asparagus, pisang, gandum dan barley, serta dapat diekstraksi dari umbi dahlia [6]. Salah satu fungsi inulin adalah mengurangi resiko osteoporosis dengan carameningkatkan absorpsi kalsium di darah [7]. Menurut penelitian penggunaan inulin pada hewan model tikus putih adalah 3.75% dengan menggunakan semi *purified diet* untuk melihat efektifitas penyerapannya terhadap mineral Zn dan Cu [8]. Dalam penelitian ini, dosis inulin diturunkan menjadi 2.20% dengan menggunakan *purified diet* untuk melihat efektifitasnya terhadap penyerapan mineral Ca.

Pakan atau ransum dikategorikan normal jika pakan itu telah memenuhi kebutuhan nutrisi bagi hewan atau ternak yang mengkonsumsi. Kebutuhan kalsium pada tubuh hewan tikus normal sebesar 0.5% [9]. Pada kondisi ransum tikus kekurangan kalsium, maka perlu dilakukan suplementasi dengan senyawa yang dapat meningkatkan penyerapan kalsium. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa inulin dapat meningkatkan serapan dan deposisi kalsium pada tulang hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) [10]. Lebih lanjut inulin juga dapat menurunkan pH usus karena produksi SCFA (*Short Chain Fatty Acid*) meningkat terutama propionat dan asetat pada tingkat yang lebih rendah serta butirir dan asam laktat pada tingkat yang lebih tinggi, sehingga kalsium diserap dalam lumen usus.

Dalam penelitian ini digunakan formula *purified diet*. *Purified diet* adalah pakan yang diformulasikan dari bahan baku pilihan yang jumlahnya terbatas [9]. Formula tersebut disusun dari bahan-bahan baku yang murni dan kualitasnya lebih konstan. Bahan baku yang digunakan seperti kasein, kedelai, gula, pati, minyak sayur, CMC(*Carboxymethylcellulose*), vitamin, dan garam. Kandungan nutrisi pada *purified diet* biasanya tidak bervariasi dan lebih mudah dikontrol dari pada bahan baku konvensional. Diet ini dapat dibuat secara khusus untuk menghasilkan diet model yang defisiensi terhadap salah satu nutrisi (makro atau mikro). Berdasarkan latar belakang tersebut diatas maka dilakukan penelitian Pengaruh pemberian *purified diet* defisien kalsium yang disuplementasi dengan inulin terhadap absorpsi kalsium tikus putih *spraguedawley* (*rattus norvegicus*).

2. Metode Penelitian

2.1. Materi Penelitian

2.1.1. Bahan

Purified diet yang digunakan terdiri atas kasein, glukosa, pati beras, minyak jagung, dl-methionin, CMC, vitamin mix, mineral mix, mineral mix tanpa kalsium dan inulin. Perlakuan diet adalah sebagai berikut; kontrol (K) mengandung 0.60%kalsium, diet defisien kalsium (DK) mengandung 0.40%kalsium dan diet defisien kalsium yang disuplementasi inulin (I) mengandung 0.40%kalsium dan 2.20% inulin. Penggunaan 2.20% inulin adalah berdasarkan penelitian Coudray 2006 bahwa dosis penggunaan inulin adalah 3.75% untuk menganalisis penyerapan Zn dan Cu sedangkan dalam penelitian ini dosisnya

diturunkan menjadi 2.20% untuk analisis penyerapan mineral Ca. Komposisi *purified diet*, mineral mix disajikan pada Tabel 1 dan 2 sedangkan hasil analisis proksimat *purified diet* disajikan pada Tabel 3.

2.1.2. Alat

Peralatan yang digunakan adalah kandang individu yang terbuat dari kotak plastik dan diberi alas sekam, tempat minum dan pakan. Timbangan kapasitas 5000 g, mixer dan blender. Analisis kadar kalsium serum menggunakan *reagen* kit kalsium O-C FAST® dan spektrofotometer UV-Vis, sedangkan analisis kadar kalsium pada pakan, tulang dan feses menggunakan *atomic absorption Spectrophotometer* (AAS) Shimadzu AA-6300.

Tabel 1. Komposisi *purified diet* tikus

Bahan Pakan	K (%)	DK (%)	I (%)
Tepung beras	25.00	25.00	25.00
Kasein	18.00	18.00	16.30
Minyak Jagung	3.50	3.50	3.00
Glukosa	49.00	49.00	49.00
DL-Methionine	0.30	0.30	0.30
CMC	3.00	3.00	3.00
(Carboxymethylcellulose)			
Mneral (tanpa kalsium)*	0.00	0.50	0.50
Mineral (berkalsium)	0.50	0.00	0.00
Campuran Vitamin	0.50	0.50	0.50
Inulin	0.00	0.00	2.20
Garam	0.20	0.20	0.20

*mineral mix yang disusun khusus

K= *purified diet* kontrol; DK= *purified diet* defisien kalsium; I= *purified diet* defisien kalsium yang mengandung inulin.

Tabel 2. Komposisi mineral mix

Mineral Mix Kontrol		Mineral Mix Defisien Kalsium	
Senyawa	g	Senyawa	g
NaCl	0.697000	NaCl	0.697000
KH ₂ PO ₄	1.945000	KH ₂ PO ₄	1.945000
MgSO ₄	0.287000	MgSO ₄	0.287000
CaCO₃	1.907000	*Tepung Maizena/ filler	1.907000
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.135000	FeSO ₄ .7H ₂ O	0.135000
MnSO ₄ .H ₂ O	0.020000	MnSO ₄ .H ₂ O	0.020000
K.I	0.004000	K.I	0.004000
ZnSO ₄ .JH ₂ O	0.003000	ZnSO ₄ .JH ₂ O	0.003000
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.002000	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.002000
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.000115	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.000115
Total	5.000000		5.000000

*tepung maizena: kandungan kalsiumnya 10 mg/100 [11]

Tabel 3. Hasil analisis proksimat *purified diet* penelitian (%BK)

Analisis Nutrien	K (%)	DK (%)	I (%)
Bahan kering	76.89	77.31	79.30
Protein Kasar	17.78	17.90	17.01
Serat Kasar	0.44	0.49	0.49
Lemak Kasar	3.11	3.07	2.78
Kalsium	0.60	0.40	0.40

2.2. Prosedur Percobaan

2.2.1. Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan selama 2bulan dengan masa adaptasi terhadap perlakuan diet baru dilakukan selama 7 hari. Pemberian pakan dilakukan dua kali sehari yaitu pagi hari pukul 08.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB. Pencampuran diet dilakukan setiap sepuluh hari sekali agar tidak ada bahan yang rusak, sedangkan pembuatan pasta (*diet* dengan kandungan 20% air) dilakukan setiap hari sebelum pemberian diet pagi dan sore hari. Pemberian diet sebanyak 15 g/e/h. Penimbangan sisa dilakukan setiap hari sebelum pemberian *diet* pagi, sedangkan pengambilan sampel feses dan darah dilakukan pada 5 hari sebelum akhir penelitian. Sampel tulang, hati dan ginjal diperoleh setelah hewan dimatikan.

2.2.2. Koleksi Sampel

Konsumsi dihitung setiap hari dengan cara menimbang diet yang diberikan dikurangi sisa diet (g/e/h). **Total koleksi feses** dilakukan pagi hari sebelum waktu pemberian *diet* selama 5 hari di akhir pemeliharaan. **Pengambilan darah** dilakukan pada akhir pemeliharaan dengan menggunakan metode *cardiac puncture* atau pengambilan darah langsung di bagian jantung. Darah diambil kurang lebih 1 ml dan dimasukkan ke tabung berheparin sebagai antikoagulan untuk selanjutnya disentrifuge untuk didapatkan sampel plasma.

2.3. Analisis Sampel

2.3.1. Purified Diet

Tiga jenis *purified diet* perlakuan dianalisis proksimat meliputi bahan kering, protein kasar, lemak kasar, serat kasar dan kalsium mengikuti prosedur standar [11].

2.3.2. Feses

Pada preparat pengabuan basah, sampel feses dikeringkan di oven 60°C lalu ditimbang dan dihaluskan menggunakan mortar. Sebanyak 1 g sampel lalu dimasukkan ke cawan porselin dan dikeringkan dengan oven 105°C selama ± 24 jam. Sampel didinginkan dalam eksikator selama ± 15 menit lalu ditimbang berikut cawan untuk selanjutnya dilakukan pengabuan basah untuk analisis kadar kalsium.

2.4. Pengabuan Basah

Sampel *purified diet*, feses, tulang, hati dan ginjal, ditimbang sebanyak masing-masing 1 g, kemudian ditambahkan 5 ml HNO₃ dan didiamkan selama 1 jam pada suhu ruang di ruang asam. Sampel dipanaskan diatas *hot plate* dengan temperatur rendah selama 4-6 jam (dalam ruang asam), kemudian didiamkan semalam (sampel ditutup). Sampel tersebut ditambahkan 0.4 ml H₂SO₄ (p), lalu dipanaskan diatas *hot plate* sampai larutan berkurang dan lebih pekat (biasanya ± 1 jam), lalu ditambahkan 2-3 tetes larutan campuran HClO₄ : HNO₃ (2:1). Sampel masih tetap diatas *hot plate* dan pemanasan terus dilanjutkan sampai terjadi perubahan warna dari coklat menjadi kuning tua kemudian menjadi kuning muda (± 1 jam). Setelah ada perubahan warna, pemanasan masih dilanjutkan selama 10-15 menit, kemudian sampel dipindahkan untuk didinginkan dan ditambahkan 2 ml aquades dan 0.6 ml HCl (p). Sampel dipanaskan kembali agar larut (± 15 menit) lalu dimasukkan dalam labu takar 100 ml. Endapan yang terbentuk disaring dengan

kertas saring kemudian dibaca menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*) untuk diketahui konsentrasi kalsiumnya [12].

2.5. Analisis Kalsium Plasma

Sampel plasma darah dianalisis menggunakan kit O-C FAST®, blanko dan standard sebanyak 10µl dimasukkan ke tabung reaksi, ditambahkan 1000 µl pelarut 1 calcium, lalu *divortex* selama 10 detik dan diinkubasi selama 5 menit, lalu ditambahkan 250 µl pelarut kedua yang mengandung ethanolamine dan C-Corrosive kemudiandivortex kembali selama 10 detik lalu diinkubasi selama 10 menit. Sampel dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 570-580 nm.

2.6. Variabel yang diamati

Peubah yang diamati adalah konsumsi bahankering, konsumsi kalsium, kadar kalsium feses, absorpsi kalsium, kadar kalsium plasma.

Konsumsi Bahan Kering (BK), dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Konsumsi BK (g/e/h)} = (\text{Ransum yang diberikan} - \text{Sisa ransum}) \times [\text{BK}]$$

Konsumsi Kalsium, dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Konsumsi Ca (g/e/h)} = \text{Konsumsi BK} \times [\text{Ca}]$$

Absorpsi Kalsium, dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Absorpsi kalsium (\%)} = \frac{\sum \text{konsumsi kalsium} - \sum \text{kalsium feses yang diekskresikan}}{\sum \text{konsumsi kalsium}} \times 100\%$$

Kalsium Plasma, dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kalsium plasma mg/dl (\%)} = \frac{\text{Absorpsi sampel}}{\text{Absorpsi standar}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

3. Hasil dan Pembahasan

Konsumsi bahan kering tikus putih yang diberi *purified diet* dengan kebutuhan kalsium standar dan defisien, dengan dan tanpa inulin tidak berbeda nyata (Tabel 4).

Tabel 4. Neraca kalsium tikus putih yang diberi *purified diet* dengan kebutuhan kalsium standar dan defisien dengan dan tanpa inulin

Peubah	Perlakuan		
	K	DK	I
Konsumsi <i>As fed</i> (g/e/h)	10.821 ± 0.432	10.446 ± 2.055	12.538 ± 1.458
Konsumsi Bahan Kering (g/e/h)	8.320 ± 0.330	8.08 ± 1.590	9.940 ± 1.160
Konsumsi Kalsium (g/e/h)	0.050 ± 0.001 ^a	0.030 ± 0.006 ^c	0.040 ± 0.005 ^b
Kalsium di feses (g/e/h)	0.009 ± 0.004 ^a	0.002 ± 0.001 ^b	0.003 ± 0.002 ^b
Absorpsi Kalsium (g/e/h)	0.041 ± 0.005 ^a	0.029 ± 0.007 ^b	0.037 ± 0.006 ^{ab}
Absorpsi kalsium (%)	82.700 ± 7.330 ^b	92.240 ± 4.580 ^a	92.550 ± 4.790 ^a
Kalsium plasma (mg.dl)	12.100 ± 0.90 ^a	9.100 ± 0.600 ^b	8.300 ± 0.800 ^b

K= *Purified diet* kontrol; DK= *Purified diet* defisien kalsium; I= *Purified diet* defisien kalsium yang mengandung inulin. Superskrip yang berbeda (huruf besar) pada baris yang sama menyatakan berbeda sangat nyata (P<0.01) dan huruf kecil menunjukkan beda nyata (P<0.05)

3.1. Konsumsi Bahan Kering

Konsumsi bahan kering pada masing-masing perlakuan menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata (Tabel 4). Konsumsi bahan kering *diet* perlakuan kontrol serta defisien kalsium tanpa dan dengan suplementasi inulin $\pm 3.4\%$ - 3.5% dari bobot badan. Ketidakseimbangan nutrisi pakan akan mempengaruhi konsumsi [13]. Menurut NRC Laboratory Animals konsumsi harian tikus adalah 15 g/e/h untuk tikus tua atau afkir [9]. Konsumsi rata-rata semua perlakuan adalah 10.446 -12.538 g/e/h *as fed* atau 8.080 - 9.940 g/e/h BK, angka ini menunjukkan data yang lebih rendah dibandingkan dengan standar NRC. Hal ini terjadi karena pemberian *diet* dalam bentuk pasta (kadar air tinggi) sehingga menyebabkan rendahnya konsumsi bahan kering. Suhu kandang juga mempengaruhi konsumsi, rata-rata suhu kandang saat penelitian yaitu adalah 28.5 °C lebih tinggi dari suhu nyaman sehingga mengakibatkan konsumsi menurun. Suhu ideal kandang yaitu 20-26 °C [14].

3.2. Konsumsi Kalsium

Konsumsi kalsium pada perlakuan kontrol nyata lebih tinggi ($P<0.05$) dibandingkan perlakuan *purified diet* yang defisien kalsium baik dengan atau tanpa suplementasi inulin, namun suplementasi inulin sebesar 2.20% mampu meningkatkan ($P<0.05$) konsumsi kalsium pada *purified diet* yang defisien kalsium (Tabel 4). Konsumsi kalsium pada tikus normal adalah 0.8489 g/e/h [15]. Konsumsi *diet* mempengaruhi konsumsi kalsium tikus [16], hal ini sejalan dengan hasil yang didapatkan dalam penelitian ini bahwa konsumsi *diet* pada perlakuan diet defisien kalsium yang disuplementasi dengan inulin lebih tinggi sehingga memberikan peluang kalsium yang terkonsumsi semakin banyak.

3.3. Kalsium di Feses

Kalsium difeses perlakuan kontrol sangat nyata lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan defisien kalsium baik dengan atau tanpa penambahan inulin ($P<0.01$), sementara itu diet defisien kalsium tidak berbeda nyata dengan yang disuplementasi inulin 2.20% (Tabel 4). Terjadi penyerapan kalsium yang cukup baik pada perlakuan *purified diet* defisien kalsium baik yang disuplementasi dengan inulin maupun tidak. Kalsium feses pada tikus normal sebesar 0.3157 g/e/h [15]. Kalsium feses yang didapatkan berdasarkan hasil penelitian jauh lebih kecil (10 kali) dibandingkan dengan penelitian lain. Hal ini diduga dipengaruhi oleh konsumsi kalsium yang juga lebih rendah. Konsumsi *diet* yang mempengaruhi konsumsi kalsium, berdampak pada jumlah kalsium yang terbuang melalui feses. Salah satu faktor yang mempengaruhi penyerapan kalsium adalah kandungan fosfor dan magnesium dalam ransum serta makanan [16]. Rasio konsumsi kalsium fosfor yang dianjurkan agar dapat dimanfaatkan secara optimal adalah 1:1 [17]. Rasio kalsium dan pospor pada *diet* penelitian ini adalah 2:1.

3.4. Absorpsi Kalsium

Presentase absorpsi kalsium pada perlakuan *purified diet* defisien kalsium dengan dan tanpa suplementasi inulin nyata lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan Kontrol ($P<0.05$), namun antara *purified diet* defisien kalsium dan *purified diet* defisien kalsium dengan penambahan inulin 2.20% menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata (Tabel 4). Kondisi rendahnya asupan kalsium berdampak pada rendahnya ekskresi kalsium difeses. Absorpsi kalsium pada tikus adalah 63.32% [15]. Angka ini lebih rendah dibandingkan dengan hasil yang diperoleh pada perlakuan ini yaitu 82.7%. Faktor-faktor yang mempengaruhi absorpsi kalsium yaitu jumlah kalsium yang dikonsumsi, mineral Mg dan vitamin D serta aktivitas fisik, rasio kalsium dan fosfor serta hormon paratiroid [16]. Vitamin D meningkatkan absorpsi pada mukosa usus dengan cara merangsang produksi-protein pengikat kalsium, aktivitas fisik berpengaruh baik terhadap absorpsi kalsium [18]. Rasio konsumsi kalsium fosfor agar dapat dimanfaatkan secara optimal dianjurkan adalah 1:1 dalam makanan [17]. Konsumsi fosfor yang lebih tinggi dapat menghambat absorpsi kalsium karena fosfor dalam suasana basa membentuk kalsium fosfat yang tidak larut air [19]. Rasio kalsium fosfor pada penelitian ini adalah 2:1. Proses homeostasis kalsium terjadi pada tikus yang diberi *diet* defisien kalsium tanpa dan dengan disuplementasi inulin. Pada kondisi defisien

kalsium, secara fisiologi hewan akan melakukan absorpsi nutrisi secara optimal sehingga mampu meningkatkan penyerapan.

Inulin tidak dapat dihidrolisis oleh enzim pencernaan, inulin masuk melalui mulut menuju lambung dan usus halus tanpa mengalami perubahan yang berarti dan tanpa dimetabolisme [6]. Mekanisme inulin dalam meningkatkan penyerapan kalsium yaitu melalui fungsi inulin sebagai prebiotik yang merupakan makanan bagi bakteri bifidobacteria dan lactobacili yang dapat memproduksi SCFAs (*Short Chain Fatty Acid*) yang meliputi propionat, butirat dan asetat serta asam organik lain seperti laktat. Asam laktat dapat membuat pH usus menjadi asam, kondisi pH yang asam ini dapat membuat ion kalsium menjadi lebih mudah larut sehingga mampu meningkatkan penyerapan kalsium. Butirat merupakan substrat untuk pertumbuhan sel epitel kolon dan proliferasi yang menyebabkan pembesaran daerah serap usus sehingga absorpsi kalsium meningkat, disamping itu peningkatan produksi butirat mampu merangsang vitamin D untuk meningkatkan kalbindin. Peningkatan kalbindin berkorelasi positif terhadap peningkatan serapan kalsium [10].

3.5. Kalsium Plasma

Kalsium plasma pada perlakuan *purified diet* kontrol sangat nyata lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan *purified diet* defisien kalsium dengan dan tanpa suplementasi inulin ($P < 0.01$). Penambahan inulin sebesar 2.20% pada diet defisien kalsium belum mampu meningkatkan kalsium di plasma (Tabel 4). Kadar kalsium di plasma sangat dipengaruhi oleh jumlah serapan. Semakin tinggi serapan kalsium di organ maka semakin turun kadar kalsium di plasma. Kadar kalsium normal dalam plasma tikus galur *Sprague dawley* betina berkisar antara 9.2-10.4 mg/dl [20], sedangkan menurut kalsium di plasma adalah 13 mg/dl, jauh lebih tinggi dibandingkan dengan yang diperoleh pada penelitian ini [21]. Pada perlakuan defisien kalsium dengan dan tanpa inulin yang menunjukkan ekskresi kalsium yang rendah. Hal ini terjadi karena kerja hormon paratiroid yang dalam keadaan tubuh defisien kalsium, merangsang kelenjar paratiroid untuk terus memproduksi hormonnya. Untuk mempertahankan konsentrasi kalsium darah dalam kisaran normal, sistem homeostasis hormon paratiroid bekerja pada ginjal untuk meningkatkan reabsorpsi kalsium dan menurunkan absorpsi fosfat yang ditandai oleh turunnya ekskresi kalsium [22].

Fungsi homeostasis kalsium dalam tubuh, kalsium masuk dan diserap di dalam usus secara aktif dan pasif. Pada penyerapan aktif ada peranan Vitamin D dalam hormon kalsitriol untuk membantu penyerapan. Vitamin D merangsang absorpsi kalsium melalui langkah-langkah kompleks. Vitamin D meningkatkan absorpsi pada mukosa usus dengan cara merangsang produksi-protein pengikat kalsium. Absorpsi kalsium paling baik terjadi dalam keadaan asam. Asam klorida yang dikeluarkan lambung membantu absorpsi kalsium dengan cara menurunkan pH di bagian atas duodenum. Asam amino tertentu meningkatkan pH saluran cerna, dengan demikian membantu absorpsi [23]. Kalsium yang diserap akan dibawa ke dalam darah. Dalam plasma darah kadar kalsium akan selalu konstan. Apabila kadar kalsium plasma tinggi, maka kelebihan akan dideposisi ke dalam tulang dan ginjal dengan bantuan hormon kalsitonin, sedangkan apabila kadar kalsium plasma menurun, akan mereabsorpsi kalsium yang terdapat pada tulang dan ginjal dengan bantuan hormon paratiroid dan kalsitriol [24]. Hal ini terjadi pada penelitian perlakuan *purified diet* defisien kalsium dengan dan tanpa suplementasi inulin yang menunjukkan tingginya persentase penyerapan kalsium di tulang (Tabel 5).

4. Kesimpulan

Suplementasi 2.20% inulin pada *purified diet* defisien kalsium belum efektif meningkatkan absorpsi kalsium dan ada peningkatan retensi kalsium di tulang femur sekitar 11.35% serta belum mampu meningkatkan kalsium di plasma.

5. Daftar Pustaka

- [1] Swastiko P. 2020. Tikus Sangat Menguasai Permukaan Bumi Setelah Manusia. Institut Pertanian Bogor: Jakarta.
- [2] Sukandar EY, Andrajati R, Sigit JI, Adnyana IK, Setiadi AAP dan Kusnandar. 2008. Isofarmakoterapi. PT. ISFI Penerbitan. (ID): Jakarta ;723.
- [3] Zobda PR. 2013. Pengaruh tepung tulang ikan tuna madidihang (*thunnus albacares*) terhadap kadar kalsium dan fosfor dalam darah tikus putih (*Rattus novergicus*) model ovariektomi. *Journal Veteriner*;2-3.
- [4] Dewi IR. 2023. Kekurangan kalsium menyebabkan osteoporosis. *Jurnal Kebidanan Besurek*. 8(2):9-14.
- [5] Qin YQ, Wang LY, Yang XY, Xu YJ, Fan G, Fan YG, Ren JN, An Q and Li Q. 2023. Inulin: properties and health benefits. *Food and Function*. 2023;14:2948-2968.
- [6] Sunarti, Chrismis NG dan Sahn FG. 2022. Narative review: Potensi inulin umbi dahlia sebagai anti diabetes. *Jurnal Keperawatan Priority*. 5(1):53-65.
- [7] Nadia A, Mirza HSTP dan Emy H. 2018. Pengembangan Produk Susu yang Mengandung Kalsium, Inulin, dan Teripang sebagai Susu Kaya Prebiotik dan Kolagen. *Agritech*, 38(4):442-449.
- [8] Coudray C, Christine FC, Elyett G, Andrzej M and Yves R. 2006. Dietary inulin intake and age can affect kintestinal absorption of zinc and copper in rats. *J Nutr*. 136(1):117-22. doi: 10.1093/jn/136.1.117.
- [9] National Research Council (NRC). 1995. Nutrient Requirements of Laboratory Animals. Washington. National Academy Pr.
- [10] Roberfroid MB. 2005. Inulin-type fuctants; Functional Food Ingredients. Boca Raton (US): CRC Pr. 2005.
- [11] Association of Official Analytical Chemist (AOAC). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington.
- [12] Taussky HH and Shorr E. 1953. A micro colorimetric method for the determination of inorganic phosphorus. *J Biol. Chem*. 1953;202(2):675-685.
- [13] Paramita W, Waluyo ES, dan Yulianto AB. 2008. Konsumsi dan Kecernaan Bahan Kering dan Bahan Organik d alam Haylase Pakan Lengkap Ternak Sapi Peranakan Ongole. *Media Kedokteran Hewan*. 24(1)
- [14] Noor, Susan M. 2016. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Penggunaan dan penanganan hewan coba rodensia dalam penelitian sesuai dengan kesejahteraan hewan. Padjajaran.
- [15] Aulyani TL. 2013. Pemberian kalsium nano $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ terhadap efektivitas penyerapan kalsium tulang hewan model tikus putih *Rattus novergicus*. Skripsi. Bogor. (ID): Institut Pertanian Bogor.
- [16] Astuti ID, Rimbawan, Budi S dan Ainia H. 2020. Efektivitas penyerapan kalsium pada model tikus kurang gizi yang diberi diet mocaf diperkaya inulin. *Nutri-Sains: Jurnal Gizi, Pangan dan Aplikasinya*. 4(2):77-92
- [17] Yusmiati SNH dan Rahayu EW. 2017. Pemeriksaan kadar kalsium pada masyarakat dengan pola makan vegetarian. *Jurnal SainHealth Vol*. 2017;1(1):43-49.
- [18] Janouseka J, Veronika P, Katerina M, Anderson N, Jessica VM, Diana DS, Fernando R, Luciano S, Katerina ML, Josef M, Lucie N and Premysl M. 2022. Vitamin D: sources, physiological role, biokinetics, deficiency, therapeutic use, toxicity, and overview of analytical methods for detection of vitamin D and its metabolites. 59(8):517–554. <https://doi.org/10.1080/10408363.2022.2070595>

- [19] Zhou w and Tao D. 2023. Effects of maternal calcium and protein intake on the development and bone metabolism of offspring mice. *Open Life Science* 2023 Jul 6;18(1):20220631. doi: 10.1515/biol-2022-0631
- [20] Sukandar EY, Andrajati R, Sigit JI, Adnyana IK, Setiadi AAP dan Kusnandar. 2008. *Isofarmakoterapi*. Jakarta (ID): PT. ISFI Penerbitan. 2008;723.
- [21] Ringler DH, Dabich L. Hematology and Clinical Biochemistry. 1979. Di dalam: Baker JH, Lindsey JR, Weisbroth SH, editor. *The Laboratory Rat. Volume I Biology and Diseases*. New york and London (BG): Academic Pr. .
- [22] Kim S, Jung HS, Soo YH, Haejung K and Young KK. 2024. The parathyroid gland: an overall review of the hidden organ for radiologists. *J Korean Soc Radiol.* 85(2):327-344 <https://doi.org/10.3348/jksr.2022.0171>.
- [23] Letavernier E, Cécile V, Florent G, Joëlle P, Léa H, Jean-PH, Laurent B, and Michel D. 2016. Calcium and vitamin D have a synergistic role in a rat model of kidney stone disease. *Elsevier.* 90(40):809-817.
- [24] Ely Y, Andi WS dan Audry DW. 2021. Hubungan antara kadar kalsium serum dengan keberhasilan fisioterapi pada pasien stroke iskemik. 12(1):14-16.