

PEMANFAATAN LIMBAH CANGKANG TELUR AYAM DAN BEBEK SEBAGAI SUMBER KALSIMUM UNTUK SINTESIS MINERAL TULANG

THE USE OF HEN'S AND DUCK'S EGGSHELL AS CALSIUM SOURCE TO SYNTHESIS BONE MINERAL

A.Nurlaela¹, S.U. Dewi², K. Dahlan², D.S. Soejoko^{3*}

¹Program pendidikan Fisika, Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan,
Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

²Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor

³Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Indonesia

Diterima: 16 September 2013. Disetujui: 07 November 2013. Dipublikasikan: Januari 2014

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk membuat biomaterial substitusi tulang yang menyerupai komposisi tulang sebenarnya, yang terdiri dari mineral inorganik (apatit) dan bahan organik sebagai matriks. Pada penelitian ini metode presipitasi digunakan dalam pembuatan komposit apatit-kitosan dengan menggunakan cangkang telur ayam dan bebek sebagai sumber kalsium dan KH_2PO_4 sintetik sebagai sumber posfat. Cangkang telur dan KH_2PO_4 sebagai mineral inorganik tulang, sedangkan matriks organik yang digunakan adalah kitosan dari kulit udang. Cangkang telur ayam dan bebek dikalsinasi untuk menghilangkan semua komponen karbonat (CO_3) sehingga didapatkan CaO sebagai sumber kalsium. Komposit apatit-kitosan dibuat dengan menumbuhkan senyawa kalsium posfat pada matriks dengan metode *ex situ*. Sampel yang dihasilkan selanjutnya dikeringkan pada suhu 50 °C. Karakteristik sampel selanjutnya dianalisis menggunakan *X-ray Diffraction (XRD)* dan *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy*. Pola XRD sampel memperlihatkan adanya puncak-puncak difraksi untuk kristal apatit. Data tersebut didukung oleh spektrum FTIR yang memperlihatkan puncak transmitansi dari fosfat dan karbonat dari kristal apatit.

ABSTRACT

This study aimed to develop bone substituted biomaterial consisting of inorganic mineral (apatite) and organic material as matrix. In this study, a precipitation method of apatite-chitosan composite synthesis has been used using hen's and duck's eggshell as calcium source and synthetic KH_2PO_4 as phosphate source. The eggshell and KH_2PO_4 act as inorganic mineral, whereas organic matrix used was chitosan originated from shrimp shell. The eggshell was calcinated to decompose all the carbonate (CO_3) phases. To produce the composite, calcium phosphates were grown on organic matrix of chitosan using *ex situ* method. The result samples were further dried at 50 °C. Characteristic of the samples were performed using X-ray Diffraction (XRD) and Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. The XRD profile illustrated specific diffraction angles at peaks of apatite crystals. This data were supported by FTIR spectra that showed transmittance peak of phosphates and carbonates from apatites.

© 2014 Jurusan Fisika FMIPA UNNES Semarang

Keywords: Eggshell; apatite crystal; precipitation; calcinations.

*Alamat Korespondensi:
Jl. Ir.H. Juanda No. 95 Ciputat 15412 Indonesia.
E-mail: ai.nurlaela@gmail.com

PENDAHULUAN

Tulang merupakan salah satu organ tubuh yang sangat penting bagi manusia. Betapa vitalnya fungsi tulang dalam tubuh, sehingga apabila terjadi kerusakan maka fungsi tubuh otomatis terhambat. Namun demikian, pada kenyataannya kasus kerusakan tulang banyak terjadi di dunia termasuk di Indonesia. Kerusakan tulang dapat dipicu oleh usia maupun faktor pola makan yang tidak sehat, selain itu kasus kerusakan tulang juga dipicu oleh maraknya kasus kecelakaan dan bencana alam, faktor kelahiran, infeksi dan tumor.

Menghadapi permasalahan di atas, maka berkembang berbagai riset terutama berkaitan dengan biomaterial substitusi tulang. Beberapa teknik substitusi tulang yang dikenal selama ini antara lain *autograft*, substitusi tulang menggunakan bagian tulang yang lain dari orang yang sama. Metode ini dapat menimbulkan kerugian pada pasien seperti rasa sakit berlebih pasca operasi, meningkatkan jumlah darah yang hilang, menimbulkan luka akibat adanya pembedahan kedua serta dapat beresiko pada trombosit. *Allograft*, substitusi dengan memanfaatkan biomaterial yang berasal dari tulang manusia lain, metode ini dapat mengatasi kelemahan metode sebelumnya, tetapi berpeluang untuk menimbulkan transmisi berbagai penyakit apabila tulang donor tidak sehat. *Xenograft*, implantasi bagian tubuh dari spesies yang berbeda, misalnya tulang yang berasal dari sapi. Metode ini dikenal mudah, murah, serta ketersediannya tidak terbatas. Namun demikian perbedaan karakter mineral tulang menjadi salah satu kelemahan metode ini (Magdalena, 2007 dan Ooi dkk, 2007). Biomaterial sintetis merupakan alternatif yang dapat mengatasi keterbatasan beberapa metode di atas. Penggunaan bahan sintetis pada substitusi tulang tidak akan menimbulkan peradangan serta tidak menyebabkan respon iritasi (Ooi dkk, 2007 dan Schnettler dkk, 2004)

Para peneliti meyakini bahwa penggunaan bahan alami dalam pembuatan biomaterial substitusi tulang lebih dapat diterima oleh tubuh, karena kesamaan sifat fisiko kimia dengan tulang sebenarnya (Sivakumar dkk, 1996 dan Garetta dkk, 2002). Beberapa penelitian di negara lain telah memanfaatkan bahan alam seperti batu koral, ganggang laut dan cangkang telur ayam (Felicio dkk, 2000 dan Prabakaran dkk, 2005). Pada penelitian ini, peneliti memanfaatkan limbah cangkang telur ayam dan bebek sebagai sumber kalsium (Ca) karena cangkang telur

mengandung 94-97 % CaCO_3 . Selain itu, karena ketersediannya sangat melimpah serta harganya yang sangat murah.

Serbuk biomaterial substitusi tulang perlu dikompositkan dengan matriks organik, untuk memenuhi syarat sebagai material substitusi tulang, mengingat tulang itu sendiri merupakan komposit alami yang terdiri dari bahan organik dan inorganik, yaitu 30% bahan organik, 55% bahan inorganik dan 15% air (Prabakaran dkk, 2005 dan Sari dkk, 2008). Substansi inorganik tulang dikenal sebagai fase mineral tulang dengan komponen utamanya adalah kristal hidroksiapatit (HAP) (Schnettler dkk, 2005). Secara stoikiometri, rumus kimia HAP adalah $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ dengan struktur kristal padat heksagonal dan rasio perbandingan Kalsium terhadap Posfat (Ca/P) sama dengan 1,67 (Sari dkk, 2008).

Mineral tulang dalam jaringan makhluk hidup disebut apatit biologi. Apatit dalam jaringan makhluk hidup ini mengandung banyak karbonat (CO_3^{2-}). Ion CO_3^{2-} dapat menggantikan gugus posfat (PO_4^{3-}) atau hidroksil (OH^-) pada HAP, sehingga menghasilkan mineral apatit yang nonstoikiometri (Sari dkk, 2008 dan Pleshko dkk, 1991). Senyawa kalsium posfat yang memiliki karakteristik yang sama dengan mineral tulang, seperti HAP inilah yang disintesis pada penelitian ini dengan menggunakan cangkang telur ayam dan bebek sebagai sumber kalsium (Ca) dan KH_2PO_4 sintetis sebagai sumber Posfat (PO_4^{3-}). Senyawa kalsium posfat ini memiliki sifat kimia yang sama dengan senyawa kalsium posfat yang ditemukan dalam tulang, sehingga dapat digunakan sebagai bahan substitusi tulang (Deepak dkk, 2005).

Sementara itu, material yang akan digunakan sebagai matriks dalam pembuatan biomaterial komposit substitusi tulang haruslah memiliki sifat antara lain tidak beracun, osteo-konduktif, *biocompatible*, *biodegradable* dan tidak karsinogenik. Salah satu bahan alam yang melimpah di Indonesia serta memiliki karakter yang telah disebutkan adalah kitosan. Dalam penelitian ini kitosan yang digunakan adalah kitosan yang berasal dari limbah kulit udang.

Beberapa metode dapat dipakai dalam pembuatan HAP, yaitu *conventional wet synthesis*, *solid-state reaction*, *hydrothermal exchange process* dan kalsinasi termal kerangka tulang (Sivakumar dkk, 1996 dan Garetta dkk, 2002 dan Prabakaran dkk, 2005). Pada 1995 M. Sivakumar dkk telah berhasil mengubah kalsium karbonat yang berasal dari batu koral menjadi HAP melalui proses *hy-*

drothermal exchange (Sivakumar dkk, 1996). Pada 1999 G. Felicio dkk telah membuat HAP nonstoikiometri dari CaCO_3 yang berasal dari ganggang laut pantai Brazil dengan metode sintesis hidrotermal (Felicio dkk, 2000). Prabakaran dkk telah berhasil mensintesis HAP stoikiometri dengan Ca/P 1,67 dengan memanfaatkan cangkang telur ayam sebagai sumber kalsium dan asam posfat sebagai sumber posfat melalui metode presipitasi (Prabakaran dkk, 2005)

METODE

Kalsinasi Cangkang Telur Ayam dan Bebek

Cangkang telur ayam dan bebek dibersihkan di air yang mengalir dan bagian membrannya dipisahkan. Setelah itu, cangkang telur dikeringkan pada temperatur ruangan. Selanjutnya kalsinasi dilakukan pada temperatur 1000°C selama 5 jam untuk menghilangkan komponen organik dan mengubah kalsium karbonat (CaCO_3) menjadi kalsium oksida (CaO). Cangkang telur hasil kalsinasi dikarakterisasi dengan XRD untuk memastikan bahwa CaCO_3 pada cangkang telur ayam dan bebek telah berubah menjadi CaO .

Sintesis Apatit

Apatit disintesis dengan metode presipitasi secara *in situ*, dengan meneteskan larutan KH_2PO_4 (0,5 M) ke dalam larutan CaO (0,3 M) dan diaduk dengan *magnetic stirrer*. Suhu selama presipitasi dan pengadukan dijaga konstan pada temperatur 37°C . Setelah presipitasi, proses pengadukan dilanjutkan selama 30 menit. Selanjutnya, larutan hasil presipitasi *aging* (disimpan) selama 12 jam. Larutan hasil *aging* kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring untuk mendapatkan endapan yang berwarna putih. Setelah itu, endapan hasil penyaringan dipanaskan dalam *furnace* pada temperatur 110°C selama 3 jam, sehingga diperoleh serbuk berwarna putih. Serbuk putih tersebut selanjutnya dikarakterisasi dengan XRD dan FT-IR.

Sintesis Komposit Apatit-Kitosan

Tulang merupakan komposit alami yang terdiri dari bahan inorganik (mineral tulang), yaitu apatit dan bahan organik sebagai matriks. Karena itu, pada penelitian ini setelah sintesis apatit dilanjutkan dengan pembuatan komposit antara apatit dalam hal ini sebagai mineral tulang dengan kitosan dari limbah udang dalam hal ini sebagai bahan organik. Pembentu-

kan komposit apatit-kitosan dilakukan dengan presipitasi secara *ex situ*, yaitu larutan kitosan dengan asam asetat 3% dipresipitaskan pada larutan hasil sintesis apatit pada langkah sebelumnya, dengan penambahan kitosan sebanyak 20% (b/b). Sebagai kontrol, dibuat juga sampel tanpa ada penambahan kitosan.

Selanjutnya sampel didiamkan pada suhu ruang selama 12 jam. Setelah itu, sampel disaring dengan kertas saring untuk memisahkan endapan yang terbentuk dari cairan. Endapan yang tertinggal di kertas saring dikeringkan pada *incubator* dengan suhu 50°C hingga endapan mengering.

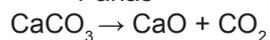
Karakteristik sampel dianalisis melalui *X-Ray Diffraction* (XRD) untuk mengetahui fasa yang terdapat pada sampel. Gugus-gugus yang terkandung pada sampel dianalisis dengan analisis FTIR

HASIL DAN PEMBAHASAN

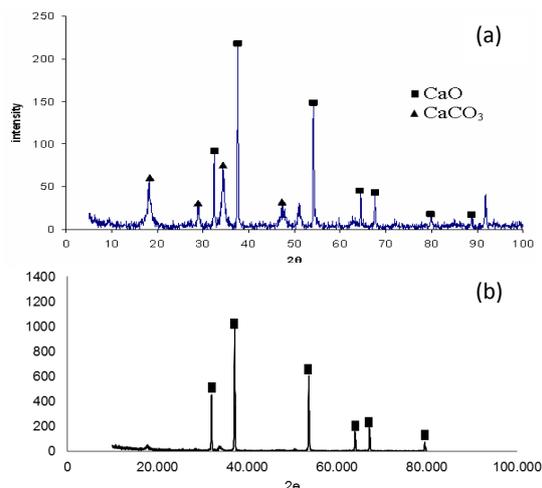
Kalsinasi Cangkang Telur Ayam dan Bebek pada Suhu 1000°C Selama 5 jam

Proses kalsinasi cangkang telur perlu dilakukan sebelum cangkang telur digunakan sebagai sumber kalsium (Ca), agar terjadi pelepasan seluruh senyawa organik dan pelepasan CO_2 melalui reaksi

Panas



Proses kalsinasi mengakibatkan massa cangkang telur berkurang. Dari cangkang telur ayam diperoleh 65,67% (b/b) serbuk hasil kalsinasi, sedangkan dari cangkang telur bebek diperoleh 55,02% (b/b). Gambar 1 memperlihatkan pola XRD serbuk cangkang telur ayam dan bebek hasil kalsinasi. Analisis XRD pada cangkang telur ayam dan bebek hasil kalsinasi ini untuk melihat dan memastikan bahwa CaCO_3 pada cangkang telur sudah berubah menjadi CaO . Pada cangkang telur ayam terdapat puncak-puncak difraksi CaCO_3 dan CaO , hal ini mengindikasikan bahwa masih ada CaCO_3 yang tidak berubah menjadi CaO . Sementara pada cangkang telur bebek pola difraksi secara nyata hanya diperlihatkan oleh puncak difraksi CaO , puncak difraksi CaCO_3 bisa dikatakan tidak nampak. Dengan kata lain, hasil kalsinasi dari cangkang telur bebek telah dapat merubah hampir semua CaCO_3 menjadi CaO . Dapat dikatakan bahwa kemurnian CaO pada serbuk cangkang telur bebek lebih tinggi dari cangkang telur ayam.

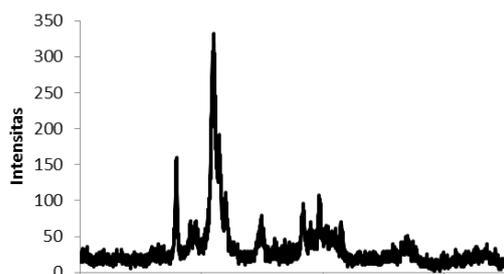


Gambar 1. Pola XRD serbuk cangkang telur (a) ayam; (b) bebek hasil kalsinasi pada suhu 1000°C selama 5 jam

Presipitasi Senyawa Kalsium Fosfat dan Pembuatan Komposit Apatit-Kitosan Secara *Ex situ*

Presipitasi dilakukan pada suhu 37°C sebanyak tiga kali ulangan. Massa presipitan yang dihasilkan pada sampel dengan sumber kalsium cangkang telur ayam mengalami kenaikan ketika dikompositkan dengan kitosan, begitupun sampel dengan sumber kalsium cangkang telur bebek kenaikan massa presipitan terjadi saat sampel dikompositkan dengan kitosan. Kenaikan massa presipitan mengindikasikan adanya ikatan antara kristal apatit dengan kitosan.

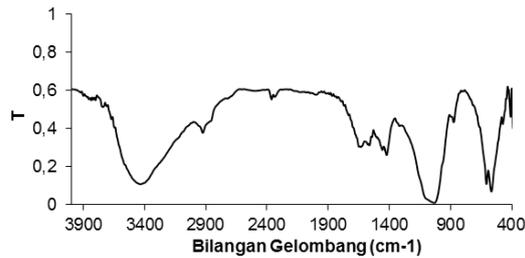
Hasil analisis XRD pada semua sampel menunjukkan pola XRD sama, yang memperlihatkan karakter kristal apatit. Berdasarkan penyesuaian dengan data JCPDS 9-432 (HAP), JCPDS 35-180 (AKA) dan JCPDS 19-272 (AKB), semua sampel dengan sumber Ca dari cangkang telur ayam dan bebek memiliki pola XRD yang didominasi oleh puncak-puncak kristal hidroksiapatit (HAP) dan kristal apatit karbonat tipe B (AKB). Pola XRD sampel komposit apatit-kitosan diperlihatkan oleh Gambar 2.



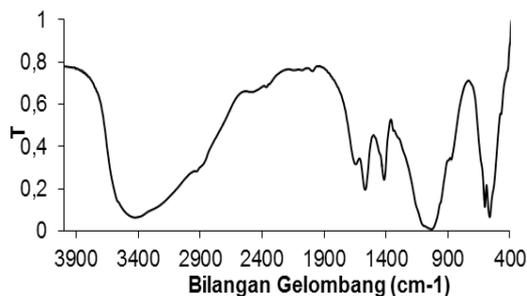
Gambar 2. Pola XRD sampel komposit apatit-kitosan

Senyawa kalsium fosfat berbentuk kristal hadir dalam empat fase, yaitu dikalsium fosfat (DKFD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), okta kalsium fosfat (OKF, $\text{Ca}_8\text{H}_2\text{PO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), trikalsium fosfat (TKF, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) dan hidroksi apatit (HAP, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). HAP merupakan kristal paling stabil dibandingkan empat fase lain dengan nilai perbandingan Ca/P sebesar 1,67. Kristal ini memiliki struktur heksagonal dengan parameter kisi $a = b = 9,423 \text{ \AA}$ dan $c = 6,881 \text{ \AA}$ dengan sudut $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ (Ooi dkk, 2007 dan Sivakumar dkk, 1996). Keberadaan ion karbonat (CO_3^{2-}) dapat mensubstitusi formula HAP dalam dua posisi pada apatit biologi, apabila mensubstitusi OH^- disebut apatit karbonat tipe A (AKA), bila mensubstitusi $(\text{PO}_4)^{3-}$ disebut apatit karbonat tipe B (AKB). Keberadaan puncak difraksi AKB pada sampel komposit apatit-kitosan mengindikasikan masuknya sejumlah ion karbonat pada sampel.

Keberadaan ion karbonat pada kristal komposit apatit-kitosan diperkuat oleh hasil analisis *fourier transform infra red* (FTIR) (Gambar 3). Pada kristal HAP spektra hasil analisis FTIR biasanya ditunjukkan dengan pita absorpsi hasil mode vibrasi gugus fosfat (PO_4) dan hidroksil (OH). Sedangkan pada apatit biologi, substitusi PO_4^{3-} ataupun OH^- oleh ion karbonat (CO_3^{2-}) menyebabkan adanya pita absorpsi CO_3^{2-} , meskipun dalam jumlah yang sedikit. Sampel pada penelitian ini memperlihatkan pola karakteristik kristal apatit biologi, hal ini ditunjukkan dengan adanya pola yang tajam pada bilangan gelombang hasil mode vibrasi gugus PO_4 (ν_3) pada bilangan gelombang sekitar 1033 cm^{-1} , PO_4 (ν_4) pada 565 dan 604 cm^{-1} , CO_3 (ν_2) pada 873 cm^{-1} , CO_3 (ν_3) pada 1422 dan 1461 cm^{-1} dan OH permukaan pada 1633 dan 3432 cm^{-1} . Pola FTIR untuk kristal HAP diperlihatkan dengan adanya split pada pita absorpsi PO_4 pada bilangan gelombang $600\text{-}800 \text{ cm}^{-1}$. Bentuk asimetri pada pola FTIR pada pita serapan sekitar bilangan gelombang 1000 cm^{-1} semakin memperkuat pola XRD bahwa sampel yang dihasilkan pada penelitian ini adalah berbentuk kristal.



Gambar 3. Spektrum FTIR sampel komposit apatit-kitosan dengan sumber Ca cangkang telur ayam



Gambar 4. Spektrum FTIR sampel komposit apatit-kitosan dengan sumber Ca cangkang telur bebek

PENUTUP

Berdasarkan hasil analisis XRD, kemurnian CaO dari hasil kalsinasi cangkang telur bebek lebih tinggi daripada cangkang telur ayam. Dari cangkang telur ayam diperoleh 65,67% (b/b) serbuk hasil kalsinasi, sementara dari cangkang telur bebek diperoleh 55,02% (b/b). Massa presipitan mengalami penambahan setelah presipitan dikompositkan dengan kitosan dengan penambahan kitosan sebanyak 20% (b/b). Hal ini mengindikasikan terjadinya ikatan antara apatit dengan kitosan.

Hasil analisis XRD pada sampel memperlihatkan pola XRD Kristal apatit dengan puncak difraksi dominan adalah HAP dan AKB. Begitu pula hasil analisis FTIR menunjukkan pola serapan apatit biologi yang ditandai dengan adanya pita serapan OH, PO₄ dan CO₃. Dengan demikian, cangkang telur ayam dan bebek merupakan sumber kalsium yang dapat digunakan dalam pembuatan biomaterial substitusi tulang. Dari penelitian ini belum diketahui sifat mekanik dari biomaterial yang dihasilkan, karena itu agar perbedaan sifat komposit dan kristal apatit diketahui secara lebih signifikan perlu dilakukan uji mekanik. Sementara itu,

untuk mengetahui kemampuan adaptasi komposit dengan jaringan tubuh perlu dilakukan uji *in vitro* dan *in vivo*

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada DIKTI yang telah menyokong dana dalam penelitian ini melalui program Beasiswa Unggulan DIKTI.

DAFTAR PUSTAKA

- Deepak K, Pattanayak, Divya P, Upadhyay Sujal, Prasad R.C., Rao B.T., dan Rama Mohan T.R. 2005. Synthesis and Evaluation of Hydroxyapatite Ceramics. *Journal of Trends Biomater. Artif. Organs*, 18 (2): 87-92.
- Felicio G, Laranjeira C.M. 2000. Calcium Phosphate Biomaterials from Marine Algae, Hydrothermal Synthesis and Characterisation. *Journal of Quimica Nova*, 23: 41-445.
- Garetta E, Fernandez T, Borros S, Esteve J, Colominas C, dan Kempf L. 2002. Synthesis of Biocompatible Surfaces by Different techniques. *Journal of Mat. Res. Soc. Symp. Proc.*, 724: N8.11.1-N8.11.6.
- Magdalena, M. 2007. *Tulang Buatan dikembangkan Ilmuwan Dalam Negeri*. Sinar Harapan. [20 November 2007].
- Ooi C.Y., Hamdi M, Ramesh S. 2007. Properties of Hydroxyapatite Produced by Annealing of Bovine Bone. *Journal of Ceramics International*, 33: 1171-1177.
- Pleshko N, Boskey A, dan Mendelshon R. 1991. Novel Infrared Spectroscopic Method for the Determination of Crystallinity of Hydroxyapatite Minerals. *Journal of Biophysical society*, 60: 786-793.
- Prabakaran K, Balamurugan A, Rajeswari S. 2005. Development of Calcium Phosphate based Apatite from Hen's Eggshell. *Journal of Bull. Mater. Sci*, 28: 115-19.
- Sari Y.W, Maddu A, Dahlan K, Fajriyah H.I, Dewi S.U, dan Soejoko D.S. In Situ Synthesis of Composite of Calcium Phosphate Carbonate-Polyglycolide. *Journal of Nanosaintek* 2008, Vol X No Y: 1-4.
- Schnettler R, Reinhard, Stahl, Jens, Alt, Volker, Pavlidis, Theodoros, Elvira, Wenisch, dan Sabine 2004. Calcium Phosphate-Based Bone Substitutes. *Journal of Eur J Trauma*, 30: 219-229.
- Sivakumar M, Sampath Kumar T.S, Shanta K.L, dan Panduranga Rao K. 1996. Development of Hydroxyapatite Derived from Indian Coral. *Journal of Biomaterials*, 17: 1709-1714.