

Jurnal Kesehatan Gigi

The Effect of Consumption of Marine Fish Nanoparticles on the Hardness of Teeth Enamel in Mice (*Mus Musculus*)

Waritsa Arbyta Putri¹ Sandy Christiono² Helmi Fathurrahman³

¹Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Islam Sultan Agung

²Departemen Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Islam Sultan Agung

³Departemen Prostodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Islam Sultan Agung

Corresponding author: Sandy Christiono

Email: sandy@unissula.ac.id

ABSTRACT

The enamel structure consists of 96% inorganic material, 4% organic matter, water and fibrous tissue. Saltwater fish has many ingredients such as Calcium, Taurine, Omega 3, PUFAs, Vitamin A, Vitamin D, and Fluoride which have function of increasing the hardness of tooth enamel. This study aims to determine the effect of consumption saltwater fish nanoparticle powder on tooth enamel hardness of young mice. This research method used True Experimental with a research design using Post Test Only Control Design, consisting of 2 groups, namely the control group was given normal feed and the treatment group was given saltwater fish nanoparticle powder with a dose of 2.17 mg / 0.5 ml. The sample used was 16 mice, then each of the mice was taken incisor teeth. Furthermore, the teeth were subjected to a Micro Vickers Hardness Tester, then analyzed by statistical tests. The results showed that there was a significant difference between the treatment group and the control group with the significance of the Independent T-test 0.000 ($p < 0.05$) in the maxilla. The conclusion obtained is that the application of saltwater fish nanoparticle powder can significantly increase the hardness of tooth enamel in the development process of fetal mice teeth.

Keywords : tooth enamel hardness; saltwater fish nanoparticle powder; micro vickers hardness tester

Pendahuluan

Karies adalah penyakit jaringan keras gigi yang disebabkan oleh aktifitas berbagai mikroorganisme. *Streptococcus mutans* adalah mikroorganisme yang paling dominan dalam proses karies [1]. Empat faktor yang berperan dalam proses terjadinya karies yaitu *host*, mikroorganisme, substrat, dan waktu [2]. Faktor tersebut berinteraksi ketika mengalami gangguan keseimbangan demineralisasi dan remineralisasi [3].

Hasil survei dari Dinas Kesehatan Kabupaten Jepara pada tahun 2011 mengungkapkan prevalensi karies didaerah pesisir sebesar 46,11% pada anak sekolah dasar. Data

tersebut menjelaskan bahwa prevalensi karies pada anak yang tinggal didaerah pesisir digolongkan rendah dengan perbandingan prevalensi karies di Indonesia yaitu 90,05% [4]. Daerah pesisir pantai menghasilkan produksi ikan yang diduga memiliki potensi untuk menurunkan jumlah prevalensi kejadian karies. Pekerjaan rata-rata daerah pesisir merupakan nelayan sehingga ketersediaan ikan didaerah pesisir dalam jumlah banyak dan ikan didapatkan masih segar [5].

Ketika daerah pesisir mengalami produksi ikan melimpah (over produksi) mengakibatkan terjadinya penumpukan ikan dalam skala besar sehingga harga ikan menurun. Dalam menanggulangi penumpukan ikan, nelayan menjadikan limbah ikan sebagai pakan ayam dan

itik tanpa pengolahan lebih lanjut. Ikan sarden, peperek dan tongkol adalah ikan yang paling sering mengalami kelebihan produksi. Ketiga ikan tersebut juga kurang diminati oleh konsumen karena ikan sarden dan peperek memiliki tekstur lunak dan banyak tulang, sedangkan ikan tongkol memiliki citarasa yang sedikit pahit dan menyebabkan rasa gatal jika dikonsumsi [6].

Serbuk ikan berasal dari ikan sarden (*Sardinella fibriata*), peperek (*Leignathus splendens*) dan tongkol (*Euthynnus affinis*) [6]. Ikan laut memiliki banyak kandungan seperti Kalsium, Taurine dan Selenium, Omega 3, *Polyunsaturated fatty acids*, Vitamin B12, Vitamin A, Vitamin D, Sodium dan Fluorida. Pada kandungan *Polyunsaturated Fatty Acids* yaitu DHA, EPA, AA dan LA merupakan bentuk natural ligand terhadap *Peroxisome Proliferator Activated Receptors* (PPARs) [7].

Struktur enamel terdiri dari 96 % bahan anorganik, 4% bahan organik, air dan jaringan fibrosa [8]. Banyaknya jumlah bahan anorganik adalah faktor yang mempengaruhi kekerasan email [9]. Nilai suatu kekerasan biasanya menggunakan satuan Vickers Hardness Number (VHN). Alat vickers hardness tester adalah alat yang digunakan untuk mengukur kekerasan email gigi [10].

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di Desa Teluk Awur (daerah pesisir) dan Desa Jlegong (daerah non pesisir) Kabupaten Jepara menunjukkan rata-rata kekerasan enamel pada Desa Teluk Awur lebih keras yaitu 1009,91 VHN dibandingkan dengan Desa Jlegong yaitu 691,31 VHN. Hal ini disebabkan adanya perbedaan pola konsumsi ikan pada daerah tersebut [8].

Menurut Tiyaboonchai (2003), nanopartikel adalah bentuk dari partikel koloid padat yang memiliki diameter antara 1–1000 nm. Penggunaan nanoteknologi bertujuan untuk menghasilkan material berskala nanometer, mengeksplorasi dan merekayasa karakteristik dari material tersebut, serta mendesain-ulang material tersebut ke dalam bentuk, ukuran, dan fungsi yang diinginkan [11].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsumsi serbuk nanopartikel ikan laut terhadap kekerasan enamel gigi anak mencit. Hipotesis dari penelitian ini adalah terdapat pengaruh konsumsi serbuk nanopartikel ikan laut terhadap peningkatan kekerasan enamel gigi mencit.

Metode Penelitian

Penelitian ini berjenis *True Experimental*. Rancangan penelitian yang dipergunakan ialah

penelitian eksperimental *Post Test Only Control Design*. Penelitian dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro untuk pembuatan serbuk nanopartikel ikan laut. Selanjutnya dilakukan pemeliharaan dan perlakuan pada hewan coba di Pusat Laboratorium IBL (*Integrated Biomedical Laboratory*) FK Unissula. Gigi anak mencit dilakukan uji kekerasan di UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang. Penelitian dilakukan pada 20 November 2020 – 28 Januari 2021.

Variabel bebas dalam penelitian berikut ialah serbuk nanopartikel ikan laut. Variabel terikat penelitian berikut ialah kekerasan enamel gigi. Sampel yang dipergunakan pada penelitian berikut adalah gigi anak mencit. Desain pengambilan sampel pada anak mencit menggunakan *Simple Random Sampling*. Pengambilan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan dasar penentuan besar sampel menurut Lameshow (1997). Menurut hasil perhitungan tersebut maka jumlah sampel minimal berdasarkan masing masing kelompok penelitian adalah 8 ekor anak mencit. Penelitian ini dilakukan pada 2 kelompok perlakuan, maka jumlah sampel seluruhnya ada 16 ekor anak mencit.

Instrument dan bahan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang berbahan plastik ukuran 40 cm x 30 cm, kawat jala, sekam padi sebagai alas kandang, kasa kawat sebagai penutup kandang, botol minum dan tempat makan mencit, *ball milling*, timbangan analitik, ayakan, serbuk nanopartikel ikan laut dengan dosis 2,17 mg/0,5 ml, pakan normal merk BR-594, autoklaf sebagai sterilisasi alat, spuit, buffer formalin 10%, kloroform 10-20 ml, gunting bedah, blade, kapas, pot plastik, wadah, gelas ukur plastik, heat gun, resin bening, katalis, cetakan, stik kayu, *Micro Hardness Tester* Mitutoyo HM-200.

Sebanyak 10 ekor mencit diadaptasi dengan dimasukkan ke dalam kandang selama 7 hari sebelum perlakuan untuk proses penyesuaian fisiologis pada kandang yang bersih, cukup udara dan cahaya. Selama masa adaptasi dilakukan penentuan siklus estrus dengan mengamati hasil hapusan vagina (*vaginal swab*) dari mencit betina dengan menggunakan mikroskop pembesaran 400 kali. Mencit betina diamati tampilan morfologi yaitu vagina berwarna merah dan terbuka. Mencit yang sedang mengalami fase estrus kemudian dikawinkan dengan cara menggabungkan lima ekor mencit betina dan lima mencit jantan dalam satu kandang. Kemudian keesokan paginya dilakukan pengamatan vaginal plug, jika didapatkan vaginal plug / sumbat vagina pada

mencit betina maka menandakan mencit telah berkolonisasi dan memasuki hari ke-0 kebuntingan.

Mencit yang telah hamil tersebut dipisahkan dalam kandang tersendiri dan dibagi menjadi 2 kelompok yaitu:

- a. Kelompok 1 diberi serbuk nanopartikel ikan laut dengan dosis 2,17 mg/0,5 ml selama 21 hari masa kehamilan dan 14 hari setelah kelahiran hingga gigi anak mencit muncul. Perhitungan dosis berdasarkan konversi (Laurense & Bacharach 1964).
- b. Kelompok 2 hanya diberikan pakan normal selama 21 hari kehamilan dan 14 hari setelah kelahiran hingga gigi anak mencit muncul.

Hari ke-14 setelah kelahiran, anak mencit dieutanasi dengan *chloroform* secara inhalasi. Kapas dibasahi dengan *chloroform* kemudian diletakkan ke dalam toples, selanjutnya anak mencit dimasukkan ke dalam toples dan toples ditutup hingga anak mencit mati. Kemudian dilakukan pengambilan gigi insisivus anak mencit menggunakan forcep. Gigi tersebut ditempatkan dalam wadah tertutup berisi *buffer formalin 10%*. Setelah itu gigi anak mencit ditanam pada resin block ukuran 1,5 x 1,5 cm. Semua sampel yang di uji dikirim ke laboratorium untuk diukur kekuatan enamel dengan uji kekerasan Vickers menggunakan beban 0,1 N selama 15 detik.

Analisa data menggunakan uji normalitas data dengan uji *Sapshiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levenes test*. Hasil yang didapatkan yaitu data terdistribusi normal dan homogen sehingga dilanjutkan dengan uji *Independent sampel t-test*.

Hasil dan Pembahasan

Tabel 1.
Rerata (VHN) dan standar deviasi kelompok kontrol (diberi pakan normal) dan kelompok perlakuan (diberi serbuk nanopartikel ikan laut)

| Kelompok | Jumlah sampel | Rerata (VHN) | Standar deviasi |
|--------------------------------------|---------------|--------------|-----------------|
| Diberi pakan normal | 8 | 18,0375 | 4,16068 |
| Diberi serbuk nanopartikel ikan laut | 8 | 80,2500 | 16,55062 |

Tabel 2.

Hasil uji distribusi normalitas data

| Kelompok | Sig. |
|--------------------------------------|-------|
| Diberi pakan normal | 0,170 |
| Diberi serbuk nanopartikel ikan laut | 0,081 |

Tabel 3.

Hasil uji kesetaraan data/ uji homogenitas (*Levene test*)

| <i>Lavene Statistic</i> | Sig. |
|-------------------------|-------|
| 3,162 | 0,097 |

Tabel 4.

Uji Independent sampel t-test

| | Sig.(2-tailed) |
|-------------------------|----------------|
| Equal variances assumed | 0,000 |

Keterangan: signifikansi $p < 0,05$

Pengukuran kekerasan enamel gigi anak mencit menggunakan uji kekerasan *Micro Vickers Hardness Tester*. Pengujian dilakukan pada 2 kelompok yaitu kelompok kontrol (pakan normal) dan kelompok perlakuan (serbuk nanopartikel ikan laut). Jumlah sampel sebanyak 16 gigi anak mencit yaitu 8 gigi insisivus rahang atas pada kelompok kontrol, dimana telah diberikan pakan normal melalui induk mencit. Serta 8 gigi insisivus rahang atas pada kelompok perlakuan, dimana telah diberikan serbuk nanopartikel ikan laut dengan dosis 2,17 mg/0,5 ml.

Tabel 1 menunjukkan kelompok kontrol (pakan normal) memiliki nilai rata-rata 18,0375 VHN dengan standart deviasi 4,16068 sedangkan kelompok perlakuan (serbuk nanopartikel ikan laut) memiliki nilai rata-rata 80,2500 VHN dengan standart deviasi 16,55062. Gigi anak mencit yang selama masa intrauterine induknya mengkonsumsi serbuk nanopartikel ikan laut dapat meningkatkan kekerasan gigi anak mencitnya.

Berdasarkan tabel 2 hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* pada kelompok kontrol maupun perlakuan didapatkan hasil data memiliki nilai $p > 0,05$ sehingga menyatakan bahwa seluruh data pada masing-masing kelompok berdistribusi normal.

Tabel 3 hasil uji *Levene test* diperoleh nilai sig. sebesar 0,097 ($p > 0,05$) yang berarti data tersebut homogen. Syarat uji parametrik untuk 2 kelompok terpenuhi sehingga dilakukan uji independent sampel t-test.

Hasil analisa data tabel 4 menggunakan uji *Independent sampel t-test* didapatkan nilai p (Sig. 2-tailed) sebesar 0,000 yang berarti nilai $p < 0,05$

sehingga H0 di tolak dan H1 diterima dan disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kekerasan enamel gigi yang signifikan pada rahang atas antara kelompok kontrol yang diberi pakan normal dan kelompok perlakuan yang diberi serbuk nanopartikel ikan laut.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan rata-rata kekerasan gigi pada kelompok kontrol (pakan normal) dan kelompok perlakuan (serbuk nanopartikel ikan laut). Hasil ini sesuai dengan penelitian Noviasari dkk. (2018), yang membuktikan bahwa konsumsi ikan laut dapat meningkatkan kekerasan gigi dengan melakukan pengukuran kekerasan gigi anak daerah pesisir pantai Desa Teluk Awur yang sering mengkonsumsi ikan laut (1009,91 VHN) dibandingkan anak daerah non pesisir Desa Jlegong yang jarang mengkonsumsi ikan laut (691,31 VHN). Hasil penelitian Christiono dkk. (2019), mengemukakan bahwa pemberian serbuk ikan laut dapat meningkatkan densitas gigi janin dari induk mencit yang diberi serbuk ikan laut. Kandungan tertinggi pada serbuk ikan laut adalah kalsium dan omega-3.

Kalsium adalah bahan anorganik yang berperan sebagai komponen utama dalam pembentukan enamel serta dentin. Ketika masa prenatal akan terjadi pembentukan gigi pada bulan keempat intrauterine yaitu tahap kalsifikasi. Tahap kalsifikasi pada mencit terjadi pada hari ke 18 [12]. Tahap tersebut tidak lepas dari proses metabolisme kalsium sehingga asupan kalsium yang cukup sangat dibutuhkan. Efek peningkatan kekerasan enamel gigi menunjukkan bahwa kalsium dan omega 3 dapat menembus plasenta. Penelitian yang dilakukan Sukria dkk. (2020), mencantumkan kandungan kalsium pada pakan normal yaitu sebesar 0,87 %. Kalsium pada pakan normal dapat membantu dalam pembentukan enamel dan dentin sehingga mempengaruhi sedikit kekerasan enamel gigi pada anak mencit. Kandungan kalsium pada serbuk ikan laut yaitu sebesar 5,56 % sehingga disimpulkan bahwa kandungan kalsium pada serbuk ikan laut lebih tinggi dibanding pakan normal.

Serbuk ikan laut selain mengandung kalsium dan omega 3 juga mengandung senyawa fungsional lain. Kandungan tersebut sangat bermanfaat pada ibu hamil. Senyawa fungsional lain yang terkandung dalam serbuk ikan laut seperti vitamin D, vitamin A, lemak, asam lemak, protein, karotinoid, dan mineral lain seperti kalium, mangan, fosfor. Komponen *micronutrient* pada serbuk ikan laut yaitu iodin, iron, seng, kobalt

juga sangat bermanfaat saat masa perkembangan gigi [7].

Kalsium pada ikan laut berguna dalam perkembangan dan pemeliharaan tulang dan gigi [14]. Transport kalsium sangat penting bagi pertumbuhan serta perkembangan janin [15]. Ikan laut yang mengandung kalsium dan berbagai macam nutrisi akan menginduksi mencit yang mengalami kehamilan. Kalsium akan menembus plasenta dan mengalami pengikatan dengan TRPV6, kemudian dapat masuk ke dalam plasenta melalui *transstrophoblastic channels* [16]. Kalsium dari membran trofoblas mikrovil akan masuk menuju ke dalam sitofol trofoblastik. Trofoblas adalah sel yang berfungsi dalam pemberian nutrisi pada embrio. Ca^{2+} *binding protein* akan menyalurkannya ke janin mencit [17]. Kalsium akan di terima oleh sel ameloblast melalui Ca^{2+} *sensing receptor*. Peningkatan asupan kalsium yang berasal dari ikan laut dapat meningkatkan aktifitas odontoblast dan ameloblast [18]. Efek peningkatan asupan kalsium juga membantu dalam proses mineralisasi yang dapat mempengaruhi kepadatan matriks enamel [19].

Ikan laut memiliki kandungan omega 3. Omega 3 berperan penting dalam proses tumbuh kembang sel-sel neuron otak untuk bekal kecerdasan bayi yang akan dilahirkan [20]. Penelitian yang dilakukan oleh Rozner dkk. (2020), mengungkapkan bahwa Omega 3 PUFA dari minyak ikan dapat meningkatkan BMD (*Bone Mineral Density*) karena sumber Omega 3 PUFA hewani menghasilkan akumulasi mineral yang lebih tinggi pada tulang muda yang sedang mengalami pertumbuhan dan perkembangan.

Serbuk ikan laut banyak mengandung vitamin A, D dan E [22]. Vitamin D3 bertanggung jawab untuk mengontrol pengiriman kalsium ke janin [15]. Vitamin D juga terlibat dalam pembentukan struktur tulang dan gigi [23]. Vitamin A memiliki peran penting dalam perkembangan gigi, terutama dalam pembentukan ameloblast dan odontoblas. Fosfor berfungsi dalam pembentukan mineral gigi sehingga jika mengalami kekurangan fosfor akan mengakibatkan gangguan kalsifikasi selama masa perkembangan gigi, kegagalan dalam pembentukan dentin [24]. Protein berguna dalam pembentukan matriks organik tulang dan gigi [25].

Serbuk ikan laut diubah menjadi bentuk nanopartikel agar lebih mudah diserap melalui usus. Mekanisme kerja nanopartikel yaitu meningkatkan luas permukaan agar dapat berinteraksi dengan dukungan biologis, memperpanjang waktu insidensi senyawa dalam

usus, menurunkan dampak mekanisme pembersihan usus, menembus jaringan dalam kapiler halus, melintasi fenestrasi lapisan epitel seperti hati, memungkinkan penyerapan pada sel menjadi lebih efisien dan transportasi sempurna senyawa aktif ke tempat target di dalam tubuh [26].

Penelitian ini memiliki kekurangan yaitu tidak diketahui secara pasti berapa kandungan nutrisi dari serbuk nanopartikel ikan laut yang dapat meningkatkan kekerasan enamel gigi, mencit yang digunakan dalam penelitian ini perlu dikawinkan terlebih dahulu, sehingga memerlukan beberapa hari dan tidak setiap mencit betina yang dikawinkan dapat hamil sesuai harapan. Untuk mendapatkan anak mencit dengan umur yang sama mempunyai persentase keberhasilan yang kecil. Jika terdapat mencit yang terlalu sensitif dalam masa perlakuan dapat menyebabkan kematian sehingga perlu dilakukan penelitian ulang. Ukuran gigi mencit terlalu kecil sehingga sulit dilakukan uji kekerasan Microhardness Vickers.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kesimpulan yaitu kandungan dari serbuk nanopartikel ikan laut berpotensi meningkatkan kekerasan enamel gigi, pemberian serbuk nanopartikel ikan laut membantu tumbuh kembang jaringan gigi sehingga dapat meningkatkan kekerasan enamel gigi anak mencit secara signifikan, pemberian pakan normal yang mengandung kalsium sebanyak 0,87 % dapat membantu tumbuh kembang jaringan gigi sehingga mempengaruhi sedikit kekerasan enamel gigi anak mencit.

Ucapan Terimakasih

Penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik berkat bantuan dari berbagai pihak, untuk itu peneliti mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dan memberi semangat selama penelitian berlangsung khususnya kepada institusi peneliti yaitu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung.

Daftar Pustaka

- [1] T. Abidin dan M.Z. Hutagalung, "Pengaruh Teh Kombucha Terhadap Kekerasan Enamel," *dentika Dent. J.*, vol. 15, no. 1, 2010.
- [2] E.A.M. Kidd dan S.J. Bechal, *Dasar-Dasar*

Karies-Penyakit dan Penanggulangan, 2nd ed. Jakarta: Buku Kedokteran EGC, 2012.

- [3] M. Magista, A. Nuryanti, I.A. Wahyudi, "Pengaruh Lama Perendaman dan Jenis Minuman Beralkohol Bir dan Tuak terhadap Kekerasan Email Gigi Manusia (In Vitro)," *Maj. Kedokt. Gigi Indones.*, vol. 21, no. 1, p. 47, 2014, doi: 10.22146/majkedgiind.8539.
- [4] Dinas Kesehatan Kabupaten Jepara, Laporan Tahunan Kesehatan Gigi dan Mulut, ed ke-1. Jepara: Dinkes, 2011.
- [5] L. Iswanto, J. Posangi, C.N. Mintjelungan, "Profil Status Karies Pada Anak Usia 13-15 Tahun Dan Kadar Fluor Air Sumur Di Daerah Pesisir Pantai Dan Daerah Pegunungan," *e-GIGI*, vol. 4, no. 2, 2016, doi: 10.35790/eg.4.2.2016.13649.
- [6] T. Amelia, "Pengolahan Ikan Bernilai Ekonomis Rendah Hasil Tangkapan Nelayan Padang Pariaman Menjadi Tepung Ikan," Universitas Andalas, 2017.
- [7] S. Christiono, S. Pradopo, I.K. Suidiana, "The Effect Of Saltwater Fish Consumption By Female House Mice (Mus Musculus) On The Increasing Teeth Enamel Density Of Their Pups: Microct Analysis," *J. Int. Dent. Med. Res.*, vol. 12, no. 3, pp. 947–952, 2019.
- [8] A.N. Noviasari, S. Christiono, E. Hardianto, "Pola Konsumsi Ikan Laut Studi Pada Anak Usia 5 – 7 Tahun di Desa Teluk Awur dan Desa Jlegong Kabupaten Jepara," vol. 5, no 1, pp. 76–79, 2018.
- [9] M.D. Riani, F. Oenzil, N. Kasuma, "Artikel Penelitian Pengaruh Aplikasi Bahan Pemutih Gigi Karbamid Peroksida 10 % dan Hidrogen Peroksida 6 % secara Home Bleaching terhadap Kekerasan Permukaan Email Gigi," *J. Kesehat. Andalas*, vol. 4, no. 2, pp. 346–352, 2015.
- [10] F. Izzati, "Kekerasan Permukaan Email Gigi Permanen Manusia Setelah Perendaman dalam Ekstrak Kulit Pisang Raja (Musa Paradisiaca var. Raja) Sebagai Bahan Bleaching (secara in-vitro)," 2019.
- [11] H.E. Irianto dan I. Muljanah, "Proses dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan sebagai Penghantar Obat," vol. 61, 2011.
- [12] C. Neboda, R.P. Anthonappa, N.M. King, "Tooth mineral density of different types of hypomineralised molars: a micro-CT analysis," 2017.
- [13] H.A. Sukria, H. Nugraha, A. Jayanegara, "The Effect of Particle Size of Corn and Die Diameter of Pelleted Diets on the Physical Properties and Performances of Rat (Rattus

- norvegicus),” *J. Ilmu Pertan. Indones.*, vol. 25, no. 2, pp. 178–184, 2020, doi: 10.18343/jipi.25.2.178.
- [14] T.T. Lilly, J.K. Immaculate, P. Jamila, “Macro and micronutrients of selected marine fishes in Tuticorin, South East coast of India,” *Int. Food Res. J.*, vol. 24, no. 1, pp. 191–201, 2017.
- [15] C. Tivane, M.N. Rodrigues, P.O. Favaron, A.C.A. Neto, E.H.B. Júnior, M.A. Miglino, “Mechanisms of calcium transport across the placenta: Review,” *Open J. Anim. Sci.*, vol. 03, no. 01, pp. 13–20, 2013, doi: 10.4236/ojas.2013.31002.
- [16] Y. Suzuki, D. Chitayat, H. Sawada, M.A. Deardorff, H.M. McLaughlin, Begtrup, dkk., “TRPV6 Variants Interfere with Maternal-Fetal Calcium Transport through the Placenta and Cause Transient Neonatal Hyperparathyroidism,” *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 102, no. 6, pp. 1104–1114, 2018, doi: 10.1016/j.ajhg.2018.04.006.
- [17] S.M. Husain and M.Z. Mughal, “Mineral transport across the placenta,” *Arch. Dis. Child.*, vol. 67, no. 7, pp. 874–878, 1992, doi: 10.1136/ad.67.7_Spec_No.874.
- [18] R.P. Sari, S. Revianti, P.B. Prabowo, “Diet bubuk cangkang Anadara granosa dan susu kedelai meningkatkan kekerasan permukaan gigi,” *J. Mater. Kedokt. gigi*, vol. 1, no. 150, pp. 41–49, 2012.
- [19] S. Wahlyuyo, “Peran kalsium sebagai prevensi terjadinya hipoplasia enamel (The role of calcium on enamel hypoplasia prevention),” *Dent. J. (Majalah Kedokt. Gigi)*, vol. 46, no. 3, p. 113, 2013, doi: 10.20473/j.djmk.v46.i3.p113-118.
- [20] F. M. Diana, “Omega 3,” *Agro Food Industry Hi-Tech.*, vol. 17, no. 1, pp. 29–31, 2012.
- [21] R. Rozner, J. Vernikov, S.G. Fishheimer, T. Travinsky, S. Penn, B. Schwartz dkk., “The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids from different sources in bone development,” *Nutrients*, vol. 12, no. 11, pp. 1–22, 2020, doi: 10.3390/nu12113494.
- [22] E. Susanto dan A.S. Fahmi, “Senyawa Fungsional Dari Ikan: Aplikasinya Dalam Pangan,” *J. Apl. Teknol. Pangan*, vol. 1, no. 4, 2012.
- [23] S.K. Tilami, dan S. Sampels, “Nutritional Value of Fish: Lipids, Proteins, Vitamins, and Minerals,” *Rev. Fish. Sci. Aquac.*, vol. 26, no. 2, pp. 243–253, 2018, doi: 10.1080/23308249.2017.1399104.
- [24] A. Ghosh, S.K. Pallavi, B. Nagpal, *Nutrition and oral health*, vol. 65, no. 6, pp. 147-154, 2016.
- [25] E. Aryati dan A.W.C. Dharmayanti, “Manfaat Ikan Teri Segar (*Stolephorus* sp) Terhadap Pertumbuhan Tulang Dan Gigi,” *ODONTO Dent. J.*, vol. 1, no. 2, pp. 52-56, 2014, doi: 10.30659/odj.1.2.52-56.
- [26] M.E.AA El-Hack, M. Alagawany, M.R. Farag, M. Arif, M. Emam, K. Dhama, dkk., “Nutritional and pharmaceutical applications of nanotechnology: Trends and advances,” *Int. J. Pharmacol.*, vol. 13, no. 4, pp. 340–350, 2017, doi: 10.3923/ijp.2017.340.350.