

**STUDI PEMBUATAN SCAFFOLD BOVINE HYDROXYAPATITE
DARI TULANG SAPI UNTUK APLIKASI IMPLAN TULANG MANDIBULA
MENGUNAKAN METODE KALSINASI**

Solechan¹ dan Saifudin Alie Anwar²

Abstrak

Waste cow bone bakso balungan in Central Java own produces 31.9 tons/day of merchants bakso. Bovine bone hydroxyapatite material can be made bioceramik derivative products to repair damaged hard tissues of the body due to brittle bones, bone cancer or accidents. Tissue damage including bone tumors. Tumors of the mandibular potentially cause interference and need removal of mandibular tumors that cause cracks. It is necessary for the formation of mandibular reconstruction of mandibular continuity with transplantation scaffolds. The use of limited donor transplanstasi, whereas synthetic implant material is very expensive. Preparation of bovine hydroxyapatite scaffold waste cow bone bakso balungan of reinforced PCL with calcination method would be less costly. The process of manufacture of bovine bone hydroxyapatite by cutting waste kanselosa in size 10 mm x 10 mmx 10 mm, and then calcined at 300, 6000, 900, and 1200°C for 2 hours. Furthermore PCL scaffold is reinforced with a concentration of 1, 3, and 5% by means of dip coating for several minutes. Bovine hydroxyapatite scaffold tested showed an increase XRD diffractogram with the calcination temperature gave sharp peaks with high intensity high crystal or crystalline form perfect but with the addition of PCL deficient diffraction process with a decrease inttensitas. The pore size and porosity influenced the high calcination but lower compressive strength. With the addition of the PCL layer increases the compressive strength, but decrease the pore diameter and porosity that is still under scaffolds characteristics and mechanical properties of commercial.

Keyword: Bakso, Bovine, Mandibular, Scaffolds, Implants.

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

¹ Teknik Mesin-Fakultas Teknik- Universitas Muhammadiyah Semarang

² Kedokteran Gigi-Fakultas kedokteran Gigi-Universitas Muhammadiyah Semarang

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 dimanfaatkan. 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 Surveillance 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**).



(a)



(b)

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 hydroxyapatite (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.

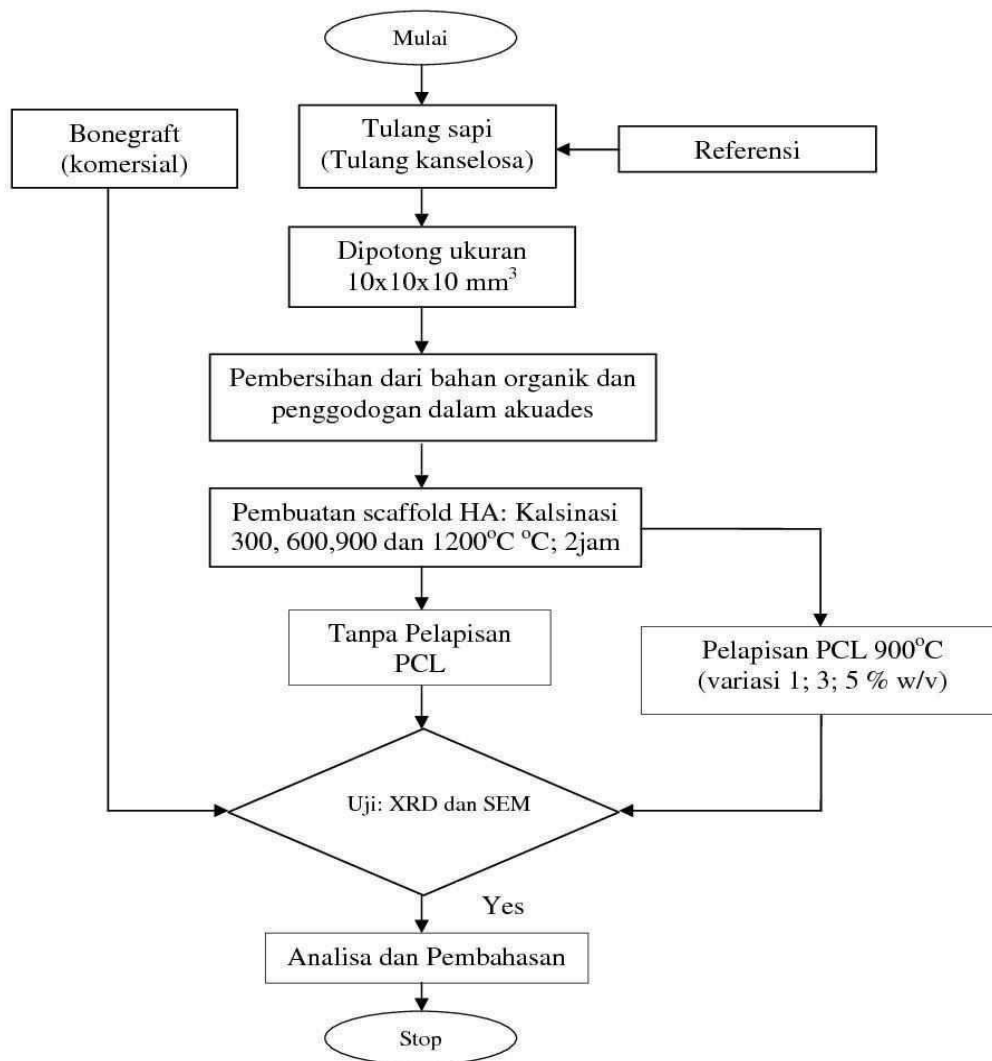
Dalam praktek, kebutuhan dokter ortopedi adalah berupa scaffold yang langsung digunakan untuk mengisi kekurangan tulang. Sehingga, HA serbuk masih harus diproses lebih lanjut menjadi scaffold. Proses ini memerlukan temperatur tinggi sekitar 1400°C yang biaya prosesnya mahal. Penggunaan plat logam ini 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 hydroxyapatite, scaffold tersebut masih rapuh, sehingga belum sesuai dengan kebutuhan dalam praktek. Oleh karena itu, pada riset ini, ingin melakukan studi awal pembuatan scaffold bovine hydroxyapatite 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.

METODOLOGI PENELITIAN

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 kanelosa sapi bakso balungan, Poly (ϵ -caprolactone) (PCL) komersial buatan Sigma Aldrich, dan bone graft komersial sebagai pembanding. 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 kanelosa 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 hydroxyapatite, 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.



Gambar 2. Diagram Alir Penelitian

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.

HASIL DAN PEMBAHASAN

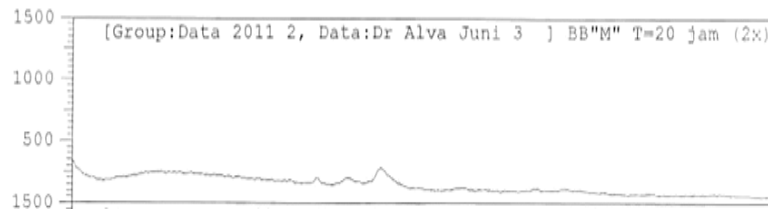
Uji X-Ray Diffractometer (XRD)

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.

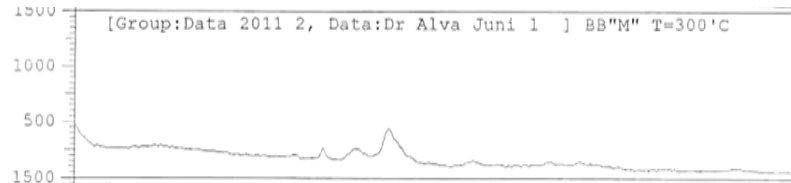
1. Pengaruh Temperatur pada Kalsinasi

Pengaruh temperatur pada kalsinasi bahan tulang terhadap produk yang dihasilkan, disajikan pada Gambar 3 (a, b, c, d, e dan f). Gambar 3 menunjukkan secara umum bahwa kenaikan temperatur memberikan difraktogram dengan pola yang serupa namun puncak-puncaknya semakin tajam. Lebih detil dapat dilihat bahwa kalsinasi pada temperatur yang relatif rendah (300 dan 600)^oC 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 (**Pujianto dkk, 2005**).

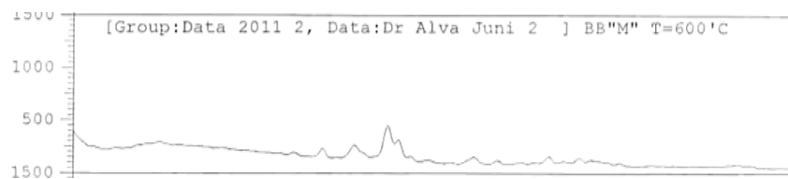
Pada temperatur 600^oC memberikan kristalinitas yang sedikit lebih tinggi dari pada temperatur 300^oC. Kenaikkan temperatur kalsinasi pada 900^oC pada Gambar 3d memberikan difraktogram dengan puncak-puncak yang tajam dengan intensitas yang tinggi (**Nasution, D., 2006**). Hal ini menandakan bahwa sampel telah berbentuk kristal dengan tingkat kristalinitas yang tinggi atau kristal yang sempurna. Namun demikian kenaikan temperatur 1200^oC 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.



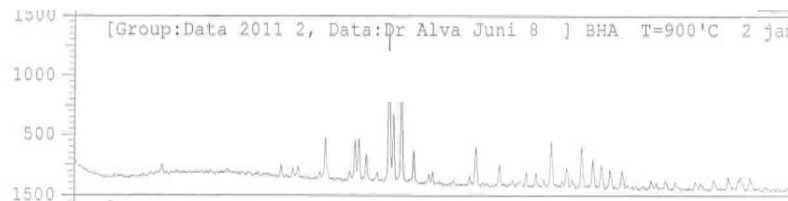
a. Pola difraksi sinar-X spesimen BB'M' T=2 jam (2x)



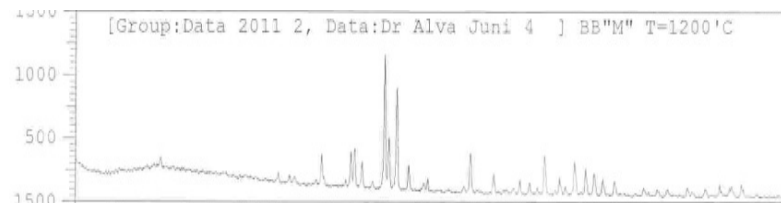
b. Pola difraksi sinar-X spesimen BB'M' T= 300°C



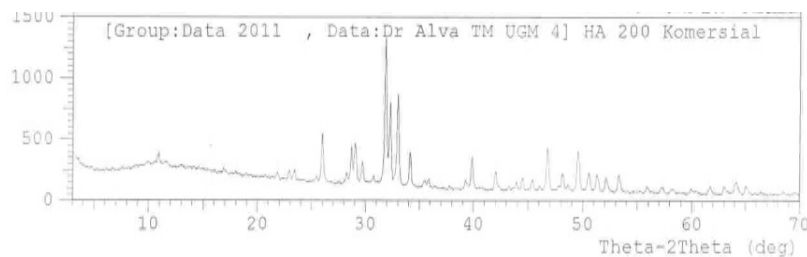
c. Pola difraksi sinar-X spesimen BB'M' T= 600°C



c. 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 komersil

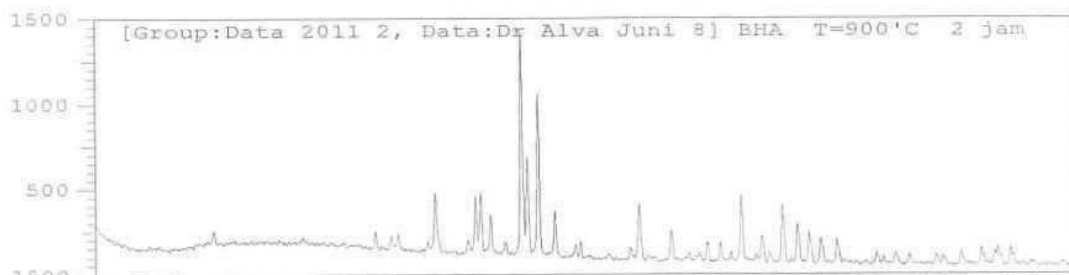
Gambar 3. Pola Difraksi Sinar-X Dari Produk Kalsinasi Pada Berbagai Temperatur

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.

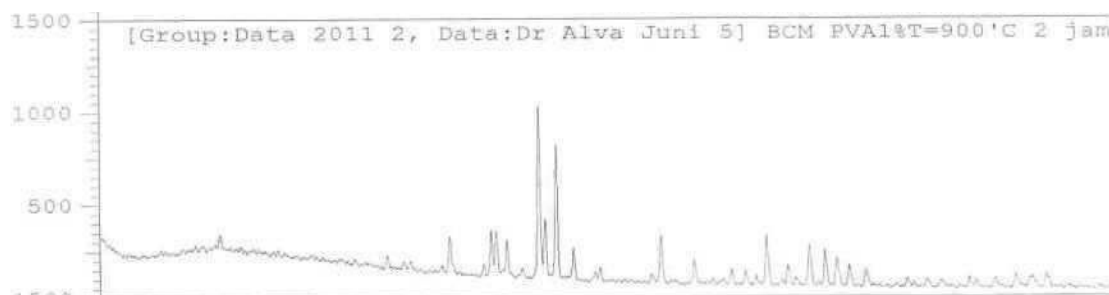
2. Pengaruh Kadar PCL

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

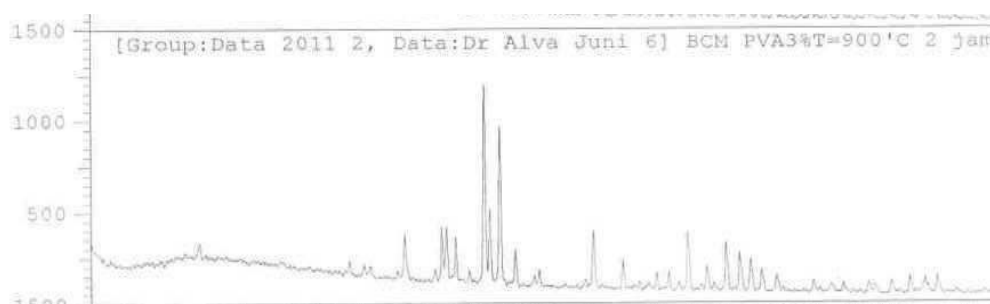
Apabila dicermati lebih detil, terlihat bahwa intensitas pada bahan dengan penambahan PCL yang semakin banyak 1 % dan 3 % mengalami kenaikan, meskipun kenaikannya relatif kecil yang ditunjukkan pada Gambar 4b dan 4c. Namun penambahan PCL yang lebih banyak (5%) ternyata menyebabkan penurunan intensitas 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%.



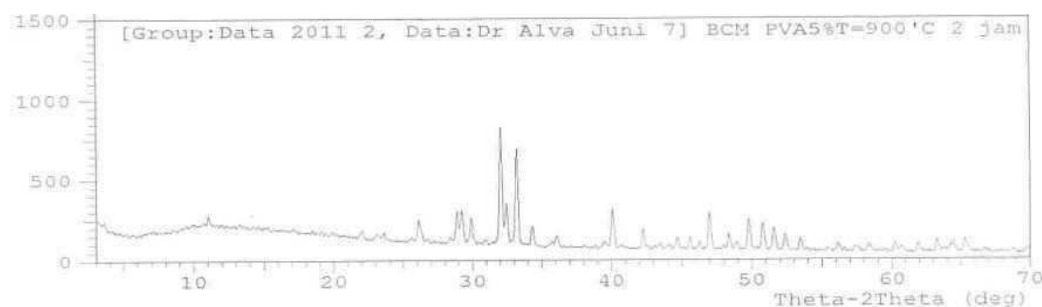
a. Pola difraksi sinar-X spesimen "BHA" T= 900°C



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



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

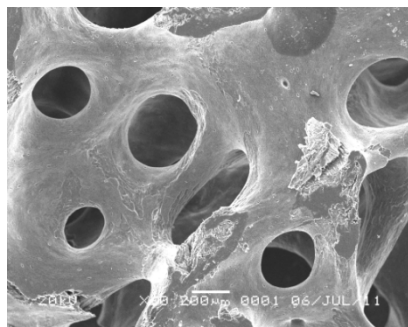


d. Pola difraksi sinar-X spesimen BCM"PCL 5%" T= 900°C

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

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 cancellous 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.



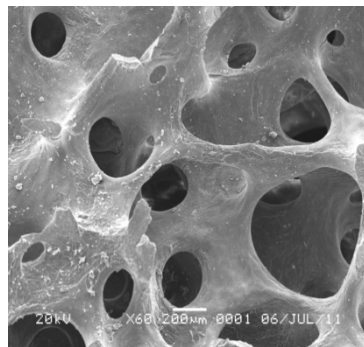
a) Pembesaran 60 x



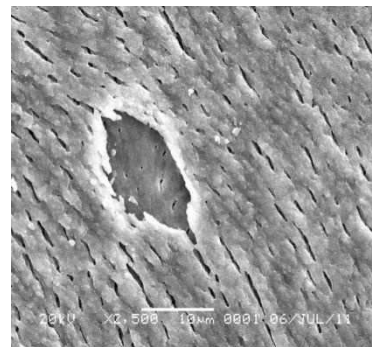
b) Pembesaran 2500 x

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



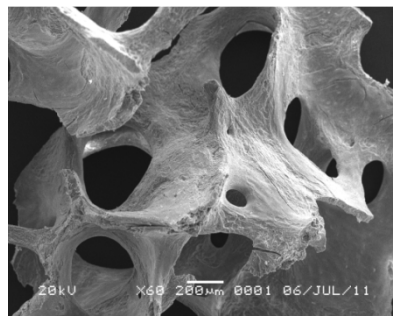
a) Pembesaran 60 x



b) Pembesaran 2500 x

Gambar 6. Struktur mikro cancellous bovine setelah dikalsinasi pada temperatur $900^\circ C$ selama 2 jam tanpa pelapis PLC: a) pembesaran 60x dan b) pembesaran 2500x

Gambar 6a menunjukkan porous interkoneksi cancellous 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.

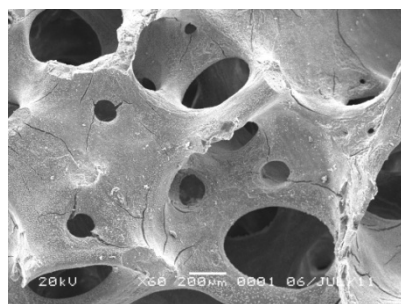


a) Pembesaran 60 x

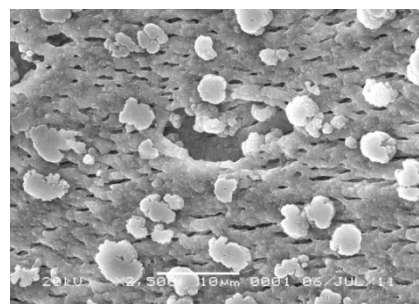


b) Pembesaran 2500 x

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



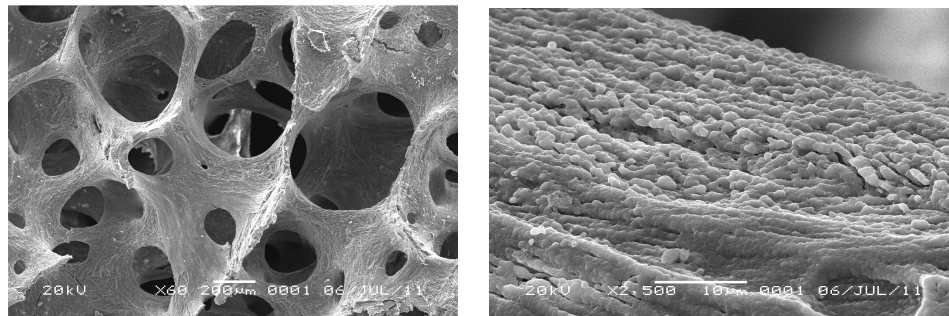
a) Pembesaran 60 x



b) Pembesaran 2500 x

Gambar 8. Struktur mikro cancellous 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)

(b)

a) Pembesaran 60 x

b) Pembesaran 2500 x

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

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 sytem 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., Siswomih ardjo, 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., 2009, Mandibular reconstruction, <<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, Antó'nio 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 Matrial Restorasi Kerusakan Tulang,

www.indonesiasik.com

PENULIS:

1. SOLECHAN

Teknik Mesin-Fakultas Teknik- Universitas Muhammadiyah Semarang

Jl. Kasipah no.12 Semarang 50254

E-mail : solechan1981@gmail.com

2. SAIFUDIN ALIE ANWAR

Kedokteran Gigi-Fakultas kedokteran Gigi-Universitas Muhammadiyah Semarang