

KARAKTERISASI *SCAFFOLD BOVINE HYDROXYAPATITE* DARI TULANG SAPI LIMBAH BAKSO BALUNGAN UNTUK APLIKASI IMPLAN TULANG MANDIBULA MENGGUNAKAN METODE KALSINASI

Solechan^{1*}, Saifudin Alie Anwar²

¹ Teknik Mesin-Fakultas Teknik- Universitas Muhammadiyah Semarang

² Kedokteran Gigi-Fakultas kedokteran Gigi-Universitas Muhammadiyah Semarang

Jl. Kasipah no.12 Semarang 50254

*E-mail : solechan1981@gmail.com

Abstrak

Limbah tulang sapi bakso balungan di Jawa Tengah sendiri menghasilkan 31.9 ton/hari dari pedagang bakso. Tulang sapi bisa dibuat material hydroxyapatite turunan produk bioceramik untuk memperbaiki kerusakan jaringan keras tubuh karena tulang rapuh, kanker tulang atau kecelakaan. Kerusakan jaringan termasuk kasus tumor tulang. Tumor mandibula berpotensi menimbulkan gangguan dan perlu pengangkatan tumor mandibula yang menimbulkan celah. Maka perlu rekonstruksi mandibula untuk pembentukan kontinuitas mandibula dengan transplantasi scaffolds. Penggunaan transplanstasi terbatas donornya, sedangkan implan material sintetik sangat mahal. Pembuatan scaffold bovine hydroxyapatite limbah tulang sapi bakso balungan berpenguat PCL dengan metode kalsinasi akan lebih murah harganya. Proses pembuatan bovine hydroxyapatite dengan memotong limbah tulang kanelosa dalam ukuran 10 mmx 10 mmx 10 mm, kemudian dikalsinasi pada temperatur 300, 600, 900, dan 1200°C selama 2 jam. Selanjutnya scaffold ini diperkuat dengan PCL konsentrasi 1, 3, dan 5%. dengan cara dip coating selama beberapa menit. Scaffold bovine hydroxyapatite diuji XRD menunjukkan kenaikan temperatur kalsinasi memberikan difraktogram dengan puncak-puncak yang tajam dengan intensitas yang tinggi terbentuk kristal tinggi atau kristal sempurna tetapi dengan penambahan PCL proses difraksi kurang sempurna dengan penurunan intensitas. Ukuran pori-pori dan porositas dipengaruhi tingginya kalsinasi tetapi menurunkan kekuatan tekan. Dengan penambahan lapisan PCL meningkatkan kekuatan tekan, tetapi menurunkan diameter pori-pori dan porositas sehingga masih dibawah karakteristik dan sifat mekanik scaffolds komersil.

Kata kunci: Bakso, Tulang sapi, mandibula, scaffolds, implan

1. PENADAHULUAN

Bakso adalah bola daging dari campuran daging sapi giling dan tepung tapioka, (www.indonesiasik.com). Di kota Demak memiliki bakso jenis sendiri yaitu bakso balungan, bagaimana pada **Gambar 1.a**. Bakso yang terdapat balungan atau potongan tulang-tulang sapi yang masih berbalut irisan daging (Rita Fahry, 2013). Limbah tulang sapi bakso balungan pada **Gambar 1.b** langsung dibuang di perkarangan dan tidak termanfaatkan. Padahal setiap tukang bakso mampu menghasilkan limbah tulang sapi kurang lebih 3-4 kg per hari (wawancara Bpk. Slamet, 2013). Jumlah pedagang bakso tahun 2012 yang terdaftar di kabupaten Demak sendiri sejumlah 657 buah dan Jawa Tengah 7.982 menurut Asosiasi Pedagang Mie dan Bakso (APMISO) Indonesia. Jika limbah tulang sapi bakso dikalikan jumlah pedagang bakso di Jawa Tengah menghasilkan limbah sebesar 31.928 kg (31.9 ton).

Limbah tulang sapi begitu melimpah dan belum termanfaatkan. Sekarang ini, banyak riset yang memanfaatkan tulang sapi dibuat material hydroxyapatite sebagai salah satu varian produk bioceramik (Meskinfam., 2011). Bioceramik digunakan untuk aplikasi medik, seperti restorasi kerusakan jaringan keras (Karageorgiou., 2005). Kerusakan jaringan termasuk kasus tumor tulang. Lokasi tumor paling banyak ditibia 41%, tulang femur 33%, tulang maxillofacial dan mandibular 3%, tulang radius 2% dan tulang fibula 2 % (*Nacomical survellience system data.*, 2011). Tumor mandibula berpotensi menimbulkan gangguan pengunyahan, saluran napas, penelanan dan berbicara (Fonseca RJ., 2000). Pengangkatan tumor mandibula sering menimbulkan cacat, mulai dari celah pada tulang alveolus sampai diskontinuitas tulang mandibula (Smith., 2006). Maka perlu rekonstruksi mandibula untuk pembentukan kontinuitas mandibula dengan transplantasi scaffolds (Stošić S., 2008).



Gambar 1. a) Bakso balungan b) Limbah tulang sapi bakso balungan

Scaffolds dikembangkan menjadi bahan bioaktif yang akan memacu terjadinya biomineralisasi pada tulang seperti Calcium Phosphate atau Tricalcium phosphate (TCP). Material bioaktif yang telah dipasarkan secara luas adalah merk Bioglass®, PerioGlass®, BioGran®, 45S5®, AbminDent1®, S53P4®, yang sampai saat ini masih menjadi material bioaktif pilihan bagi perawatan kedokteran dan kedokteran gigi. Produk lain yang dikembangkan oleh Etex Corp USA adalah powder Calcium Phosphate α -BSM (Bone Substitute Material) dan hidroxyapatite (HA) berbentuk powder dan cara manufakturnya (Hench., 1991), tetapi mahal untuk pasien Indonesia karena produk impor. Sementara HA sintesis dari bahan alam seperti gypsum dan calcite juga masih berupa serbuk dan harganya relatif mahal.

Dalam praktek, kebutuhan dokter ortopedi adalah berupa scaffold yang langsung digunakan untuk mengisi kekurangan tulang. Sehingga, HA serbuk masih harus diproses lebih lanjut menjadi scaffold. Proses ini memerlukan temperatur tinggi sekitar 1400°C yang biaya prosesnya mahal. Penggunaan plat logam ini tidak dapat dilakukan karena harus mengisi kekurangannya. Meskipun tulang pengisi ini telah tersedia dipasaran, yaitu produk RS Dr. Sutomo Surabaya, namun masih diragukan kompatibilitasnya karena masih berupa tulang sapi dan belum menjadi biokeramik. Kalaupun bisa diproses lanjut menjadi hidroxyapatite, scaffold tersebut masih rapuh, sehingga belum sesuai dengan kebutuhan dalam praktek. Oleh karena itu, pada riset ini, ingin melakukan studi awal pembuatan *scaffold bovine hidroxyapatite* berpenguat PCL dengan material dasar limbah tulang sapi bakso balungan dengan metode kalsinasi. Keberhasilan riset awal ini akan membuka jalan untuk fabrikasi scaffold dengan jumlah banyak, sehingga lebih banyak pasien yang dapat ditangani dengan biaya yang terjangkau di Indonesia.

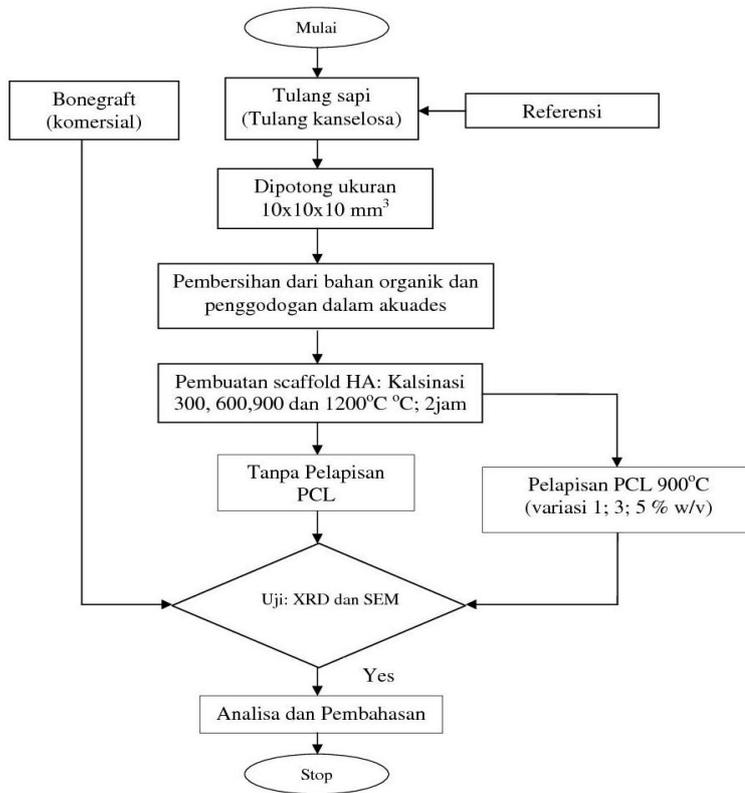
2. METODOLOGI

Riset yang diusulkan mengikuti diagram alir pada **Gambar 2**. Pertama, membuat 2 macam spesimen yaitu scaffold bovine HA dari tulang sapi tanpa penguat PCL dan berpenguat PCL. Variasi konsentrasi PCL adalah 1%, 3% dan 5% w/v. Kedua, pengujian menggunakan uji XRD, tekan, SEM, dan porositas. Material yang digunakan limbah tulang kanselosa sapi bakso balungan, Poly(ϵ -caprolactone) (PCL) komersial buatan Sigma Aldrich, dan bone graft komersial sebagai pembandingan. Dalam riset ini, spesimen dibuat 2 macam yaitu spesimen yang berupa Bovine Scaffold tanpa pelapis PCL dengan kode BS-x/PCL-0 dan berpelapis PCL atau BS-x/ PCL-y.

Langkah-langkah penyiapan specimen dari tulang kanselosa sapi dipotong-potong ukuran 10x10x10 mm disebut "Bovine Bone atau BB". Selanjutnya BB direndam dalam air akuades dan direbus hingga mendidih dalam panci presto selama 2 jam. BB yang sudah bersih selanjutnya direndam dalam H₂O₂ sampai terlihat putih bersih. BB tersebut dikalsinasi dengan variasi temperatur 300, 600, 900 dan 1200°C masing-masing variasi dilakukan selama 2 jam. Selanjutnya diberi kode BS-300/ PCL-0, BS-600/PCL-0, BS-900/ PCL-0 dan BS-1200/ PCL-0. Untuk spesimen macam ke-2 yaitu yang berpelapis PCL dilakukan dengan cara sebagai berikut: pilih spesimen tak berpelapis PCL yang sudah berupa hidroxyapatite, yang dalam riset ini diambil BS-900/ PCL-0, untuk dilapisi PCL dengan variasi konsentrasi PCL dalam air destilasi 1, 3 dan 5% w/v dengan cara

memanaskan akuades pada temperatur 80°C dan masukkan serbuk PCL sedikit demi sedikit hingga serbuk tersebut larut semua dan larutan nampak bening.

Pelapisan PCL dengan cara mencelupkan BS-900/ PCL-0 kedalam larutan PCL selama beberapa menit hingga larutan PCL merasuk kedalam pori karena efek kapiler. Kemudian keringkan menggunakan microwave selama 5 menit pada daya 100 watt. Hasil pelapisan BS-900/ PCL-0 dengan PCL ini masing-masing kemudian diberi kode BS-900/ PCL-1, BS-900/ PCL-3 dan BS-900/ PCL-5. Hasil kalsinasi dan pelapisan PCL diuji karakteristik dengan uji XRD, dan SEM



Gambar 2. Diagram alir penelitian

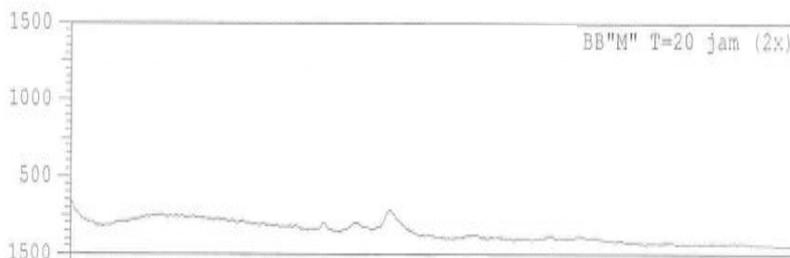
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji X-Ray Diffractometer (XRD)

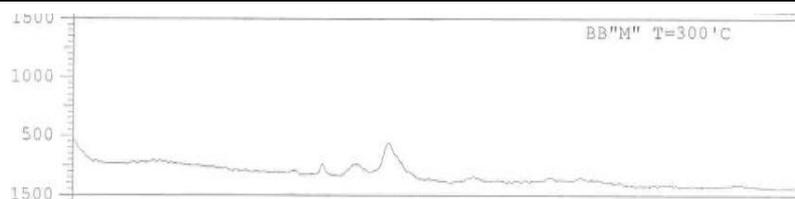
Sampel berbentuk serbuk ditaruh dalam anvil (landasan) pada mesin XRD. Penembakan dilakukan di daerah lapisan ke lapisan, sehingga dapat mengidentifikasi jenis mineral yang terkandung dalam lapisan, baik secara total maupun khusus lapisan. Hasil pengujian sebuah sampel diprint-out dan dapat dicopy dengan perangkat pengcopy (*flashdisk*) untuk dapat diolah datanya dengan software lain semacam Origin-50.

4.1.1 Pengaruh Temperatur pada Kalsinasi

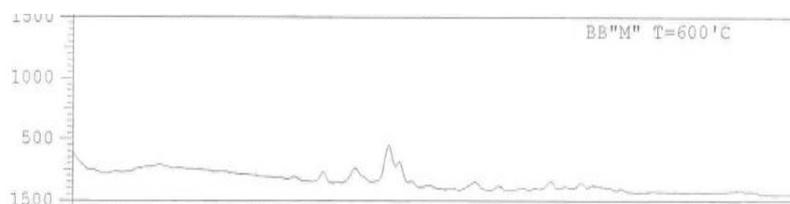
Pengaruh temperatur pada kalsinasi bahan tulang terhadap produk yang dihasilkan, disajikan dalam Gambar 3a, b, c, d, e, f



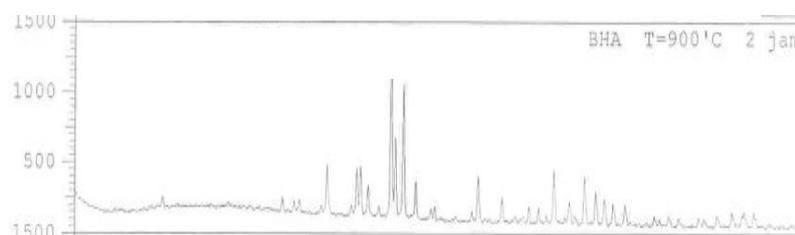
a. Pola difraksi sinar-X spesimen BB''M'' T=2 jam (2x)



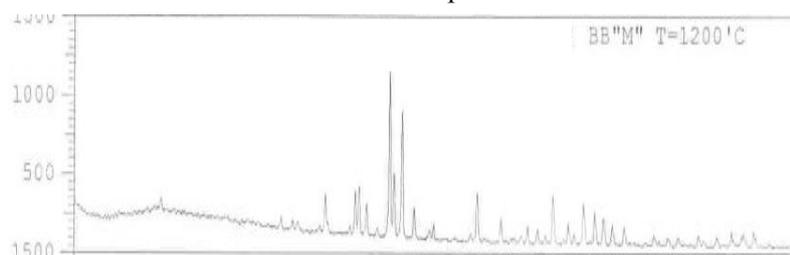
b. Pola difraksi sinar-X spesimen BB''M'' T= 300°C



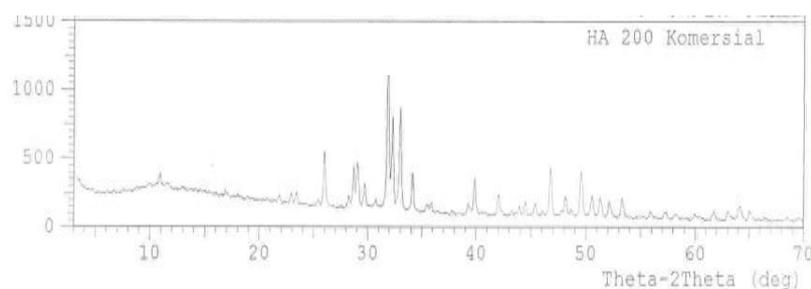
c. Pola difraksi sinar-X spesimen BB''M'' T= 600°C



d. Pola difraksi sinar-X spesimen BB''M'' T= 900°C



e. Pola difraksi sinar-X spesimen BB''M'' T= 1200°C



f. Pola difraksi sinar-X spesimen HA 200 komersial

Gambar 3. Pola difraksi sinar-X dari produk kalsinasi pada berbagai temperatur

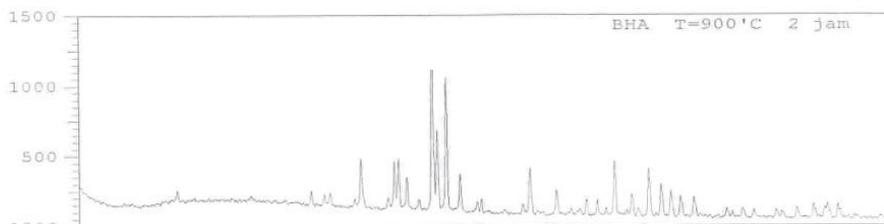
Gambar 3 diatas menunjukkan secara umum bahwa kenaikan temperatur memberikan difraktogram dengan pola yang serupa namun puncak-puncaknya semakin tajam. Lebih detail dapat dilihat bahwa kalsinasi pada temperatur yang relatif rendah 300 dan 600°C pada **Gambar 3b dan 3c** memberikan difraktogram dengan puncak-puncak yang lebar dan intensitas yang rendah. Pola seperti ini menggambarkan bahwa sampel tersebut berfase semi kristal atau mempunyai kristalinitas yang masih rendah (Pujiyanto dkk, 2005). Pada temperatur 600°C memberikan kristalinitas yang sedikit lebih tinggi dari pada temperatur 300°C. Kenaikkan temperatur kalsinasi pada 900°C pada **Gambar 3d** memberikan difraktogram dengan puncak-puncak yang tajam dengan intensitas yang

tinggi (Nasution, D., 2006). Hal ini menandakan bahwa sampel telah berbentuk kristal dengan tingkat kristalinitas yang tinggi atau kristal yang sempurna. Namun demikian kenaikan temperatur 1200°C menyebabkan penurunan intensitas, yang menunjukkan telah terjadi penurunan kristalinitas terlihat pada **Gambar 3e**. Penurunan kristalinitas dapat disebabkan oleh kerusakan kristal dari sampel tersebut, akibat temperatur kalsinasi yang relatif tinggi.

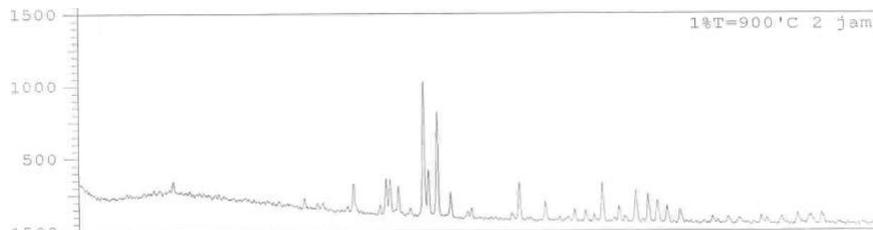
Trend kristalinitas sampel yang telah disajikan mengindikasikan bahwa temperatur menentukan proses kristalisasi bahan tersebut. Dari data tersebut juga dapat diketahui bahwa kalsinasi pada temperatur 900°C memberikan hasil yang terbaik, atau menunjukkan temperatur yang optimum. Apabila pola difraksi sampel hasil kalsinasi, khususnya yang dilakukan pada temperatur 900°C dan 1200°C, dibandingkan dengan pola difraksi hidroksiapatit standar maka terlihat sama. Kesamaan pola difraksi ini mengindikasikan bahwa sampel hasil kalsinasi berupa hidroksiapatit.

4.1.2 Pengaruh Kadar PCL

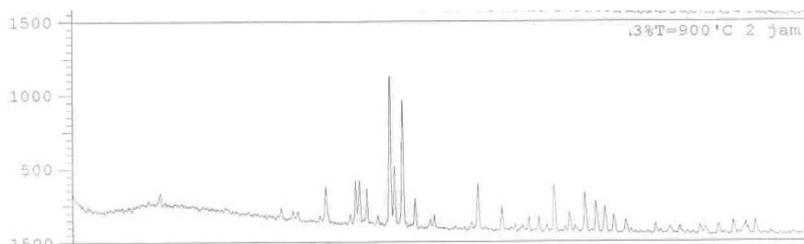
Pengaruh penambahan PLC dengan kadar yang bervariasi pada bahan tulang yang telah dilaksinasi pada suhu 900°C, terhadap produk yang dihasilkan ditampilkan sebagai **Gambar 4a, b, c, dan d**.



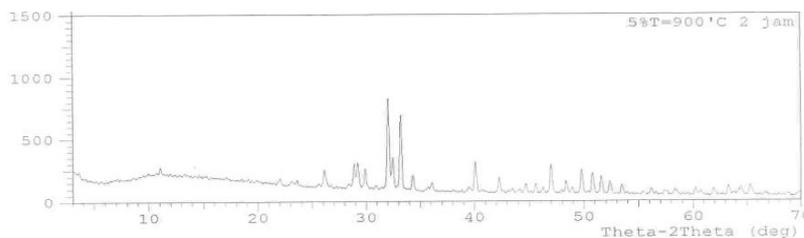
a. Pola difraksi sinar-X spesimen "BHA" T= 900°C



b. Pola difraksi sinar-X spesimen BCM"PCL 1%" T= 900°C



c. Pola difraksi sinar-X spesimen BCM"PCL 3%" T= 900°C



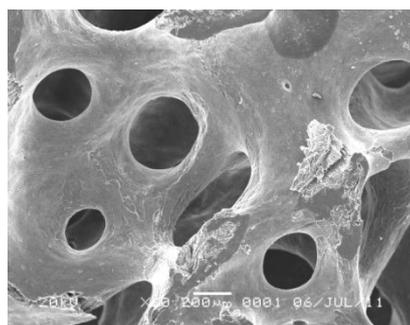
d. Pola difraksi sinar-X spesimen BCM"PCL 5%" T= 900°C

Gambar 4. Pola difraksi sampel dengan pelapisan PLC pada kadar yang bervariasi

Gambar 4 tersebut dapat dilihat secara umum bahwa penambahan PCL ke dalam bahan memberikan pola difraksi yang sama dengan bahan asal namun mempunyai intensitas yang lebih rendah. Ini menunjukkan bahwa penambahan PCL menyebabkan penurunan kristalinitas bahan. Penurunan ini dapat disebabkan oleh penempelan PCL pada hidroksi apatit sehingga menutupi bidang kristal apatit tersebut. Akibatnya proses difraksi kurang sempurna yang ditandai dengan penurunan intensitas. Kemungkinan lain, pengikatan PCL telah merusak kristal hidroksi apatit meskipun kerusakannya relatif kecil. Apabila dicermati lebih detil, terlihat bahwa intensitas pada bahan dengan penambahan PCL yang semakin banyak 1 % dan 3 % mengalami kenaikan, meskipun kenaikannya relatif kecil yang ditunjukkan pada **Gambar 4b** dan **4c**. Namun penambahan PCL yang lebih banyak (5%) ternyata menyebabkan penurunan intensitas yang cukup besar, yang menandakan telah terjadinya penurunan kristalinitas yang cukup signifikan ditunjukkan pada **Gambar 4d**. peningkatan PCL dengan jumlah yang relatif besar pada hidroksiapatit dapat menyebabkan kerusakan kristal bahan tersebut. Dari data yang telah disajikan dapat diketahui bahwa penambahan PCL yang optimum adalah 3%.

4.1.3 Pengujian SEM

Spesimen dipotong dengan lebar 5 mm dan tinggi 3 mm untuk mengetahui strukturmikro scaffold tulang mandibula. Posisi pemotretan pada daerah lapisan yang terdiri dari 4 lapis sehingga mewakili dari semua komposisi paduan sedangkan studi karakterisasi di daerah retakan, ukuran pori-pori dan interface antar lapisan untuk analisa hasil. Hasil uji SEM *cancellus bovine bone* sebelum dikalsinasi pada berbagai temperatur dengan pelapis dan tanpa pelapis PLC disajikan dalam **Gambar 5** hingga **Gambar 9** dengan pembesaran 60x dan 2500x.



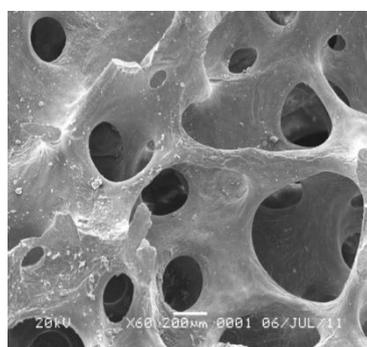
a) Pembesaran 60 x



b) Pembesaran 2500 x

Gambar 5. Struktur mikro *Bovine bone* (tulang sapi) setelah digodog dan direndam dalam H_2O_2 selama 20 jam: a) pembesaran 60x dan b) pembesaran 2500x

Gambar 5a menunjukkan porous interkoneksi *cancellus bovine bone* (tulang sapi cancellus). Diameter porous $\pm 200 - 300 \mu m$. Sedangkan **Gambar 5b** menunjukkan detail permukaan dinding struktur tulang porous dengan kandungan material organikanya.



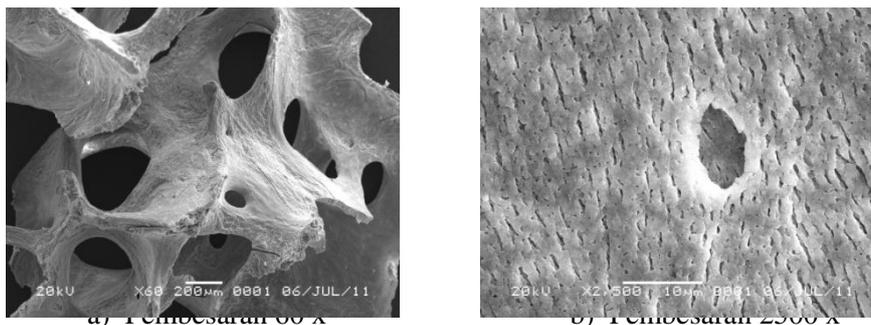
a) Pembesaran 60 x



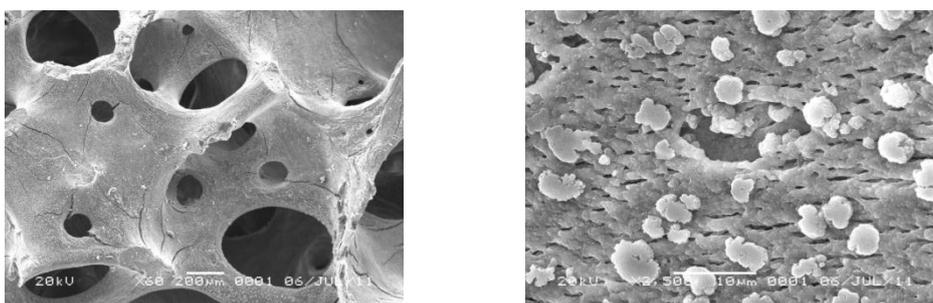
b) Pembesaran 2500 x

Gambar 6. Struktur mikro cancellus bovine setelah dikalsinasi pada temperatur 900 °C selama 2 jam tanpa pelapis PLC: a) pembesaran 60x dan b) pembesaran 2500x

Gambar 6a menunjukkan porous interkoneksi *cancellus bovine bone* setelah dikalsinasi pada temperatur 900°C selama 2 jam tanpa pelapis PLC. Ukuran porous ini relative sama dengan kondisi sebelum dikalsinasi. Proses kalsinasi ini menghilangkan kandungan material organik dan menyisakan anorganik yang disebut hydroxyapatite seperti tampak pada **Gambar 6b**. Scaffold ini yang selanjutnya disebut BS-900/PLC-0. Setelah dilapisi dengan PLC 1, 3 dan 5%w/v, yang selanjutnya disebut BS-900/PLC-1, BS-900/PLC-3 dan BS-900/PLC-5, hasil uji SEM disajikan dalam Gambar 7, 8 dan 9. Pada spesimen BS-900/PLC-1 tampak terlihat penambahan material yang menempel pada dinding pori-pori scaffolds yang ditunjukkan pada Gambar 70a. Untuk ukuran pori-pori juga mengalami penyempitan diameter yang ditampilkan pada Gambar 7b. Semakin tinggi kadar PLC akan menurunkan diameter pori-pori scaffolds (Tontowi, A.E . dkk., 2006), dimana ditunjukkan pada **Gambar 8** dan **Gambar 9**.

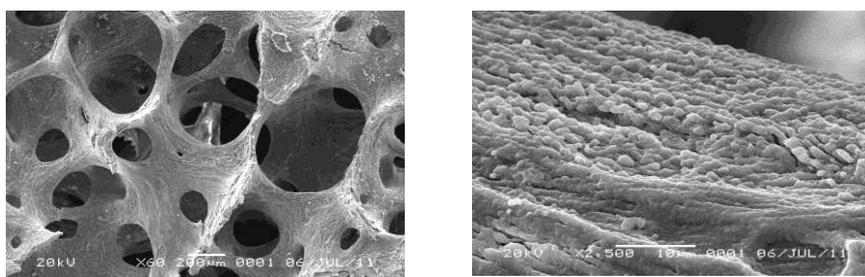


Gambar 7. Struktur mikro cancellus bovine setelah dikalsinasi pada temperatur 900 °C dengan pelapis PLC 1%w/v: a) pembesaran 60x dan b) pembesaran 2500x



Gambar 8. Struktur mikro cancellus bovine setelah dikalsinasi pada temperatur 900 °C dengan pelapis PLC 3%w/v: a) pembesaran 60x dan b) pembesaran 2500x

Gambar 8 distribusi lapisan coating (3 %) lebih tebal dibandingkan **Gambar 7** PCL-1 % yang ditandai dengan warna dinding yang lebih putih. Struktur spesimen lebih tebal dan muncul gelembung PLC yang nampak pada **Gambar 9** dengan kadar PCL 5%. Spesimen BS-900/PCL 5% distribusi lapisan coating menutupi pori-pori dari scaffolds dan tergantikan gelembung-gelembung yang diakibatkan kandungan PCL yang tinggi (Tontowi, A.E . dkk., 2006).



a) Pembesaran 60 x

b) Pembesaran 2500 x

Gambar 9. Struktur mikro cancellus bovine dikalsinasi pada temperatur 900 °C dengan pelapis PLC 5%w/v: a) pembesaran 60x dan b) pembesaran 2500x

5. KESIMPULAN

- (1) Meningkatnya temperatur kalsinasi mulai dari 300 °C sampai 1200°C pada scaffolds tulang sapi akan menaikkan porositas, ukuran diameter pori-pori, dan kristalisasi
- (2) Bertambahnya kadar campuran PCL akan menurunkan porositas, ukuran diameter pori-pori, dan kristalisasi.
- (3) Scaffolds tulang sapi yang paling optimal pada temperatur kalsinasi 900°C dan penambahan PCL 3% ditinjau dari sifat mekanik dan karakteristik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia yang telah memberikan dana untuk Penelitian Dosen Pemula tahun anggaran 2013-2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Asosiasi Pedagang Mie dan Bakso (APMISO), 2014., Jumlah Pedagang Bakso di Jawa Tengah Tahun 2012.
- ASTM E 290., 2004., standart test method for bend testing of material for ductility.
- American Society for Testing and Materials E-290 Vol.2, ,2002,.. Hal.187-196.
- Etex Corp., 2004, Patent No. 5,650,176 Synthesis of Reactive Calcium Phosphates -Divisional 1
- Fonseca RJ, (2000)..Masticatory myalgias. In Oral and Maxillofacial Surgery. Temporomandibular Disorders et al.: Philadelphia: WB. 38–45.
- Hench, L.L., Splinter, R.J., Allen, W.C., Greenlee, T., 1972, Bonding Mechanism at the Interface of Ceramic Prosthetic Material, *Journal of Biomed Mater Res*, 2, pp.117-41.
- Herliansyah, M.K., M, Hamdi., 2009., The influence of sintering temperature of the properties of compacted bovine hydroxyapatite., *Material Science Engineering: C*, 29, 1674-1680.
- Herliansyah, M.K., Toque, J.A., Hamdi, M., Ide-Ektessabi, A. and Wildan, M.W., 2006, *ISTECS Journal*, Vol. VIII, pp. 25-33.
- Karageorgiou V, Kaplan D., 2005., Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis., Department of Chemical and Biological Engineering, Tufts University, 4 Colby Street, Medford, MA 02155, USA
- Meskinfam M, Sadjadi MA, et.al., 2011., Biocompatibility evaluation of nano hydroxyapatite-starch biocomposites. *J Biomed Nanotechnol* 7 (3): 455-9.
- Nanocomial surveillance system data rumah sakit Dr. Kariadi (2010).
- Nasution, D., 2006, Pembuatan Hydroxyapatite dari Calcite Gunung Kidul dan Karakterisasinya, Tesis S2, Jurusan Teknik Mesin FT UGM, Yogyakarta.
- Novianto, Tontowi, A.E., dan Ana, I.D., 2007, Uji Kompresi Scaffold Komposit Hydroxyapatite-Gelatin, Prosiding Seminar Nasional ke-13 'Perkembangan Riset dan Teknologi, Pusat Studi Ilmu Teknik UGM, Yogyakarta.
- Pujianto, E., Tontowi, A.E., Siswomihardjo, W., dan Ana, I.D., 2005, Perbandingan Karakteristik Hydroxyapatite Hasil Sintesa Gypsum Kulon Progo dan Tasik Malaya dengan Biopex, *Jurnal Teknik*, FT UNS.
- Rita Fahry, 2013., Masakan populer Kota wali : Bakso Balungan., www.blogritarahry.com.
- Smith. JE, Blackwell K., Mandibular reconstruction, (2009) <<http://emedicine.medscape.com/article>> (23 Oktober 2009).
- Stošić, S., Kozarski, J., Stošić-Opinčal, T., Jović, N., Kozomara, R. (2005) Mikrovaskularni osteoseptokutani radijalni režanj u nadoknadi defekata donje vilice nastalih ratnim ranjavanjem. *Vojnosanitetski pregled*, vol. 62, br. 6, str. 429-434.
- Salgado., António J., Olga P. Coutinho., Rui L. Reis (2004)., *Bone Tissue Engineering: State of the Art and Future Trends.*, Braga, Portugal., DOI: 10.1002.
- Tontowi, A.E., Ana, I.D., dan Siswomihardjo, W., 2006, Pengembangan dan Pembuatan Material Bioaktif Menggunakan Gypsum Kulon Progo sebagai Material Restorasi Kerusakan Tulang, www.indonesiasik.com