

Cangkang Telur Ayam sebagai Sumber Kalsium dalam Pembuatan Hidroksiapatit untuk Aplikasi Graft Tulang

Atiek Rostika Noviyanti*, Haryono, Rinal Pandu, Diana Rakhmawaty Eddy

Laboratorium Kimia Fisik dan Anorganik, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km. 21 Jatinangor

*Penulis korespondensi: atiek.noviyanti@unpad.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v5.n3.16057>

Abstrak: Hidroksiapatit dengan struktur heksagonal merupakan biomaterial yang berpotensi sebagai implan tulang maupun gigi, karena memiliki sifat biokompatibilitas, dan bioresorbabilitas. Karakteristik kimia dan kristalinitas hidroksiapatit yang mirip dengan sifat tulang dan gigi manusia, menyebabkan kehadirannya dalam tubuh mudah diterima. Tujuan penelitian ini untuk menyintesis hidroksiapatit dengan metode basah menggunakan kalsium hasil isolasi dari cangkang telur ayam. Sintesis hidroksiapatit dilakukan dengan reaksi metode basah. Proses sintering optimum diamati dengan variasi waktu 3, 5 dan 9 jam. Karakterisasi struktur, morfologi, dan komposisi unsur hidroksiapatit masing-masing menggunakan XRD dan TM-EDX. Hidroksiapatit terbanyak diperoleh pada waktu sintering selama 5 jam, yaitu sebesar 74,74%, dengan rasio massa Ca/P 1,67. Pola difraksi XRD hidroksiapatit hasil sintesis mirip dengan ICSD #157481.

Kata kunci: biomaterial, cangkang telur, hidroksiapatit, metode basah

Abstract: Hydroxyapatite with hexagonal structure is a potential biomaterial as bone and dental implants, because it has the nature of biocompatibility, and bioresorbability. Characteristics and crystallinity of hydroxyapatite are similar to those of human bones and teeth, that why its presence in the body is readily acceptable. The aim of this research is to synthesize hydroxyapatite by wet method using calcium isolated from chicken egg shell. The hydroxyapatite synthesis is carried out by the wet method reaction. The optimum sintering process was observed at 3, 5 and 9 hours. Characterization of the structure, morphology, and composition of hydroxyapatite elements was performed using XRD and TM-EDX. The best yield of hydroxyapatite obtained at sintering time for 5 hours is 74,74%, with mass ratio of Ca / P 1.67. X-ray pattern of the synthesized hydroxyapatite is similar to the ICSD data # 157481.

Keywords: biomaterial, egg shell, hydroxyapatite, wet method

PENDAHULUAN

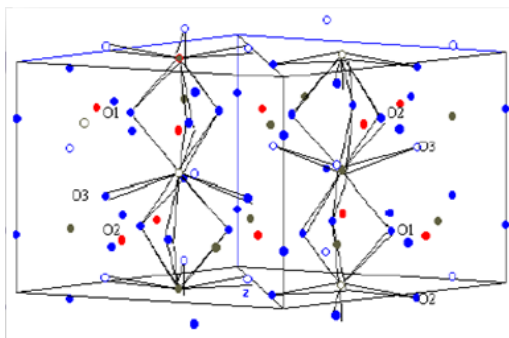
Hidroksiapatit (HA) merupakan salah satu biomaterial yang bersifat bioaktif untuk tulang. Biomaterial adalah suatu bahan sintesis yang dapat diimplan ke dalam sistem hidup sebagai pengganti fungsi dari jaringan hidup atau organ. Pada saat ini kebutuhan akan biomaterial sangat tinggi dan telah memberi dampak yang cukup besar terutama dalam bidang kedokteran ortopedi, misalnya saja untuk perbaikan tulang, baik pada perbaikan tulang retak maupun tulang patah. Material yang digunakan dalam pengobatan tersebut harus bersifat bioaktif, biokompatibel, dan tidak beracun (Johansson *et al.* 2015; Nayak *et al.* 2011). Sebagai material kimia, HA adalah senyawa kalsium fosfat dan anggota kelompok mineral apatit dengan rumus kimia secara umum $M_{10}(RO_4)X_2$, dengan R biasanya merupakan unsur fosfor, M adalah salah satu dari unsur logam yang biasanya adalah unsur kalsium, dan X biasanya merupakan hidroksida atau unsur halogen. Senyawa kalsium fosfat berbentuk kristal dan terdapat dalam empat fase, yaitu dikalsium fosfat, okta kalsium

fosfat, trikalsium fosfat, dan hidroksiapatit (Nayak *et al.* 2011).

Pada berbagai kasus kerusakan tulang (bone defect) seperti kanker tulang, periodontitis dan lain sebagainya, sering diperlukan graft tulang sebagai pengganti tulang rusak. Saat ini graft tulang yang banyak digunakan di bidang ortopedi yaitu natural bone antara lain autograft (tulang dari pasien yang sama), allograft (tulang dari donor manusia lain), dan xenograft (tulang sapi). Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi-BATAN telah berhasil membuat beberapa produk graft tulang (allograft dan xenograft) steril radiasi untuk keperluan klinis, dan hingga saat ini telah digunakan pada beberapa rumah sakit dengan hasil memuaskan dari sumber bahan alam berupa tulang sapi (Bahrololoom *et al.* 2009; Rana *et al.* 2017). Namun dalam hal ini penggunaan tulang sapi sebagai graft tulang tidak dapat diaplikasikan secara langsung melainkan dengan menggunakannya sebagai sumber dalam pembuatan biomaterial HA. HA dengan rumus kimia $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ merupakan salah satu senyawa kalsium fosfat dan termasuk dalam kelompok mineral

apatit yang saat ini sedang banyak dikembangkan. Dengan tingginya kebutuhan akan biomaterial ini, sintesis HA menjadi suatu hal yang cukup bermanfaat untuk dilakukan. Pembuatan HA pada umumnya menggunakan padatan atau serbuk kalsium oksida (CaO). Dalam penerapan medis, diketahui bahwa respon tubuh terhadap bahan implan yang berupa kelompok senyawa kalsium fosfat berhubungan dengan rasio massa Ca/P dan kristalinitas senyawanya. Oleh karena itu, pemilihan teknologi pembuatan hidroksiapatit perlu mempertimbangkan apakah produk yang dihasilkan dari teknologi itu mendekati spesifikasi yang dibutuhkan atau tidak. Untuk bahan implan, spesifikasi hidroksiapatit yang dikehendaki adalah yang memiliki rasio massa Ca/P sebesar 1,67 dan memiliki susunan kristal yang sama dengan tulang hewan/manusia (Rana *et al.* 2017). Diantara keunggulan material hidroksiapatit adalah memiliki komposisi dan struktur kristal yang mirip dengan tulang dan saat ini merupakan material yang paling banyak digunakan dalam aplikasi biomedis (Zhang *et al.* 2003).

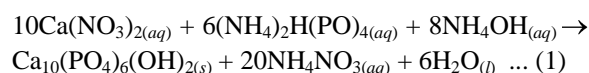
Kalsium fosfat memiliki sifat alami yang kompleks, bisa berada pada berbagai fase, dapat pula dalam bentuk larutan padat. Selain itu kalsium fosfat dapat dalam bentuk nonstoikiometri dengan adanya pengotor yang mengganti ion kisi dalam kristal. Pada umumnya, kalsium fosfat berada dalam bentuk amorf maupun berbagai kristal. Komposisi kimia HA $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ berupa kesatuan sel dari HA dalam 3 dimensi yang memiliki panjang 0,944 nm, lebar 0,944 nm dan tinggi 0,688 nm dengan bentuk keseluruhan berupa jajaran genjang. Kesatuan sel HA terdiri atas dua dataran berbentuk jajaran genjang di permukaan atas dan bawah. Tiga ion terletak ditengah pada masing-masing dataran, sedangkan 8 ion lain berada pada tepi dan bergabung dengan sel lain yang berdekatan. Dua ion terletak di tengah dan merupakan inti dari unit sel, 8 ion terletak di tepi dan bergabung dengan 4 unit sel lainnya yang berdekatan. Delapan ion pada keempat dataran vertikal sel (Rossi *et al.* 2007). Struktur kristal dari HA adalah hexagonal dengan dimensi sel $a = 9,423 \text{ \AA}$ dan $c = 6,875 \text{ \AA}$ seperti ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia Hidroksiapatit (Aoki 1991).

Sumber kalsium dari bahan alam lainnya dapat diperoleh dari cangkang telur ayam. Cangkang telur ayam mengandung kalsium dalam bentuk kalsium karbonat (CaCO_3) sebagai komposisi penyusun utama cangkang telur ayam yaitu sebanyak 94% (Gergely *et al.* 2010). Tingginya kadar kalsium dalam cangkang telur ayam tersebut memberi peluang potensial bagi cangkang telur ayam untuk menggantikan peranan kalsium sintetik maupun kalsium dari tulang sapi, yang pada umumnya lebih mahal dalam segi ekonomi dan lebih sulit dalam hal penyediaannya (Gergely *et al.* 2010).

HA dapat disintesis dengan berbagai metode, yaitu: metode kering, metode basah (presipitasi), dan metode hidrotermal (Wu *et al.* 2013). Metode basah merupakan metode pembuatan HA yang umum digunakan karena sederhana dan dapat menghasilkan serbuk HA yang sebagian besar amorf. Pada metode presipitasi, sintesis dilakukan dengan menggunakan reaksi cairan sesuai pada persamaan (1). Larutan fosfor diteteskan sedikit demi sedikit kedalam cairan kalsium sehingga dihasilkan HA dengan kemurnian yg tinggi dan ukuran partikel yang sangat kecil. Selain dari metode pembentukannya, sifat dan karakteristik HA juga bergantung pada sumber unsur-unsur pembentuknya.



BAHAN DAN METODE

Bahan

Cangkang telur sebagai sumber kalsium dikumpulkan sebagai limbah dari berbagai aktivitas pemanfaatan telur ayam di daerah Jatinangor. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah asam nitrat 65%, diamonium hidrogenfosfat p.a. (Merck), amonium hidroksida p.a. (Merck), dan akuabides (Bratachem).

Isolasi Kalsium

Kalsium diisolasi dari cangkang telur ayam yang sudah dibersihkan dari sisa kotoran dan membrannya lalu dikeringkan di dalam oven pada suhu 110°C selama 2 jam. Cangkang telur kering tersebut kemudian dihaluskan dengan *ball mill* selanjutnya diayak (ayakan standar Tyler) untuk diperoleh serbuk cangkang telur berukuran lolos 50 mesh.

Serbuk cangkang telur kemudian dikalsinasi di dalam tanur (Nabertherm model L 9/11/SKM) pada suhu 1000°C selama 5 jam sehingga dihasilkan serbuk putih kalsium.

Preparasi Larutan Kalsium dan Fosfat

Larutan kalsium 0,5 M dibuat dengan melarutkan 2,6110 g CaO dari hasil kalsinasi cangkang telur ke dalam 10 mL asam nitrat 65%, kemudian ditambahkan akuabides hingga 100 mL. Larutan yang dihasilkan diatur pHnya sampai 10 dengan menambahkan amonium hidroksida lalu ditambahkan buffer. Sedangkan larutan fosfat dibuat dengan

melarutkan 3,9615 g kristal diamonium hidrogenfosfat, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, ke dalam 10 mL akuabides kemudian ditambahkan kembali akuabides sampai 100 mL.

Sintesis Hidroksiapatit

Sintesis HA dilakukan dengan menambahkan 100 mL larutan fosfat ke dalam larutan kalsium tetes demi tetes. Pemanasan diatur pada suhu 40°C (dijaga konstan) dengan kecepatan pengadukan 300 rpm. Pengadukan tetap dilanjutkan tanpa pemanasan selama 30 menit setelah larutan fosfat habis direaksikan. Setelah 30 menit pengadukan, dilakukan presipitasi selama 24 jam. Presipitat disaring menggunakan kertas saring Whatman 42 lalu dicuci dengan akuabides untuk menghilangkan sisa amonium nitrat. Presipitat dikeringkan pada suhu 110°C selama 2 jam untuk menghilangkan sisa akuabides pada saat pencucian. Presipitat kering kemudian disinter pada suhu 1000°C selama 3, 5, dan 9 jam. Perolehan HA dari setiap variasi waktu sintering dihitung dengan persamaan (2).

$$\text{HA} = \frac{\text{massa HA aktual}}{\text{massa HA stoikiometris}} \times 100\% \quad \dots (2)$$

Karakterisasi

Struktur HA hasil sintesis dikarakterisasi dengan difraksi sinar-X (PANalytical X'Pert PRO seri PW3040/X0 made in Holland) menggunakan radiasi CuK α dengan sudut 2 θ dari 10° – 40°. Sedangkan morfologi HA dikarakterisasi menggunakan *Tabletop Microscope TM3030-Energy Dispersive X-ray Spectrometer Quantax70 Hitachi (TM-EDX)*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

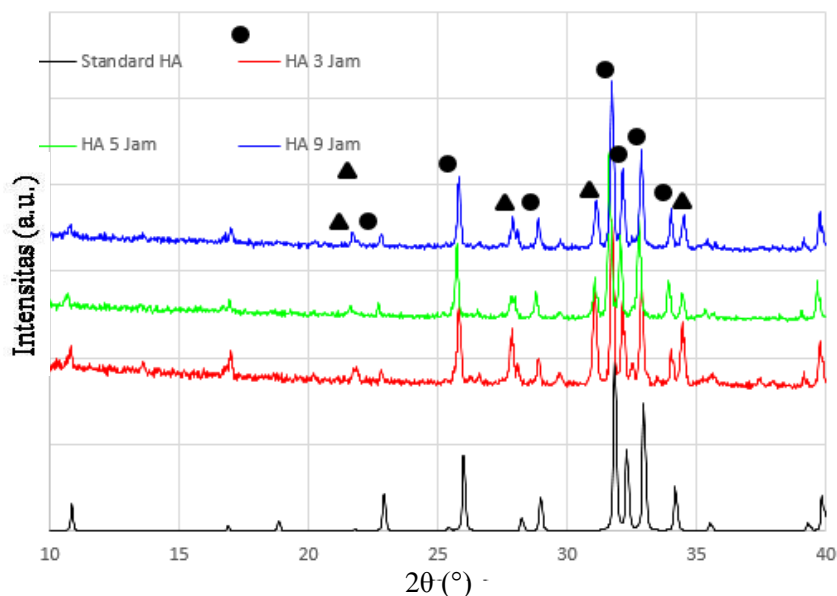
Perolehan Hidroksiapatit

Presipitat HA dihasilkan dari reaksi kimia antara CaO dari cangkang telur dan diamonium hidrogenfosfat dengan metode basah (presipitasi) sesuai persamaan (1). HA dari tahap sintering terhadap presipitat HA selama 3, 5, dan 9 jam serta perbandingannya terhadap HA stoikiometris (perolehan HA) ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perolehan HA dari sintering selama 3, 5, dan 9 jam

Massa CaO (g)	Massa $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (g)	Waktu Sintering (jam)	Massa HA (g)	Perolehan (%)
		3	3,7720	74
2,6110	3,9615	5	3,8024	75
		9	3,7841	74

HA, sesuai pada Tabel 1, diperoleh dengan antara 74,15 – 74,74%. Perolehan HA terbanyak dihasilkan dari sintering terhadap presipitat HA selama 5 jam. Perolehan HA menunjukkan bahwa reaksi pembentukan HA yang dilakukan dengan metode basah berlangsung kurang sempurna. Hal ini bisa diakibatkan oleh banyak faktor, seperti efektifitas pengontakan antar reaktan, rasio antar reaktan, suhu dan waktu reaksi, dan tahap pemurnian produk reaksi. Sedangkan tahap sintering pada prinsipnya lebih berdampak terhadap jenis dan karakteristik dari HA yang diperoleh. Perolehan HA terbanyak pada sintering selama 5 jam diduga karena reaksi dan pemurnian untuk memperoleh presipitat HA terjadi sempurna.



Gambar 2. Difraktogram HA standar dan HA hasil sintesis setelah disinter pada suhu 1000°C selama 3, 5, dan 9 jam, menunjukkan adanya puncak HA ditandai dengan bulatan hitam dan $\text{Ca}_3\text{H}(\text{PO}_4)_2$ ditandai dengan segitiga

Hasil Karakterisasi HA dengan XRD

Untuk mengetahui struktur HA hasil sintesis dari setiap variasi lama sintering dilakukan karakterisasi XRD. Difraktogram dari masing-masing HA tersebut kemudian dibandingkan dengan difraktogram HA standar (data ICSD #157481). Perbandingan difraktogram HA hasil sintesis dan standar ditampilkan pada Gambar 2.

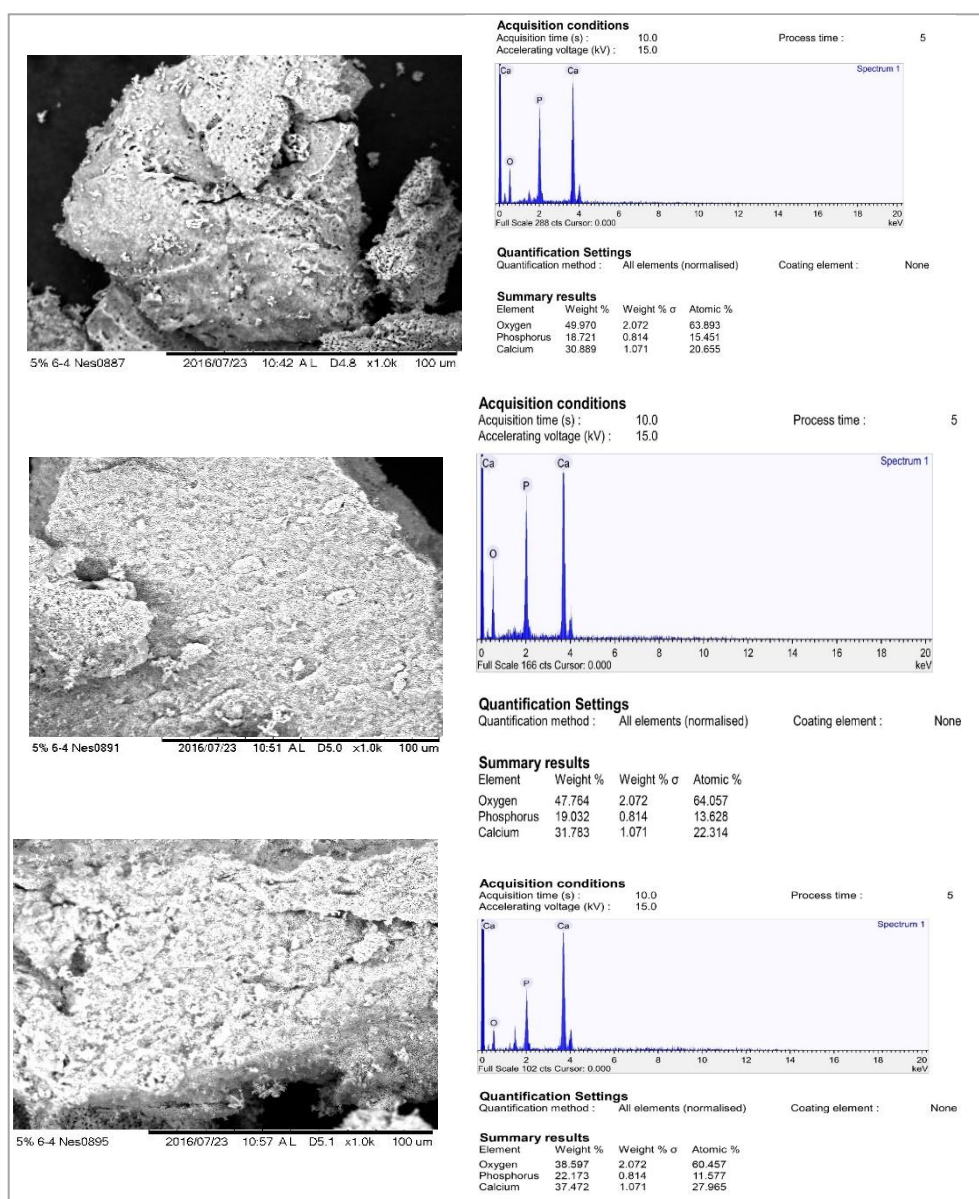
Puncak khas HA pada difraktogram ketiga sampel HA hasil sintesis muncul pada $2\theta = 25^\circ, 31^\circ,$ dan 32° . Puncak-puncak tersebut sesuai dengan puncak-puncak pada HA dari ICSD #157481. Namun selain puncak-puncak khas HA muncul puncak-puncak lain yang menunjukkan adanya fase pengotor pada 2θ sebesar $21^\circ, 28^\circ,$ dan 34° . Puncak-puncak tersebut berdasarkan data ICSD #6191 menunjukkan puncak khas untuk trikalsium hidrogenfosfat, $\text{Ca}_3\text{H}(\text{PO}_4)_2$.

Terbentuknya $\text{Ca}_3\text{H}(\text{PO}_4)_2$ disebabkan karena *thermal treatment* pada saat proses sintering yang menyebabkan terjadi dekomposisi HA menjadi fase $\text{Ca}_3\text{H}(\text{PO}_4)_2$ pada suhu di atas 900°C . Untuk mencegah hal tersebut perlu melakukan penurunan suhu sintering dari 1000°C menjadi maksimum pada suhu 900°C .

Karakterisasi Morfologi dan Komposisi HA

Morfologi permukaan dan komposisi unsur HA hasil sintesis dari karakterisasi dengan TM-EDX ditunjukkan pada Gambar 3.

HA dengan waktu sintering 3 jam memiliki kadar kalsium dan fosfat yang masing-masing 31% dan 19%, pada HA dengan waktu sintering 5 jam 32% dan 19%, sedangkan HA dengan waktu sintering 9 jam yaitu 37% dan 22%. Berdasarkan data komposisi



Gambar 3. Morfologi dengan perbesaran $1000\times$ (kiri) dan komposisi unsur (kanan) HA dari sintering pada (a) 3 jam, (b) 5 jam, dan (c) 9 jam

unsur, selanjutnya dapat dihitung rasio massa Ca/P. Rasio massa Ca/P dari HA sintering selama 3, 5, dan 9 jam secara berturut-turut adalah 1,65; 1,67 dan 1,69. Dari hasil perhitungan kadar tersebut, sintering selama 5 jam merupakan waktu optimal untuk pembentukan HA karena HA yang dihasilkan memiliki rasio Ca/P 1,67. Rasio Ca/P sebesar 1,67 merupakan rasio optimal untuk HA yang baik digunakan sebagai graft tulang karena rasio tersebut merupakan rasio Ca/P pada tulang.

KESIMPULAN

Cangkang telur ayam merupakan sumber kalsium dengan kadar cukup untuk memenuhi pada aplikasi graft tulang. Waktu sintering selama 5 jam merupakan waktu optimum untuk mendapatkan rasio Ca/P yaitu sebesar 1,67. Kristal HA hasil sintesis dengan menggunakan sumber kalsium dari cangkang telur ayam memiliki pola difraksi yang mirip dengan difraksi HA sintetik (ICSD #157481) walaupun masih mengandung pengotor $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (ICSD #6191).

DAFTAR PUSTAKA

Aoki, H. (1991). *Science and Medical Applications of Hydroxyapatite*. Takayama Press. Tokyo.
Bahrololoom, M. E., Javidi, M., Javadpour, S. & Ma, J. (2009). Characterisation of Natural Hydroxyapatite Extracted from Bovine Cortical Bone Ash. *Journal of Ceramic Processing Research*. 10(2): 129-138.
Gergely Gergely, G., Wéber, F., Lukács, I., Tóth, A.L., Horváth, Z.E., Mihály, J. & Balázs, C., (2010). Preparation and Characterization of

hydroxyapatite from eggshell. *Ceramics International*. 36(2): 803-806.

- Johansson, P., Jimbo, R., Kozai, Y., Sakurai, T., Kjellin, P., Currie, F. & Wennerberg, A. (2015). Nanosized Hydroxyapatite Coating on PEEK Implants Enhances Early Bone Formation: A Histological and Three-Dimensional Investigation in Rabbit Bone. *Materials*. 8(7): 3815-3830.
- Nayak, A.K., Laha, B. & Sen, K. (2011). Development of Hydroxyapatite-Ciprofloxacin Bone-Implants using »Quality by Design«. *Acta Pharmaceutica*. 61. 25-36.
- Rana, M., Akhtar, N., Rahman, S., Jamil, H.M. & Asaduzzaman, S.M. (2017). Extraction of Hydroxyapatite from Bovine and Human Cortical Bone by Thermal Decomposition and Effect of Gamma Radiation: A Comparative Study. *International Journal of Complementary & Alternative Medicine*. 8: 00263.
- Rossi, A.M., Prado da Silva, M.H., Ramirez, A.J., Biggemann, D., Caraballo, M.M., Mascarenhas, Y.P., Eon, J.G. & Moure, G.T. (2007). Structural Properties of Hydroxyapatite with Particle Size Less Than 10 Nanometers. *Key Engineering Materials*. 330-332: 255-258.
- Wu, S.C., Tsou, H.K., Hsu, H.C., Hsu, S.K., Liou, S.P. & Ho, W.F. (2013). A Hydrothermal Synthesis of Eggshell and Fruit Waste Extract to Produce Nanosized Hydroxyapatite. *Ceramics International*. 39(7): 8183-8188.
- Zhang, Y., Ni, M., Zhang, M. & Ratner, B. (2003). Calcium Phosphate—Chitosan Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Tissue Engineering*. 9(2): 337-345.