

DOI: doi.org/10.21009/SPEKTRA.031.05

PEMBUATAN GRAFT TULANG DENGAN PROSES EKSTRAKSI SENYAWA HIDROKSIAPATIT DARI TULANG KORTEKS SAPI

Anisah^{1a)}, Mutia Delina¹, Nuning Aisah², Dwi Gustiono²

¹Prodi Fisika FMIPA UNJ, Jl. Rawamangun Muka No.1, Jakarta 13220

²Pusat Teknologi Material - BPPT, Gedung 224 kawasan Puspitek Serpong, Tangerang Selatan 15314

Email: ^{a)}niesah8mei@yahoo.com

Abstrak

Pembuatan senyawa hidroksiapatit dari tulang kortek paha sapi dengan proses ekstraksi telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menghilangkan senyawa organik pada tulang sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku graft tulang. Metode yang digunakan adalah metode kimia dengan merendam tulang di dalam larutan Natrium Hidroksida (NaOH). Pengaruh variasi konsentrasi dan waktu perendaman NaOH terhadap proses ekstraksi tulang dikaji. Variasi konsentrasi larutan yang digunakan adalah 1M, 2M dan 3M dengan waktu perendaman 30 menit, 60 menit, dan 90 menit di dalam autoklaf bertekanan 1,5 atm dan temperatur 121°C. Hasil rendaman dianalisa dengan FTIR dan menunjukkan adanya puncak gugus fungsi zat anorganik P-O, CO₃²⁻, dan O-H menyerupai kandungan tulang manusia. Sampel yang direndam pada larutan NaOH pada konsentrasi 1M dan 2M dengan waktu perendaman 30 menit masih ditemukan gugus fungsi C-H, yang mengindikasikan bahwa serbuk hidroksiapatit masih mengandung material organik sehingga beresiko pada reaksi penolakan oleh tubuh manusia saat diimplan. Namun demikian, serbuk hidroksiapatit yang dihasilkan dengan perendaman pada konsentrasi 3M dengan waktu 30 menit sudah tidak mengandung unsur organik, sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku graft tulang.

Kata-kata kunci: hidroksiapatit, kortek tulang sapi, Natrium Hidroksida, ekstraksi, graft tulang.

Abstract

The extraction of hydroxyapatite compounds from thigh bones cortex has been done. This research was aimed to remove the organic substances in the bones, so that it can be maintained as the raw material of a bone graft. The research employed a chemical method, the bone was soaked in the Natrium Hydroxide (NaOH) solution. The effect of various concentration and duration of bone's immersion in NaOH were also studied. The solution's various concentrations were 1M, 2M and 3M, therefore the various of immersion duration were 30 minutes, 60 minutes and 90 minutes in a 1.5 atm autoclave at a temperature of 121°C. The immersion results were studied throughout FTIR. The results showed that there were some peaks of the inorganic P-O, CO₃²⁻ and O-H substance function, correspond to a human bone characteristic. Samples which were immersed in the 1M and 2M of NaOH solution with duration of 30 minutes have yet a C-H functional group. It indicated that the hydroxyapatite powders have yet organic substances, so there is still a risk of rejection by the human body when it is implanted. However, the sample which was immersed in 3M of NaOH solution with duration of 30 minutes has no any organic substances, it can be used as the raw material of a bone graft.

Keywords: Hydroxyapatite, cow bone cortex, Natrium Hydroxide, extraction, bone graft

PENDAHULUAN

Kebutuhan bahan biomaterial graft tulang terus meningkat di Indonesia. Graft tulang digunakan di bidang ortopedik, ophthalmologik dan periodontal untuk proses implantasi. Implantasi merupakan proses penggantian tulang yang rusak untuk membantu proses penyembuhan, penguatan, dan perbaikan fungsi tulang. Contohnya mengganti tulang yang rapuh karena kanker dan penambalan pada gigi berlubang. Graft tulang yang banyak digunakan adalah jenis autograft, allograft, xenograft dan synthetic graft [1]. Autograft dibuat dari tulang pasien itu sendiri. Autograft memiliki kelemahan karena jumlah tulang pada tubuh manusia sangat terbatas. Jika salah satu bagian diambil untuk imlantasi pada bagian tubuh yang lain melalui operasi, maka akan beresiko secara klinis dan berakibat pada kematian. Allograft dibuat dari tulang individu lain dari spesies yang sama, misalnya tulang dari donor manusia yang masih hidup maupun dari donor jenazah. Allograft memiliki resiko autoimun, yaitu penolakan karena sistem kekebalan tubuh manusia. Xenograft dibuat dari spesies yang berbeda, misalnya dari limbah tulang ikan [2], limbah tulang paha sapi [3] dan limbah kerang hijau [4]. Synthetic graft dibuat dari bahan sintetik.

Bahan biomaterial graft tulang yang sering digunakan adalah hidroksiapatit (Hap) atau kalsium hidroksiapatit. Hidroksiapatit merupakan jenis material apatit $[M_{10}(XO_4)_6Z_2]$ dengan rumus kimia $Ca_{10}(PO_4)_6OH_2$ [5]. Harganya sangat mahal karena masih di impor dari Jepang dan Korea. Hidroksiapatit baru harus dikembangkan untuk mendapatkan bahan graft tulang yang berkuwalitas dengan harga yang murah. Dengan menggunakan bahan lokal Indonesia biaya dapat ditekan. Salah satunya adalah dengan memanfaatkan tulang sapi. Tulang sapi sangat mudah ditemukan, karena sapi merupakan salah satu hewan ternak yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Hampir seluruh bagian tubuh sapi dapat dimanfaatkan; daging untuk dimakan, susu untuk diminum, kulit untuk bahan baku tas dan lain sebagainya. Namun demikian tulang sapi belum banyak gunakan dan hanya menjadi limbah. Padahal tulang sapi juga mengandung apatit.

Penelitian ini menggunakan limbah tulang sapi khususnya bagian paha untuk bahan baku graft tulang hidroksiapatit (xenograft), sehingga diperoleh bahan biomaterial graft tulang dengan harga yang murah. Hidroksiapatit yang dihasilkan harus memiliki sifat biokompatibel, osteokonduktif, bioaktif, tidak toksik dan tidak menyebabkan immonologi [6]. Biokompatibel artinya graft tulang dapat menyesuaikan dengan tubuh manusia dan tidak menyebabkan imunologi atau reaksi penolakan dari sistem kekebalan tubuh manusia. Osteokonduktif artinya graft tulang dapat menstimulasi pembentukan dan pertumbuhan tulang. Sedangkan bioaktif artinya bahan graft tulang dapat menyatu dengan tulang manusia dengan membentuk suatu lapisan apatit biologis sehingga terbentuk ikatan kimia langsung dengan tulang [7].

Hidroksiapatit dapat diekstrak dari tulang paha sapi dengan menggunakan beberapa metode, yaitu metode hidrotermal [8], presipitasi [5], sub-critical water [9], dan hidrolisis dengan basa. Proses ekstraksi bertujuan untuk menghilangkan zat-zat organik di dalam tulang seperti protein dan lemak. Setiap tulang mengandung sekitar 65% - 70% hidroksiapatit dan 30% - 35% zat organik (pada keadaan berat basah) [9]. Penelitian tentang pengekstraksian hidroksiapatit dari tulang sapi yang telah dilakukan, antara lain oleh Aida melakukan ekstraksi hidroksiapatit dari tulang paha sapi dengan metode kombinasi ultrasonik dan spray drying [10], Hilmi melakukan ekstraksi hidroksiapatit dari tulang paha sapi dengan metode kalsinasi dan menghasilkan hidroksiapatit kristalin [11]. Penelitian ini mengekstrak tulang paha sapi bagian korteks menggunakan metode hidrolisis basa kuat dengan variasi konsentrasi dan waktu perendaman tulang.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang dilakukan adalah hidrolisis atau merendam tulang paha sapi pada larutan basa kuat. Langkah yang dilakukan adalah mengambil bagian korteks tulang paha sapi, membuang kanselusnya, dan memotong sampel dengan ukuran 1 x 2 cm. Selanjutnya tulang paha sapi dicuci

bersih dengan air untuk menghilangkan sisa sum-sum tulang, daging, dan kotoran yang masih menempel. Untuk menghilangkan senyawa organik (protein dan lemak), tulang paha sapi diekstraksi sehingga diperoleh senyawa anorganik berupa mineral apatit.

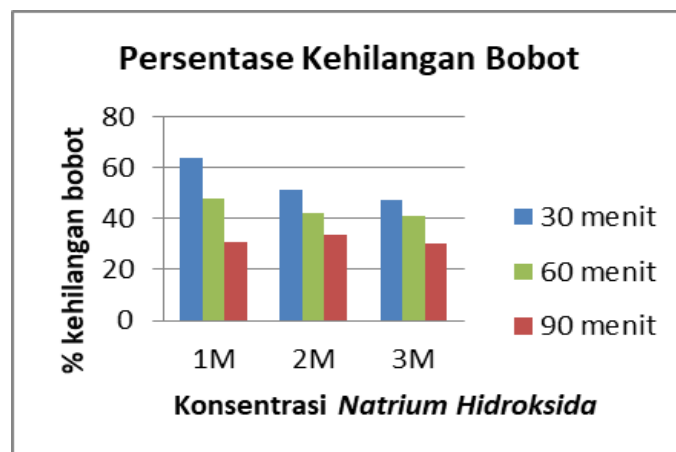
Cara menghilangkan lemak pada tulang sapi adalah dengan mengsonifikasi tulang tersebut selama 1 jam. Selanjutnya tulang direndam dalam larutan metanol-kloroform (perbandingan 1:1) selama 6 jam. Tulang kemudian direbus dalam aquades selama 5 jam dan di presto selama 3 jam.

Untuk menghilangkan protein atau deproteinisasi, tulang direndam pada larutan NaOH. Pada penelitian ini 10gram tulang direndam dalam 100 ml larutan NaOH dengan variasi konsentrasi larutan yaitu 1M, 2M, dan 3 M. Lama waktu perendaman untuk masing-masing sampel adalah 30 menit, 60 menit, dan 90 menit. Perendaman dilakukan dalam autoklaf pada temperatur 121°C bertekanan 1,5 atm. Kemudian sampel dinetralkan sebanyak 4 sampai dengan 7 kali penetralan menggunakan aquadest hingga mencapai ph 7, dan disaring menggunakan Buchner.

Tulang paha sapi hasil deproteinasi dikeringkan pada temperatur 80°C selama 24 jam di dalam oven untuk menghilangkan kandungan air yang masih terdapat pada tulang. Tulang yang sudah kering lalu digerus dengan menggunakan alu dan mortar hingga berbentuk serbuk. Sampel ini kemudian di uji dengan Fourier Transform InfraRed (FTIR) untuk mengetahui karakteristik gugus fungsi dari hidroksiapatit yang telah terbentuk dari ekstraksi tulang paha sapi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah melalui proses ekstraksi dengan variasi konsentrasi Natrium Hidroksida 1M, 2M, dan 3M dengan lama waktu perendaman masing-masing 30 menit, 60 menit dan 90 menit, tulang korteks paha sapi kehilangan bobotnya. Hasil pengukuran bobot dapat dilihat pada gambar 1. Tulang korteks paha sapi kehilangan bobot paling besar pada perendaman dengan waktu 30 menit, yaitu rata-rata 54,02978%. Sedangkan pada perendaman dengan waktu 60 menit dan 90 menit, persentase kehilangan bobot tulang rata-rata sebesar 43,70607% dan 31,61263%. Hasil menunjukkan bahwa semakin lama waktu perendaman tulang maka akan semakin sedikit bobot yang hilang.



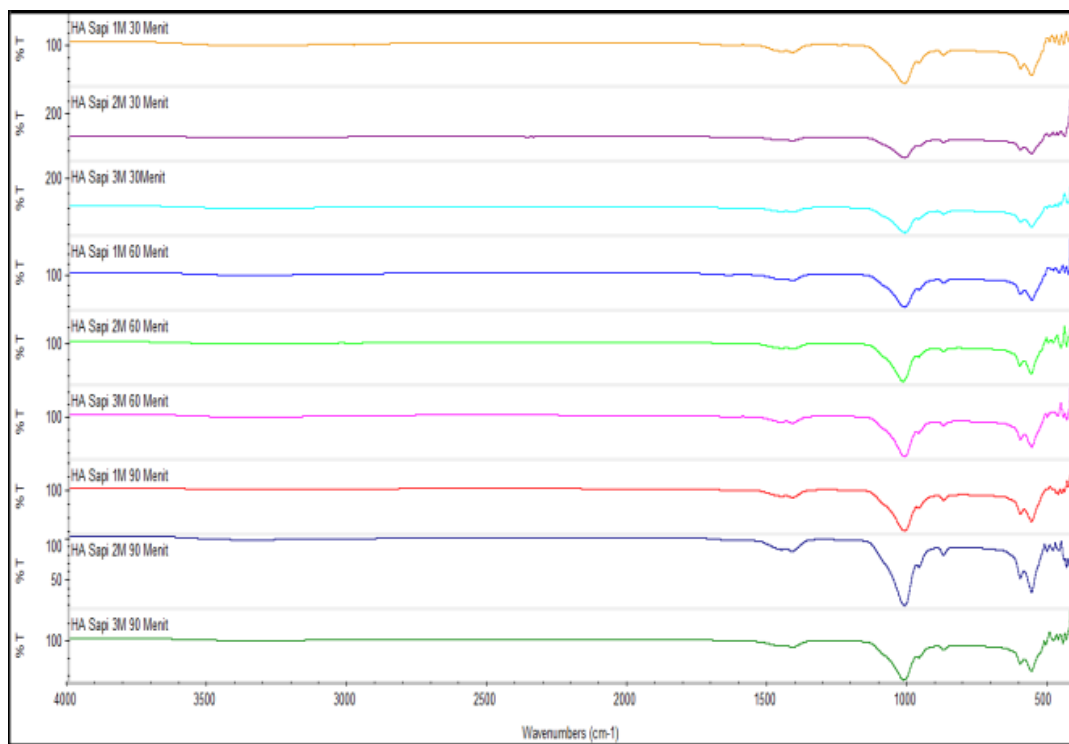
GAMBAR 1. Persentase kehilangan bobot tulang setelah perendaman.

Gambar 2 menunjukkan hasil pengujian FTIR dari gugus fungsi serbuk tulang paha sapi yang telah direndam dalam NaOH konsentrasi 1M, 2M, dan 3M dengan variasi waktu perendaman 30 menit, 60 menit, dan 90 menit. Semua sampel memiliki gugus fungsi yang relatif sama yaitu gugus hidroksida (OH), gugus fosfat (PO₄), dan gugus karbonat (CO₃) yang merupakan zat anorganik dari serbuk tulang sapi. Wave number dari puncak gugus hidroksida (OH), gugus fosfat (PO₄), dan gugus karbonat (CO₃) dapat dilihat pada tabel 1.

TABEL 1. Tabel bilangan gelombang hasil uji FTIR

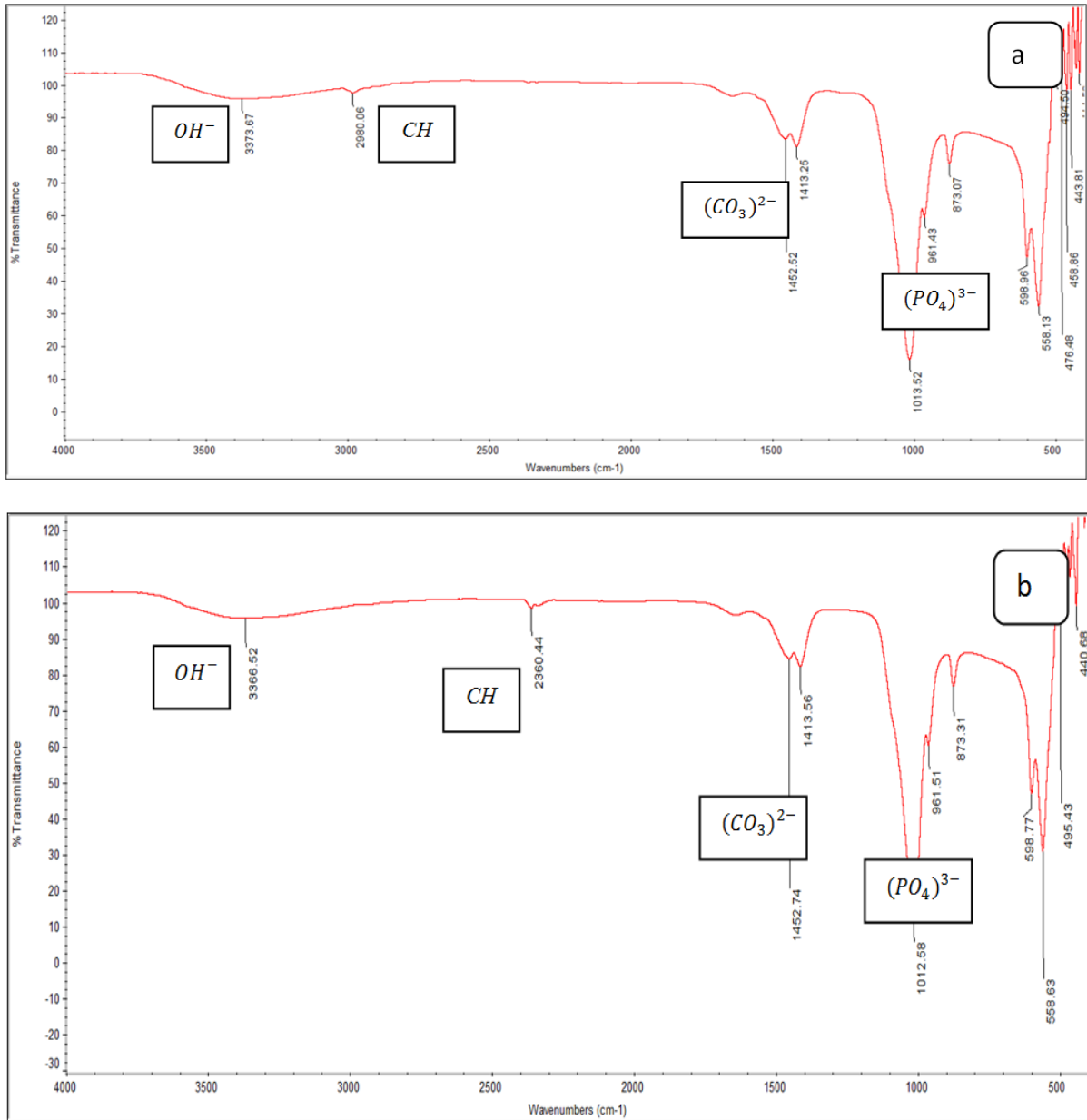
Identifikasi gugus fungsi	Daerah wave number (cm ⁻¹)	Wave Number (cm ⁻¹)								
		30 menit (1M)	30 menit (2M)	30 menit (3M)	60 menit (1M)	60 menit (2M)	60 menit (3M)	90 menit (1M)	90 menit (2M)	90 menit (3M)
Gugus Hidroksil	3600 – 3200	3373,67	3366,52	3363,13	3379,97	3392,69	3361,11	3379,81	3360,67	3376,54
Gugus Fosfat	1100 - 950	1013,52	1012,58	1011,88	1012,73	1018,66	1012,83	1013,32	1013,05	1015,10
Gugus Karbonat	1450 - 1400	1452,52	1452,74	1452,85	1452,52	1452,20	1452,83	1413,41	1413,35	1413,18

Dari hasil uji FTIR terlihat bahwa serbuk tulang sapi yang telah melalui proses perendam pada larutan NaOH dengan konsentrasi 1M dan 2M selama 30 menit memiliki spektrum yang sedikit berbeda, yaitu munculnya *wave number* 2980,06 cm⁻¹ dan 2360,44 cm⁻¹. Hal ini mengindikasikan masih adanya zat organik pada serbuk tulang yang dapat menyebabkan reaksi penolakan pada saat diimplan dalam tubuh manusia.



GAMBAR 2. Spektrum hasil uji FTIR serbuk tulang sapi gabungan

Pada hasil uji FTIR juga terdapat serapan khas dari karbonat (CO₃)²⁻ yaitu vibrasi bending/tekek C-O pada *wave number* 873,29; 873,21; 873,35; 873,48; 873,23; 873,34; 873,49 cm⁻¹. Kemudian terdapat pula serapan fosfat PO₄³⁻ yaitu vibrasi tekek asimetris P-O pada *wave number* 558,23; 558,48; 560,32; 558,46; 559,22; 558,98; 559,51 cm⁻¹. Jenis hidroksiapatit yang terbentuk yaitu hidroksiapatit karbonat. Unsur karbonat biasa terbentuk pada hidroksiapatit yang berasal dari sumber biologi. Unsur karbonat yang terdapat pada hidroksiapatit menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki sifat bioaktif yang baik [12].



GAMBAR 3. Spektrum hasil uji FTIR serbuk tulang sapi konsentrasi NaOH waktu 30 menit (a) 1M dan (b) 2M.

SIMPULAN

Senyawa hidroksiapatit berhasil diekstraksi dari tulang korteks paha sapi. Tulang korteks diekstraksi dengan perlakuan perendaman pada larutan NaOH selama 30, 60 dan 90 menit dengan variasi konsentrasi 1M, 2M dan 3M. Hasil pengujian FTIR menunjukkan gugus-gugus fungsi zat anorganik yang terbentuk serupa dengan penyusun tulang manusia. Pada ekstraksi dengan perlakuan perendaman larutan NaOH 1M dan 2M selama 30 menit masih terdapat zat organik sehingga belum dapat digunakan sebagai bahan graft tulang karena beresiko pada penolakan tubuh manusia saat diimplan. Sedangkan perendaman tulang korteks pada larutan NaOH dengan konsentrasi 3M selama 30 menit sudah tidak mengandung unsur organik, sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku graft tulang.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Pusat Teknologi Material BPPT, Universitas Negeri Jakarta, dan BATAN atas fasilitas dan dukungannya selama proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Wirata, I. W, “Bahan Cangkok Demineralized Freeze-Dried Bovine Bone Xenograft (DFDBBX) Dan Hydroxyapatite Bovine Bone Xenograft”, Denpasar, Indonesia: Skripsi, Universitas Udayana, 2016.
- [2] M. Boutinguiza, J. R, “Biological hydroxyapatite obtained from fish bones”. Elsevier Material Science and Engineering, 2011.
- [3] Hardja, W. K, “Karakterisasi Sifat Fisika dan Kimia Tulang Korteks Sapi (*Bos sondaicus*) Hasil Pemanasan yang akan Digunakan untuk Transplantasi Graft Tulang”, Jakarta, Indonesia: Skripsi, Universitas Pancasila, 2012.
- [4] Sugandi, Siregar, H. A., & Darsini, E, “Pemanfaatan Cangkang Kerang Hijau (*Pernia viridis* L.) sebagai Bone Substitute Berporogen Selulosa Nata De Coco”, Bogor, Indonesia: Institut Pertanian Bogor, 2014.
- [5] Purwasmita, B. S & Gultom, R. S, “Sintesis dan Karakterisasi Serbuk Hidroksiapatit Skala Sub-Mikron Menggunakan Metode Presipitasi”. Jurnal Bionatura, 2008.
- [6] Sobczak, A, Kowalski, Z & Wzorek, Z. “Preparation of Hydroxyapatite from Animal Bones”. Acta of Bioengineering and Biomechanics, 2009.
- [8] Baco, S. Bambang, L., Joseph, N., Yassin, M. F., & Basri, N. F. “Structural and Composition of Natural Hydroxyapatite (HA) at Different Sintering Temperatures”. Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences. Malaysia, 2013.
- [9] Barakat, N. A., Khil, M. S., Omran, A., Sheikh, F. A., & Kim, Y. H. “Extraction of Pure Natural Hydroxyapatite from the Bovine Bones Bio Waste by Three Different Methods”. Journal of Materials Processing Technology. 2008.
- [10] P., A. R. “Preparasi Hidroksiapatit dari Tulang Sapi dengan Metode Kombinasi Ultrasonik dan Spray Drying”. Skripsi. Depok, Indonesia: Universitas Indonesia, 2012.
- [11] Hilmi, R., & M, H. “Synthesis of HYdroxyapatite from Local Bovine Bones for Biomedical Application,” International Conference on Instrumentation, Communication, Information Technology and Biomedical Engineering, 2011.
- [12] Sokowati, W. “Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Hidroksiapatit dari Tulang Korteks Sapi (*Bos taurus*)”. Jakarta, Indonesia: Skripsi. Universitas Pancasila, 2014.