

PENGUJIAN IN VIVO: STUDI LITERATUR TERHADAP BIOAVAILABILITAS KALSIUM PADA PRODUK PANGAN BERBASIS SUSU YANG DIFORTIFIKASI

In Vivo Testing: Literature Review of Calcium Bioavailability in Fortified Milk-based Products

Alexandra Sidney Budiawan, Cecilia Huang, Christella Eunice Candra, Ilham Ramadan, Dwining Putri Elfriede, Rike Tri Kumala Dewi*

*Program Studi Teknologi Bisnis Pangan, Fakultas Sekolah Ilmu Terapan, Teknologi, Teknik, dan Matematika, Universitas Prasetiya Mulya

Edu Town Kavling Edu I No. 1, Jalan BSD Raya Barat 1, Serpong, Pagedangan, Kec. Pagedangan, Kabupaten Tangerang, Banten 15339

*Korespondensi Penulis: rike.dewi@prasetyamulya.ac.id

ABSTRACT

Calcium is an essential mineral involved in bone mineralization, muscle contraction, and metabolic processes. Its bioavailability is influenced by chemical form, food matrix, and physiological factors. Fortified milk products have been widely developed to improve calcium intake and absorption, especially in populations at risk of deficiency. This literature review aimed to analyze calcium bioavailability in fortified milk products based on recent in vivo studies. The study used a narrative literature review method. Articles were selected from scientific databases using relevant keywords and inclusion criteria, including publication within the last ten years and the use of in vivo experimental models. The review process involved article identification, screening, data extraction, and synthesis related to calcium absorption, retention, and bone mineral status. The findings showed that calcium fortification in milk generally improves calcium absorption and retention, particularly when combined with vitamin D, prebiotics, probiotics, or highly soluble calcium salts. The milk matrix was also found to enhance mineral utilization compared to non-dairy vehicles. Nano-calcium fortified skim milk enriched with vitamin D and bioactive compounds demonstrated the highest bioavailability and significantly improved bone calcium accumulation, bone strength, and bone morphology in osteoporosis models. Fermented milk products containing lactic acid bacteria and prebiotic fibers also enhanced intestinal calcium absorption through gut microbiota modulation and improved mineral solubility. In conclusion, fortified milk products have strong potential as an effective nutritional intervention to improve calcium bioavailability and support bone health, although their effectiveness depends on formulation, fortificant type, and physiological conditions of the target population..

Keywords: *bioavailability, calcium, fortified food products, in vivo, milk-based food products*

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Kalsium merupakan salah satu mineral esensial yang berperan penting dalam pembentukan dan pemeliharaan kesehatan tulang dan gigi, serta fungsi neuromuskular (Wahid *et al.*, 2023). Kecukupan asupan kalsium sepanjang siklus kehidupan, mulai dari masa kanak dan remaja hingga usia lanjut, memegang peranan penting dalam menjaga kesehatan tulang serta mencegah terjadinya gangguan

seperti osteopenia dan osteoporosis. Osteoporosis dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya merupakan asupan kalsium yang tidak mencukupi (Amalia *et al.*, 2024). Sejumlah bukti ilmiah menunjukkan bahwa strategi nutrisi dan suplementasi yang tepat dapat memengaruhi kepadatan mineral tulang dan mengurangi risiko kehilangan massa tulang yang terkait dengan penuaan dan defisiensi nutrisi (Cong & Zhang, 2025).

Meskipun demikian, defisiensi asupan kalsium masih menjadi permasalahan kesehatan global yang

berkaitan dengan meningkatnya risiko gangguan kesehatan tulang, termasuk osteopenia dan osteoporosis, terutama pada populasi di negara berkembang dengan kualitas konsumsi pangan dan status vitamin D yang rendah (Shlisky *et al.*, 2022). Rendahnya konsumsi pangan sumber kalsium dengan bioavailabilitas tinggi juga menjadi faktor penting yang memengaruhi kecukupan kalsium pada berbagai kelompok usia. Di Indonesia, kondisi ini juga terlihat dari rata - rata konsumsi kalsium masyarakat yang hanya sekitar 254 mg per hari, jauh dibawah rekomendasi 1000-1200 mg per hari (Syafira *et al.*, 2020), meskipun kebutuhan kalsium telah diatur dalam Acuan Label Gizi sesuai kelompok usia (Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2016). Permasalahan ini semakin penting pada kelompok anak, yaitu rendahnya asupan kalsium dan vitamin D tidak hanya berkaitan dengan kualitas diet, tetapi juga berkontribusi terhadap risiko stunting karena menghambat pertumbuhan tulang (Marsellinda & Ferilda, 2023). Selain jumlah asupan, efektivitas pemanfaatan kalsium juga dipengaruhi oleh bioavailabilitasnya, yang sangat bergantung pada status vitamin D dalam membantu penyerapan kalsium di usus (Yeum *et al.*, 2025).

Sumber kalsium umumnya berasal dari produk susu seperti susu, yogurt dan keju, serta beberapa pangan lain seperti sereal (Cormick & Belizán, 2019). Namun, penyerapan kalsium tidak hanya ditentukan oleh jumlah asupannya, tetapi juga dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti keberadaan antinutrien (asam fitat dan oksalat), kondisi fisiologis, dan terutama status vitamin D (Shlisky *et al.*, 2022). Oleh karena itu, keterbatasan asupan dan rendahnya bioavailabilitas kalsium mendorong perlunya strategi intervensi, seperti fortifikasi atau pengayaan pangan dengan kalsium, guna meningkatkan status

gizi masyarakat, khususnya pada anak - anak di Indonesia (Palacios *et al.*, 2021).

Bioaksesibilitas adalah jumlah kalsium yang tersedia di saluran cerna, sedangkan bioavailabilitas adalah bagian yang benar-benar diserap tubuh. Vitamin D berperan penting dalam meningkatkan bioavailabilitas karena membantu penyerapan kalsium di usus (Rodrigues *et al.*, 2022). Untuk mengatasi rendahnya asupan dan penyerapan kalsium, fortifikasi pangan dilakukan dengan menambahkan mikronutrien ke dalam produk guna meningkatkan kualitas gizi dan mencegah defisiensi, termasuk kalsium, terutama pada pangan olahan seperti susu formula (Dewi & Mahmudiono, 2021; Rajwar *et al.*, 2020).

Teknik Pengukuran Bioavailabilitas Zat Gizi

Pengukuran bioavailabilitas kalsium dapat dilakukan dengan metode *in vivo*, menggunakan makhluk hidup sebagai model untuk mengukur bioavailabilitas kalsium dari suatu produk pangan. Bioavailabilitas kalsium merupakan jumlah nutrisi kalsium yang terserap oleh tubuh setelah proses pencernaan makanan. Setelah makanan tersebut dicerna, pengukuran jumlah kalsium yang diserap tubuh dapat diukur melalui pengukuran konsentrasi kalsium pada plasma darah. Terdapat keterbatasan dalam menggunakan makhluk hidup sebagai subjek, sebab ada banyak variabilitas yang sulit untuk dikontrol dan batasan-batasan etis, namun melalui teknik ini produk pangan melewati proses pencernaan yang akurat, dan tidak hanya sebatas simulasi (Akbari-Alavijeh *et al.*, 2022; Santos *et al.*, 2019).

Upaya peningkatan bioavailabilitas kalsium salah satunya dilakukan melalui pembentukan kelat peptida yang menjaga kalsium tetap stabil dan mudah diserap. Sumber nabati, seperti protein kedelai dan kacang hijau, memanfaatkan kandungan asam amino karboksilat untuk mengikat kalsium secara efisien, sedangkan sumber

hewani umumnya mengandalkan kasein fosfopeptida dari susu atau kolagen yang kaya akan residu fosfoserin. Kedua jenis kelat ini terbukti meningkatkan penyerapan kalsium di usus serta lebih stabil dibandingkan kalsium anorganik (An *et al.*, 2022).

Studi oleh Muleya *et al.* (2024) menunjukkan bahwa meskipun beberapa pangan nabati memiliki kalsium total yang tinggi, bioaksesibilitasnya cenderung lebih rendah dibandingkan susu sapi. Hal ini disebabkan oleh keberadaan kasein fosfopeptida, rendahnya antinutrien, serta matriks susu yang lebih mendukung pelepasan dan absorpsi kalsium (Muleya *et al.*, 2024). Tingginya prevalensi defisiensi kalsium mendorong fortifikasi pangan sebagai strategi intervensi gizi. Namun, efektivitas fortifikasi tidak hanya ditentukan oleh kadar kalsium total, tetapi juga tingkat bioavailabilitasnya di dalam tubuh. Meskipun berbagai studi telah membahas bioaksesibilitas kalsium melalui pendekatan *in vitro*, kajian yang secara sistematis menelaah bukti ilmiah dari pengujian *in vivo* pada produk susu yang difortifikasi masih terbatas. Selain itu, pengaruh bentuk fortifikan, matriks pangan susu, kasein fosfopeptida, serta faktor fisiologis belum terintegrasi secara komprehensif. Oleh karena itu, kajian literatur ini bertujuan untuk mengkaji secara sistematis hasil pengujian *in vivo* terkait bioavailabilitas kalsium pada produk pangan berbasis susu yang difortifikasi sebagai dasar ilmiah dalam pengembangan formulasi fortifikasi kalsium yang lebih efektif dan berbasis bukti.

Tinjauan Pustaka **Pengertian In Vivo**

Istilah *in vivo* berasal dari bahasa Latin yang berarti di dalam makhluk hidup dan merujuk pada pengujian yang dilakukan langsung pada organisme hidup sehingga respons biologis diamati dalam kondisi nyata (Saeidnia *et al.*, 2016).

Pendekatan ini diperlukan karena keterbatasan dalam mengamati proses di dalam tubuh secara langsung, sehingga digunakan model organisme untuk merepresentasikan kondisi biologis yang kompleks (Vicko *et al.*, 2023).

Studi *in vivo* dapat dilakukan pada hewan maupun manusia. Penelitian pada hewan umumnya digunakan untuk memahami mekanisme biologis sebelum dilanjutkan ke uji klinis pada manusia, sedangkan uji klinis secara langsung mengevaluasi penyerapan zat gizi pada subjek manusia (Cornes *et al.*, 2022). Namun, tidak semua model hewan sepenuhnya merepresentasikan manusia, sehingga pemilihan model yang tepat menjadi penting (Campbell-Platt, 2017). Keunggulan metode ini adalah mampu menggambarkan kondisi biologis secara menyeluruh, termasuk proses metabolisme, distribusi, dan ekskresi zat, serta memungkinkan identifikasi efek samping atau toksisitas yang tidak terlihat pada uji *in vitro* (Boraschi *et al.*, 2021; Xu *et al.*, 2021).

Di sisi lain, metode *in vivo* memiliki keterbatasan seperti kompleksitas tinggi, biaya besar, serta isu etika dalam penggunaan hewan uji (Saeidnia *et al.*, 2016). Oleh karena itu, penelitian *in vivo* wajib melalui proses *ethical clearance* sebelum dilaksanakan. Di Indonesia, proses *ethical clearance* untuk penelitian yang melibatkan hewan uji dapat diajukan melalui komisi etik institusi resmi seperti IPB University dan BRIN yang memiliki mekanisme penilaian etik untuk memastikan penelitian dilakukan sesuai prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*), keamanan subjek, dan standar pelaksanaan penelitian yang bertanggung jawab. Dengan demikian, standar ini menjadi kerangka utama agar setiap penelitian *in vivo* memperhatikan kesejahteraan hewan dan sejalan dengan tuntutan etik yang ada.

Prosedur Pengujian In Vivo Kalsium pada Bahan/Produk Pangan

Studi *in vivo* untuk kalsium, berdasarkan pada metodenya, dapat dilakukan pada manusia dan hewan. Secara umum, subyek dalam studi diberikan pola makan yang terkontrol dan ditempatkan dalam lingkungan terkontrol. Hewan yang telah sering digunakan untuk pengujian *in vivo* merupakan tikus, anjing, dan babi. Pemilihan hewan subyek pengujian dilakukan berdasarkan kesamaan anatomi kepada manusia pada organ tubuh tertentu dan objektif dari penelitian. (Xu *et al.*, 2021)

Pengukuran bioavailabilitas kalsium secara *in vivo* yang digunakan dapat melibatkan pengumpulan sampel darah dan/atau urin untuk mengukur tingkat serum kalsium di dalamnya. Pengukuran serum kalsium yang terdapat pada sampel dapat menggunakan spektrofotometer atau HPLC (Nurwati *et al.*, 2021; Zhu *et al.*, 2020). Selain analisis kalsium pada darah, retensi dan dampak kalsium pada tubuh subyek secara jangka panjang dapat diukur melalui hasil metabolik (urin dan feses) serta tulang. Densitas dan struktur tulang dievaluasi menggunakan radiografi sinar-X (Ekantari *et al.*, 2017) dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM), sedangkan hasil metabolik melalui proses seperti spektrofotometri dan pengabuan (Nurwati *et al.*, 2021). Sejumlah pengujian bioavailabilitas *in vivo* untuk obat-obatan atau formulasi yang mengandung kalsium kini juga dapat ditandakan oleh radioisotop, *fluorophore*, dan bioluminesensi sehingga teknik-teknik *3D imaging* dapat memvisualisasi pergerakan zat di dalam tubuh subyek secara *real-time* (Melse-Boonstra, 2020; Xu *et al.*, 2021). Visualisasi tersebut dapat menggunakan teknik *Single-Photon Emission Computed Tomography* (SPECT-CT), *Positron*

Emission Tomography (PET), atau *scintigraphy* (Xu *et al.*, 2021)

METODE PENELITIAN

Literature review ini dilakukan dengan metode *narrative review* dari berbagai hasil penelitian terdahulu mengenai pengujian bioavailabilitas kalsium secara *in vivo* pada makanan berbasis susu yang difortifikasi. Literatur dalam penelitian ini dicari melalui berbagai *database* ilmiah daring yang meliputi: Google Scholar, Elsevier, Springer, PubMed, Scencedirect, IMDP, dan Wiley. Pencarian literatur menggunakan kata kunci sebagai berikut: bioavailabilitas kalsium, *in vivo*, dan fortifikasi pangan berbasis susu. Dari sejumlah sumber literatur yang berada dalam *database*, artikel yang duplikat, tidak menunjukkan *full text* tidak disertakan. Tahap selanjutnya adalah menghapus duplikat, memilih artikel berdasarkan judul dan abstrak, serta membaca literatur secara sepenuhnya untuk mengidentifikasi produk pangan yang diteliti, teknik pengujian, dan penemuan dari penelitian. Dari hasil proses penyisihan didapatkan 6 literatur yang memenuhi kriteria dan relevan dengan topik penelitian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sejumlah penelitian sebelumnya telah dilakukan untuk mengkaji dan mengevaluasi bioavailabilitas kalsium pada produk pangan susu melalui pendekatan pengujian *in vivo*. Keberadaan studi-studi terdahulu tersebut memberikan kontribusi dalam memperkaya pemahaman ilmiah untuk menyajikan gambaran yang lebih menyeluruh dan mendalam terkait beragam aspek penelitian. **Tabel 1** menyajikan rangkuman beberapa penelitian terdahulu mengenai pengujian kalsium secara *in vivo* pada bahan/produk pangan.

Tabel 1. Penelitian Terdahulu mengenai Pengujian In Vivo Kalsium pada Bahan/Produk Pangan

No.	Bahan/Produk Pangan	Teknik Pengujian	Hasil	Referensi
1	Susu bubuk skim diperkaya kalsium karbonat nano + inulin, DHA, EPA, vitamin B6, K1, D3	Uji bioavailabilitas kalsium in vivo pada tikus <i>Sprague Dawley</i> ovariektomi dan ovariektomi-osteoporosis (model menopause)	Bioavailabilitas kalsium tertinggi; secara signifikan lebih baik dibanding kalsium sitrat nano; peningkatan kalsium tulang, kekuatan, dan morfologi tulang	Erfanian <i>et al.</i> (2017)
2	Susu skim diperkaya dengan dua jenis campuran serat (<i>fiber blends</i>): inulin + serat oat atau inulin + serat gandum	Pengujian in vivo pada tikus wistars yang diberikan perlakuan diet susu + serat. Evaluasi dilakukan selama 28 hari dengan mengukur kalsium pada hasil metabolisme dan tulang femur.	Campuran serat meningkatkan absorpsi, retensi kalsium, dan densitas mineral melalui analisis pada kadar kalsium dalam serum darah dan densitas mineral tulang pada tikus.	Arora & Patel (2019)
3	Susu sapi (fortifikasi Vitamin D2)	Pengujian in vivo dilakukan pada tikus Wistar. Tikus diberi 5 jenis diet berbeda selama 4 minggu (kontrol tanpa protein, susu liofilisat, serta susu dengan fortifikasi vitamin D2, kalsium fosfat, dan kombinasi) untuk mengevaluasi pemanfaatan nitrogen.	Fortifikasi vitamin D2 pada susu secara signifikan meningkatkan penyerapan kalsium. Penyerapan kalsium yang lebih baik juga berkaitan dengan peningkatan retensi nitrogen. Kelompok yang mengonsumsi susu menunjukkan mineralisasi tulang lebih tinggi dibandingkan kontrol.	Kaushik <i>et al.</i> (2025)
4	Minuman berbasis <i>dairy permeate</i> diperkaya buah kiwi atau fig (20%, 30%, 40%)	Uji in vivo pada tikus betina osteoporosis yang diinduksi dexamethasone (model osteoporosis akibat glukokortikoid). Evaluasi meliputi kadar Ca, P, PTH, vitamin D, protein serum, kandungan mineral tulang femur, serta analisis X-ray tulang	Perlakuan minuman dairy permeate kiwi dan permeate fig meningkatkan secara signifikan kadar Ca dan P tulang femur serta serum Ca, P, PTH, dan vitamin D dibandingkan kontrol positif. Analisis X-ray menunjukkan perbaikan struktur dan densitas tulang.	Sawy <i>et al.</i> (2022)
5	<i>Milk-Based Drinks</i> (MBD) berbasis susu yang mengandung 2 kelompok bakteri asam laktat (BAL) berbeda (LcS dan empat galur)	Uji in vivo pada tikus bunting <i>Sprague Dawley</i> . Selama kehamilan, diberikan minuman susu fermentasi. Bioavailabilitas kalsium diukur dari feses dan urin, sedangkan kadar kalsium serum diukur dari darah menggunakan spektrofotometri.	Pemberian kedua jenis minuman susu dengan bakteri asam laktat meningkatkan kadar kalsium serum. Hasil ini menunjukkan potensi minuman susu mengandung BAL sebagai pangan fungsional untuk meningkatkan penyerapan kalsium selama kehamilan.	Nurwati <i>et al.</i> (2021)
6	Susu yak (<i>Bos grunniens</i>) dalam bentuk bubuk	Uji in vivo pada model tikus osteoporotik yang diinduksi <i>retinoic acid</i> selama 15 hari, lalu intervensi 6 minggu berupa pemberian susu yak dosis rendah (L-YM) dan dosis tinggi (H-YM). Bioavailabilitas Ca dianalisis melalui <i>calcium balance assay</i> .	Konsumsi susu yak meningkatkan bioavailabilitas Ca secara signifikan dengan kenaikan absorpsi kalsium dari 35,93% menjadi 51,84% (L-YM) dan 49,41% (H-YM). Peningkatan ini karena ekspresi gen <i>transporter</i> kalsium TRPV6 di duodenum yang lebih tinggi dibandingkan kontrol.	Mamet <i>et al.</i> (2025)

Pada artikel Erfanian *et al.* (2017), model in vivo menggunakan tikus *Sprague*

Dawley ovariektomi dan ovariektomi-osteoporosis (sebagai representasi kondisi

pascamenopause), susu bubuk skim yang diperkaya kalsium karbonat berukuran nano serta komponen pendukung seperti inulin, DHA, EPA, vitamin B6, K1, dan D3 menunjukkan bioavailabilitas kalsium

tertinggi. Secara statistik, bioavailabilitas kalsium dari formulasi ini signifikan lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan kalsium sitrat nano.

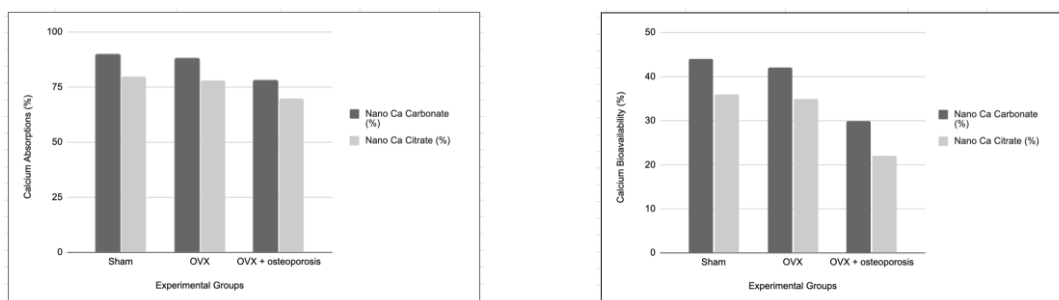
Tabel 2. Signifikansi Efek Variabel Proses terhadap Indeks Polidispersitas (PDI) dan Ukuran Partikel Rata-rata (MPS) pada Susu Diperkaya Kalsium Nano

Variabel			Efek utama		Efek kuadrat		Interaksi Efek
			x1	x2	$x1^2$	$x2^2$	$x1x2$
Susu yang diperkaya kalsium karbonat berukuran nano	PDI (Y1)	P-value	0,00	0,00	0,00	-	0,00
		F Ratio	663,5	703,7	128,0	-	941,8
	MPS (Y2)	P-value	0,00	0,00	-	0,00	0,00
		F Ratio	43,9	110,1	-	43,8	38,1
Susu yang diperkaya kalsium sitrat berukuran nano	PDI (Y1)	P-value	0,00	0,00	-	-	0,00
		F Ratio	148,23	83,27	-	-	124,93
	MPS (Y2)	P-value	0,18	0,00	0,01	0,00	0,00
		F Ratio	2,21	711,98	15,99	679,85	52,19

PDI : Indeks polidispersitas; MPS: ukuran partikel rata - rata ; x1: siklus x2: tekanan. Hanya istilah yang memiliki signifikansi statistik yang disertakan

Peningkatan bioavailabilitas ini terlihat dari meningkatnya akumulasi kalsium, kekuatan, dan morfologi tulang. Hal ini menunjukkan bahwa kalsium karbonat nano dalam matriks susu dengan komponen bioaktif lebih efektif dalam meningkatkan penyerapan dan retensi kalsium, terutama pada kondisi defisiensi estrogen (Erfanian *et al.*, 2017).

Sementara itu, kalsium sitrat nano juga menunjukkan bioavailabilitas yang lebih baik dibanding bentuk non-nano, menegaskan bahwa ukuran partikel nano meningkatkan absorpsi. Namun, secara langsung bioavailabilitas dan dampak terhadap kualitas tulang masih lebih rendah dibandingkan kalsium karbonat nano (Erfanian *et al.*, 2017).



Gambar 1. (a) Penyerapan dan (b) Bioavailabilitas kalsium untuk tikus sham, tikus ovariektomi (OVX), dan tikus OVX-osteoporosis.

Catatan: Huruf kecil yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara tikus yang diberi makan dengan diet berbeda. Huruf besar yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) di antara tikus yang diberi makan dengan diet yang sama.

Temuan ini mengindikasikan bahwa meskipun kalsium sitrat nano memiliki keunggulan dibandingkan bentuk

konvensional, efektivitasnya dalam meningkatkan status kalsium tulang masih berada di bawah kalsium karbonat nano

pada model osteoporosis (Erfanian *et al.*, 2017).

Tabel 3. Keseimbangan kalsium (rata-rata ± standar error) pada tikus yang diberi diet yang mengandung serat Blend-I, Blend-II, dan kontrol

Kelompok	Asupan (mg)	Absorpsi Ca		Retensi Ca	
		(mg)	(%)	(mg)	(%)
I (Blend-I)	297,4 ± 22,9	282,1 ± 25,7	94,4 ± 1,9	281,5 ± 25,7	94,2 ± 1,9
II (Blend-II)	247,2 ± 22,9	238,7 ± 24,9	96,3 ± 1,32	238,0 ± 25,0	96,0 ± 1,4
III (kontrol)	291,4 ± 26,5	262,7 ± 36,3	88,8 ± 4,9	262,2 ± 36,3	88,7 ± 4,9
		Dalam perlakuan (hewan)	1,57 ^{Ns}	Dalam perlakuan (hewan)	1,56 ^N
Rasio-F		Antar perlakuan (diet)	2,71 ^{Ns}	Antar perlakuan (diet)	2,82 ^{Ns}

NS tidak signifikan ($p > 0.05$)

Kelompok I: Diet terdiri dari Blend-I dari DF; Kelompok II: Diet terdiri dari Blend-II dari DF; Kelompok III: Diet hanya terdiri dari selulosa sebagai DF

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Arora & Patel (2019) pada **Tabel 3**, studi pengujian susu skim yang diperkaya dengan dua jenis campuran serat ini menunjukkan bioavailabilitas kalsium pada produk pangan berbasis susu menunjukkan peningkatan penyerapan kalsium tidak hanya bergantung pada kandungan mineralnya, tetapi juga sangat dipengaruhi oleh matriks pangan, khususnya pada modifikasi formulasi dengan penambahan serat pangan. Penambahan serat tidak larut (*non-soluble*) berpotensi menurunkan bioavailabilitas kalsium karena dapat mengikat mineral melalui senyawa seperti fitat serta mempercepat waktu transit usus, sehingga mengurangi kesempatan kalsium untuk diserap. Oleh karena itu, dalam pengembangan pangan fungsional, pemilihan jenis dan rasio serat menjadi aspek penting agar tidak berdampak negatif terhadap status mineral.

Namun demikian, serat tidak selalu berdampak negatif terhadap penyerapan mineral. Pada kondisi tertentu, terutama jika serat bersifat prebiotik, justru dapat meningkatkan efisiensi absorpsi kalsium.

Hal ini terlihat dari perbedaan antara dua campuran serat yang diuji, di mana campuran FB2 (inulin, oat fiber, gom arab) menghasilkan nilai absorpsi dan retensi kalsium yang lebih tinggi dibandingkan FB1 (inulin, gom guar, CMC). Perbedaan ini menunjukkan bahwa sifat fisikokimia serat, seperti fermentabilitas, kemampuan memodulasi mikrobiota usus, dan efek viskositas, menjadi faktor penentu dalam proses penyerapan kalsium.

Secara mekanistik, inulin sebagai serat prebiotik difermentasi oleh bakteri usus menghasilkan SCFA (short chain fatty acids) yang dapat menurunkan pH usus, meningkatkan kelarutan kalsium, dan mempermudah proses absorpsi. Selain itu, kombinasi inulin dengan oat fiber pada FB2 diduga memberikan efek sinergis dalam menciptakan lingkungan usus yang lebih kondusif. Sebaliknya, pada FB1, keberadaan CMC meningkatkan viskositas sehingga dapat memerangkap kalsium dan menghambat difusinya ke permukaan absorpsi. Dampak ini tidak hanya terlihat pada tingkat penyerapan di usus, tetapi juga pada parameter tulang seperti berat abu tulang dan kandungan kalsium tulang (Arora & Patel, 2019).

Tabel 4. Ketersediaan Hayati Kalsium dari Susu Fortifikasi

Sampel	Kandungan Kalsium Total	Ketersediaan hayati kalsium (%)	
		Kalsium Fosfat	Kalsium Sitrat
Kontrol	1500 mg/L	43,27±0,7 ^a	42,36±0,21 ^a
Kalsium 500 mg/L	2000 mg/L	40,54±0,10 ^a	40,54±0,29 ^a
Kalsium 600 mg/L	2100 mg/L	40,43±0,21 ^a	40,43 ±0,26 ^a
Kalsium 600 mg/L	1500 mg/L	48,96±3,79 ^b	49,29±0,64 ^b
Kalsium 600 mg/L	2000 mg/L	50,14±3,29 ^b	46,31±0,12 ^b
Kalsium 600 mg/L + Vitamin D 600 IU/L	2100 mg/L	53,08±2,88 ^b	47,90±0,41 ^b

Nilai yang disajikan dalam Tabel adalah rata-rata±SEM (n=3).

^{a-b} Sampel yang ditunjukkan dengan huruf yang berbeda berbeda signifikan (P<0.05) satu sama lain dalam baris.

Tabel 5. Absorpsi Vitamin D pada Berbagai Sampel Susu

Sampel	Absorpsi vitamin D	
	Kalsium fosfat + Vitamin D ₂	Kalsium sitrat + Vitamin D ₂
Kontrol	Tidak terdeteksi	Tidak terdeteksi
Vitamin D 600 IU/L	397,08±8,42 ^a	406,02±5,01 ^a
Kalsium 500 mg/L + Vitamin D 600 IU/L	454,92±6,92 ^b	452,34±7,04 ^b
Kalsium 600 mg/L + Vitamin D 600 IU/L	484,08±7,88 ^c	478,56±5,20 ^c

Nilai yang disajikan dalam Tabel adalah rata-rata±SEM (n=3).

^{a-b} Sampel yang ditunjukkan dengan huruf yang berbeda berbeda signifikan (P<0,05) satu sama lain dalam baris

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Kaushik *et al.* (2025) yang disajikan pada **Tabel 4** dan **5** dalam pengujian susu sapi yang difortifikasi vitamin D₂ menunjukkan bioavailabilitas kalsium dari susu sapi dapat ditingkatkan secara signifikan melalui fortifikasi vitamin D₂. Temuan ini menegaskan bahwa vitamin D₂ berperan penting dalam meningkatkan efisiensi absorpsi kalsium di saluran pencernaan pada rendahnya ekskresi kalsium melalui feses yang membuat kalsium yang secara alami sudah tersedia dalam susu untuk dimanfaatkan. Selain itu, peningkatan absorpsi kalsium sangat berkaitan dengan perbaikan pemanfaatan nutrisi lain, khususnya protein melalui peningkatan retensi nitrogen. Dengan demikian, hasil ini memberikan gambaran bahwa intervensi berbasis fortifikasi vitamin D₂ pada susu berpotensi memberikan manfaat metabolik yang lebih luas dalam mendukung

mineralisasi tulang dan efisiensi metabolisme protein. Studi juga menjelaskan bahwa analisis tulang menunjukkan bahwa kelompok perlakuan tikus wistar yang diberi susu skim fortifikasi dengan kalsium dan vitamin D₂ dalam dosis tertentu memiliki berat abu tulang dan kandungan kalsium tulang yang lebih tinggi dibanding kontrol (tikus yang diberi diet standar atau susu skim murni yang kandungan kalsium dan vitamin D-nya hanya berasal dari nilai alami susu tersebut (tanpa tambahan mineral atau vitamin dari luar), sehingga mengindikasikan bahwa kalsium yang terserap benar-benar dimanfaatkan untuk pembentukan dan pemeliharaan massa tulang (Kaushik *et al.*, 2025).

Menurut Sawy *et al.* (2022), produk susu fermentasi berbasis permeal yang diperkaya buah fungsional seperti fig dan kiwi memiliki potensi meningkatkan bioavailabilitas kalsium, terutama pada kondisi osteoporosis. Proses fermentasi

oleh bakteri asam laktat berperan dalam meningkatkan kandungan mineral serta mengubah matriks pangan, sehingga kalsium lebih mudah dilepaskan selama pencernaan. Selain itu, pemanfaatan laktosa

dan perubahan komponen karbohidrat selama fermentasi turut meningkatkan pencernaan dan efisiensi penyerapan kalsium.

Tabel 6. Pengaruh berbagai tingkat minuman fungsional yang diproduksi terhadap kalsium serum, fosfor, protein, vitamin D dan PTH pada tikus dengan osteoporosis

Grup	Profil Serum				
	Serum Ca (mg/dl)	PTH (<i>parathyroid hormone</i>) (pg/ml)	P (mg/dl)	Protein (g/dl)	Vit.D (mg/ml)
(G1)	9,31 ± 0,026 ^d	22,34 ± 0,21 ^a	3,5 ± 0,94 ^a	6,59 ± 1,97 ^a	30 ± 0,54 ^a
(G2)	14,56 ± 0,23 ^a	12,65 ± 0,66 ^c	4,5 ± 0,48 ^a	4,734 ± 0,78 ^b	13,55 ± 0,35 ^d
(G3)	13,76 ± 0,43 ^a	14,56 ± 0,60 ^c	4,43 ± 0,29 ^a	4,95 ± 0,96 ^b	17,87 ± 0,21 ^c
(G4)	11,54 ± 1,21 ^c	18,45 ± 0,76 ^b	4,10 ± 0,44 ^a	5,21 ± 0,66 ^b	20,87 ± 0,32 ^b
(G5)	12,78 ± 1,08 ^b	15,43 ± 0,88 ^c	4,22 ± 0,08 ^a	4,45 ± 0,45 ^b	18,98 ± 1,97 ^c
(G6)	13,98 ± 0,89 ^a	14,11 ± 2,75 ^b	4,41 ± 0,06 ^a	4,87 ± 0,32 ^b	17,44 ± 2,45 ^c
(G7)	11,09 ± 0,65 ^c	18,87 ± 2,56 ^b	4,01 ± 0,24 ^a	5,34 ± 0,65 ^b	23,76 ± 1,78 ^b
(G8)	13,02 ± 0,42 ^b	14,93 ± 1,03 ^c	4,19 ± 0,76 ^a	4,66 ± 0,26 ^b	17,22 ± 2,67 ^c
LSD	1,09	1,06	0,76	0,98	3,23

Setiap nilai dalam tabel adalah rata-rata dari 4 tikus dari setiap kelompok dan diikuti oleh ± deviasi standar. Rata-rata dalam kolom yang sama yang memiliki huruf superskrip berbeda berbeda secara signifikan ($P < 0,05$).

Tabel 6 menunjukkan berbagai kelompok perlakuan pada model tikus osteoporosis, mulai dari kontrol negatif tanpa perlakuan hingga pemberian minuman fungsional dengan variasi dosis dan formulasi. Hasil uji *in vivo* menunjukkan bahwa konsumsi minuman susu fermentasi secara signifikan meningkatkan kadar kalsium serum, kandungan mineral tulang, serta kepadatan dan struktur trabekula dibandingkan kelompok kontrol osteoporosis. Selain itu, terjadi penurunan kadar *parathyroid hormone* (PTH) dan perbaikan parameter histomorfometri tulang, yang menunjukkan bahwa kalsium tidak hanya tersedia secara kimia tetapi juga terserap dan dimanfaatkan secara biologis. Efek ini diperkuat oleh kandungan senyawa bioaktif dari buah, seperti fenolik, flavonoid, serat, dan fitoestrogen, yang berperan dalam meningkatkan absorpsi kalsium dan menghambat resorpsi tulang (Sawyer *et al.*, 2022).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nurwati *et al.* (2021) yang disajikan pada **Tabel 7** penambahan bakteri asam laktat ke dalam minuman berbasis susu yang diberikan kepada tikus meningkatkan penyerapan kalsium secara signifikan. Tikus sampel dalam keadaan malnutrisi supaya dapat melihat dampak yang muncul. Pada penelitian tersebut, kelompok A1 merupakan kontrol yang hanya diberikan air minum, sedangkan A2 diberikan minuman berbasis susu yang mengandung *L. casei*, dan A3 diberikan minuman mengandung empat macam bakteri asam laktat (*L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, and *S. thermophiles*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian minuman mengandung bakteri asam laktat pada kelompok A2 dan A3 berhasil meningkatkan bioavailabilitas kalsium dalam tubuh tikus yang mengandung (Nurwati *et al.*, 2021).

Tabel 7. Pengaruh 4 Pola Makan Berbeda terhadap Penyerapan, Retensi, dan Bioavailabilitas Kalsium pada Tikus Mengandung

Parameter	Kelompok				p ¹
	A0	A1	A2	A3	
Kemampuan penyerapan kalsium (%)					
Sebelum	68,1 ± 11,04 ^b	22,87 ± 5,73 ^a	37,35 ± 13,18 ^a	30,13 ± 13,14 ^a	0,000*
Setelah	51,08 ± 25,90	71,77 ± 25,36	81,05 ± 2,74	74,40 ± 29,83	0,245
Retensi kalsium (%)					
Sebelum	62,42 ± 11,54 ^b	13,3 ± 4,76 ^a	25,12 ± 10,10 ^a	23,57 ± 12,19 ^a	0,000*
Setelah	49,32 ± 25,28	68,57 ± 27,89	78,45 ± 3,18	71,50 ± 29,10	0,276*
Bioavailabilitas kalsium (%)					
Sebelum	91,35 ± 3,10 ^c	57,37 ± 10,02 ^a	66,03 ± 6,72 ^{a,b}	75,47 ± 9,39 ^b	0,000*
Setelah	92,35 ± 6,02	93,85 ± 7,15	96,79 ± 1,34	95,90 ± 0,99	0,535*
Peningkatan bioavailabilitas (%)	1,01 ± 4,46 ^a	36,48 ± 14,48 ^c	30,79 ± 6,88 ^{b,c}	20,44 ± 9,04 ^b	0,000*

¹ Analisis *one-way* ANOVA; MBD: *Milk-Based Drinks*; LAB: *Lactic Acid Bacteria*

Akan tetapi, kadar serum kalsium tidak menunjukkan perubahan signifikan yang mengindikasikan adanya mekanisme homeostasis kalsium dalam tubuh. Peningkatan bioavailabilitas kalsium diduga dipengaruhi oleh beberapa mekanisme, antara lain penurunan pH usus akibat produksi asam lemak rantai pendek oleh probiotik yang meningkatkan absorpsi

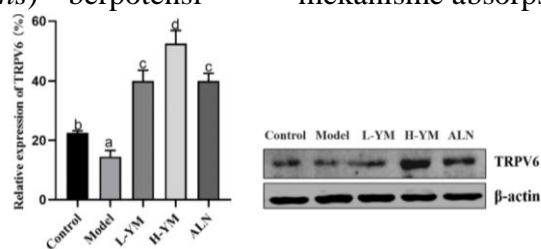
kalsium. Selain itu, *L. casei* dilaporkan meningkatkan kelarutan kalsium, sedangkan *L. delbrueckii* berperan dalam meningkatkan regulasi gen transpor kalsium secara paraseluler. Konsumsi probiotik juga dikaitkan dengan peningkatan kedalaman kriptas usus, yang berpotensi mendukung proses penyerapan kalsium (Lu *et al.*, 2013; Nurwati *et al.*, 2021).

Tabel 8. Rata-rata Tingkat Serum Kalsium dalam Tikus Sebelum dan Setelah Diberikan Intervensi

Kelompok	Sebelum (mg/dL)	After (mg/dL)	Δ (mg/dL)	p ¹
A0	10,97 ± 0,97 ^c	9,59 ± 1,85 ^a	-1,37 ± 2,51 ^a	0,239
A1	9,09 ± 0,53 ^b	9,01 ± 0,47 ^a	-0,08 ± 0,27 ^a	0,642
A2	8,83 ± 0,74 ^{a,b}	8,75 ± 0,66 ^a	-0,09 ± 0,96 ^a	0,867
A3	7,51 ± 0,89 ^a	9,49 ± 1,81 ^a	1,99 ± 1,93 ^a	0,216
p ²	p ² = 0,000*	p ² = 0,804	p ² = 0,146	

Berdasarkan penelitian oleh Mamet *et al.* (2025) yang disajikan dalam **Tabel 8**, susu yak (*Bos grunniens*) berpotensi

meningkatkan bioavailabilitas kalsium pada kondisi osteoporosis melalui mekanisme absorpsi usus yang aktif.



Gambar 10. Ekspresi TRPV6 di duodenum tikus OP. L-YM = susu yak dosis tinggi; H-YM= susu yak dosis rendah; ALN = alendronat. Data dinyatakan sebagai mean ± SD. Huruf kecil yang berbeda (a-d) menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan (P<0.05).

Pada studi *in vivo*, pemberian susu yak pada tikus osteoporosis tidak hanya memperbaiki status nutrisi dan kesehatan organ, tetapi juga secara signifikan meningkatkan laju penyerapan dan akumulasi kalsium dibandingkan kelompok model dan lebih efektif daripada *alendronate sodium*. Peningkatan ini berkorelasi dengan upregulasi ekspresi saluran kalsium TRPV6 di usus halus. Temuan ini diperkuat oleh studi *in vitro* pada sel Caco-2, yaitu susu yak meningkatkan penyerapan kalsium dan ekspresi TRPV6 secara *dose dependent* tanpa efek toksik, dengan efektivitas lebih tinggi dibandingkan kalsium anorganik (CaCl₂). Keunggulan ini karena komposisi nutrisi susu yak kaya protein, laktosa, dan kalsium yang secara sinergis mendukung regulasi vitamin D aktif dan meningkatkan efisiensi absorpsi kalsium, sehingga susu yak mampu dalam meningkatkan bioavailabilitas kalsium dan mendukung mineralisasi tulang pada osteoporosis (Mamet *et al.*, 2025).

KESIMPULAN

Berdasarkan berbagai studi *in vivo* ini, bioavailabilitas kalsium pada produk berbasis susu yang difortifikasi tidak hanya ditentukan oleh jumlah kalsium yang ditambahkan, tetapi juga oleh bentuk kimia, ukuran partikel, matriks pangan, serta keberadaan komponen pendukung seperti vitamin D, prebiotik, dan probiotik. Kalsium dalam matriks susu terutama dalam bentuk nano dan dikombinasikan vitamin D terbukti meningkatkan absorpsi, retensi, dan kualitas tulang seperti khususnya kondisi osteoporosis. Selain itu, modifikasi matriks seperti penambahan serat prebiotik, sinbiotik, dan komponen bioaktif lain terbukti meningkatkan efisiensi penyerapan kalsium melalui perbaikan lingkungan usus dan peningkatan kelarutan mineral.

Kedepannya, diperlukan lebih banyak uji klinis jangka panjang pada

manusia dengan jumlah subjek yang lebih besar guna memastikan efektivitas dan keamanan fortifikasi. Penelitian juga perlu difokuskan pada eksplorasi kombinasi matriks pangan dan komponen bioaktif yang lebih spesifik, mekanisme molekuler transport kalsium di usus, serta dampaknya pada berbagai kelompok populasi. Pendekatan multidisipliner yang mengintegrasikan. Aspek nutrisi, mikrobiota usus, dan teknologi pangan juga penting untuk menghasilkan produk fortifikasi yang lebih optimal dan aplikatif secara industri. Secara keseluruhan, uji *in vivo* penting untuk memahami proses absorpsi kalsium dan mendukung pengembangan produk susu fortifikasi sebagai strategi peningkatan kesehatan tulang masyarakat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan dan kontribusi dalam penyusunan karya tulis ini. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset, Publikasi, dan Pengabdian kepada Masyarakat (DRPPM) Universitas Prasetiya Mulya yang mendanai publikasi penelitian ini. Penulis juga berterima kasih kepada Program Studi Teknologi Bisnis Pangan, Fakultas Sekolah Ilmu Terapan, Teknologi, Teknik, dan Matematika, Universitas Prasetiya Mulya, atas fasilitas dan lingkungan akademik yang mendukung selama proses penyusunan studi literatur. Penulis berharap karya ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang teknologi pangan dan kajian bioavailabilitas kalsium.

DAFTAR PUSTAKA

Akbari-Alavijeh, S., Shaddel, R., & Jafari, S. M. (2022). *in vivo* assessments for predicting the bioavailability of nanoencapsulated food bioactives and the safety of nanomaterials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(27),

- 7460–7478.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1915239>
- An, J., Zhang, Y., Ying, Z., Li, H., Liu, W., Wang, J., & Liu, X. (2022). The Formation, Structural Characteristics, Absorption Pathways and Bioavailability of Calcium–Peptide Chelates. *Foods*, *11*(18), 2762.
<https://doi.org/10.3390/foods11182762>
- Arora, S. K., & Patel, A. A. (2019). In vivo effect of two different dietary fiber blends on the milk calcium bioavailability. *Journal of Food Science and Technology*, *56*(4), 2126–2133.
<https://doi.org/10.1007/s13197-019-03693-x>
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2016). *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 9 Tahun 2016 tentang Acuan Label Gizi*. BPOM RI.
- Boraschi, D., Li, D., Li, Y., & Italiani, P. (2021). In Vitro and In Vivo Models to Assess the Immune-Related Effects of Nanomaterials. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(22), 11769.
<https://doi.org/10.3390/ijerph182211769>
- Campbell-Platt, G. (2017). *Food science and technology* (Second edition). Wiley.
- Cong, B., & Zhang, H. (2025). The effects of combined calcium and vitamin D supplementation on bone mineral density and fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Musculoskeletal Disorders*, *26*(1), 928.
<https://doi.org/10.1186/s12891-025-09089-7>
- Cormick, G., & Belizán, J. M. (2019). Calcium Intake and Health. *Nutrients*, *11*(7), 1606.
<https://doi.org/10.3390/nu11071606>
- Cornes, R., Sintes, C., Peña, A., Albin, S., O'Brien, K. O., Abrams, S. A., & Donangelo, C. M. (2022). Daily Intake of a Functional Synbiotic Yogurt Increases Calcium Absorption in Young Adult Women. *The Journal of Nutrition*, *152*(7), 1647–1654.
<https://doi.org/10.1093/jn/nxac088>
- Dewi, N. U., & Mahmudiono, T. (2021). Effectiveness of Food Fortification in Improving Nutritional Status of Mothers and Children in Indonesia. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(4), 2133.
<https://doi.org/10.3390/ijerph18042133>
- Ekantari, N., Harmayani, E., Pranoto, Y., & Marsono, Y. (2017). Calcium of Spirulina platensis has Higher Bioavailability than those of Calcium Carbonate and High-calcium Milk in Sprague Dawley Rats Fed with Vitamin D-deficient Diet. *Pakistan Journal of Nutrition*, *16*(3), 179–186.
<https://doi.org/10.3923/pjn.2017.179.186>
- Erfanian, A., Rasti, B., & Manap, Y. (2017). Comparing the calcium bioavailability from two types of nano-sized enriched milk using in-vivo assay. *Food Chemistry*, *214*, 606–613.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.116>
- Kaushik, R., Sachdeva, B., Arora, S., Kapila, S., Sharma, V., & Singh, A. K. (2025). CALCIUM AND VITAMIN D2 ABSORPTION AND EFFECT ON NITROGEN UTILIZATION OF MILK. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, e10993.
<https://doi.org/10.55251/jmbfs.10993>
- Lu, Z., Ding, L., Lu, Q., & Chen, Y.-H. (2013). Claudins in intestines: Distribution and functional significance in health and diseases. *Tissue Barriers*, *1*(3), e24978.
<https://doi.org/10.4161/tisb.24978>
- Mamet, T., Guo, Y., Li, X., Yang, J., & Zhao, B. (2025). Yak milk improves retinoic acid-induced osteoporosis by promoting intestinal calcium absorption. *Journal of Dairy Science*, *108*(8), 7912–7922.
<https://doi.org/10.3168/jds.2023-24359>
- Marsellinda, E., & Ferilda, S. (2023). ANALISIS TINGKAT ASUPAN KALSIMUM DAN VITAMIN D TERHADAP KEJADIAN STUNTING PADA BALITA DI SIJUNJUNG. *Jurnal Buana Farma*, *3*(4), 99–104.
<https://doi.org/10.36805/jbf.v3i4.892>
- Melse-Boonstra, A. (2020). Bioavailability of Micronutrients From Nutrient-Dense Whole Foods: Zooming in on Dairy, Vegetables, and Fruits. *Frontiers in*

- Nutrition*, 7.
<https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00101>
- Muleya, M., F. Bailey, E., & H. Bailey, E. (2024). A comparison of the bioaccessible calcium supplies of various plant-based products relative to bovine milk. *Food Research International*, 175, 113795. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113795>
- Nurwati, Y., Hardinsyah, H., Marliyati, S. A., & Fahrudin, M. (2021). Calcium Bioavailability and Serum Calcium Level in Pregnant Rats After Administration of Milk-Based Drinks Containing Lactic Acid Bacteria. *Jurnal Gizi Dan Pangan*, 16(3), 149–158. <https://doi.org/10.25182/jgp.2021.16.3.149-158>
- Palacios, C., Cormick, G., Hofmeyr, G. J., Garcia-Casal, M. N., Peña-Rosas, J. P., & Betrán, A. P. (2021). Calcium-fortified foods in public health programs: considerations for implementation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1485(1), 3–21. <https://doi.org/10.1111/nyas.14495>
- Rajwar, E., Parsekar, S. S., Venkatesh, B. T., & Sharma, Z. (2020). Effect of vitamin A, calcium and vitamin D fortification and supplementation on nutritional status of women: an overview of systematic reviews. *Systematic Reviews*, 9(1), 248. <https://doi.org/10.1186/s13643-020-01501-8>
- Rodrigues, D. B., Marques, M. C., Hacke, A., Loubet Filho, P. S., Cazarin, C. B. B., & Mariutti, L. R. B. (2022). Trust your gut: Bioavailability and bioaccessibility of dietary compounds. *Current Research in Food Science*, 5, 228–233. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.01.002>
- Saeidnia, S., Manayi, A., & Abdollahi, M. (2016). From in vitro Experiments to in vivo and Clinical Studies; Pros and Cons. *Current Drug Discovery Technologies*, 12(4), 218–224. <https://doi.org/10.2174/1570163813666160114093140>
- Santos, D. I., Saraiva, J. M. A., Vicente, A. A., & Moldão-Martins, M. (2019). Methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds and nutrients. In *Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds* (pp. 23–54). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814174-8.00002-0>
- Sawy, H. A. El, Hassan, D. F., & Rizk, A. I. (2022). Effect of natural sources rich in calcium on treated rats induced osteoporosis. *Discover Food*, 2(1), 23. <https://doi.org/10.1007/s44187-022-00023-7>
- Shlisky, J., Mandlik, R., Askari, S., Abrams, S., Belizan, J. M., Bourassa, M. W., Cormick, G., Driller-Colangelo, A., Gomes, F., Khadilkar, A., Owino, V., Pettifor, J. M., Rana, Z. H., Roth, D. E., & Weaver, C. (2022). Calcium deficiency worldwide: prevalence of inadequate intakes and associated health outcomes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1512(1), 10–28. <https://doi.org/10.1111/nyas.14758>
- Syafira, I., Suroyo, R. B., & Utami, T. N. (2020). ANALISIS FAKTOR YANG MEMENGARUHI OSTEOPOROSIS PADA IBU MENOPAUSE DI WILAYAH KERJA PUSKESMAS STABAT KABUPATEN LANGKAT TAHUN 2019. *JUMANTIK (Jurnal Ilmiah Penelitian Kesehatan)*, 5(1), 65. <https://doi.org/10.30829/jumantik.v5i1.6776>
- Vicko, S., Ardiansyah, & Arifah, T. (2023). HEWAN MODEL UJI IN VIVO ANTIKANKER: REVIEW ARTIKEL. *Jurnal Farmasi Aisyah*, 2(1), 7–18. <https://journal.aisyahuniversity.ac.id/index.php/JFA/article/view/HEWANVICKO>
- Wahid, H., Yustisi, A. J., Prayitno, P., & Amir, A. D. L. (2023). Formulasi Serbuk Effervescent Limbah Tulang Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) sebagai Supplement Kalsium Tulang. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 5(5), 643–651. <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.1955>
- Xu, Y., Shrestha, N., Pr eat, V., & Beloqui, A. (2021). An overview of in vitro, ex vivo and in vivo models for studying the transport of drugs across intestinal barriers. *Advanced Drug Delivery*

Reviews, 175, 113795.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.05.005>

Yeum, K.-J., Ju, S., & Choe, U. (2025). Strategies for preventing bone loss in populations with insufficient calcium and vitamin D intake. *Nutrition Research and Practice*, 19(2), 155.
<https://doi.org/10.4162/nrp.2025.19.2.155>

Zhu, B., Hou, T., & He, H. (2020). Calcium-binding casein phosphopeptides-loaded chitosan oligosaccharides core-shell microparticles for controlled calcium delivery: Fabrication, characterization *International Journal of Biological Macromolecules*.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019368631>