

Diajukan sebagai salah satu syarat akademik
Program Studi Teknik Kimia Polimer pada Politeknik STMI Jakarta

OLEH :

EDWART

1512009

SUNOTO

1512012



PROGRAM STUDI

TEKNIK KIMIA

POLIMER

POLITEKNIK STMI JAKARTA

KEMENTERIAN PERINDUSTRIAN R.I

2016

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Tuhan yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir penelitian ini dengan baik.

Tugas Akhir penelitian dengan judul **“EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI SENYAWA HIDROKSIAPATIT DARI TULANG SAPI DENGAN METODE ALKALINE HIDROTERMAL.”** Disusun guna memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar sarjana Sains Terapan pada jurusan Teknik Kimia Polimer Politeknik STM Jakarta.

Dalam penulisan Tugas Akhir Penelitian ini penulis mendapat banyak dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, Penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih terdalam kepada Bapak **Dr. Ir. Agus Mundiyo** selaku dosen pembimbing Tugas Akhir penelitian serta Ibu **Yessy Warastuti S.Si** selaku pembimbing di Badan Tenaga Nuklir, Pasar Jumat, dengan kesabaran serata perhatiannya meluangkan waktu guna memberikan bimbingan serta pengarahan dan saran sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Orang tua dan keluarga kami yang selalu memberikan doa dan dorongan secara moril maupun material.
2. Bapak Dr. Mustofa, S.T., M.T Selaku Direktur Politeknik STMI Jakarta Kementerian Perindustrian RI.
3. Bapak Ir. Roosmariharso, MBA selaku ketua Program Studi Teknik Kimia Polimer Politeknik STMI Jakarta Kementerian Perindustrian RI.
4. Ibu Fitria Ika Aryanti, M. Eng selaku Sekertaris Program Studi Teknik Kimia Polimer Politeknik STMI Jakarta Kementerian Perindustrian RI.

5. Bapak Ir. Basril Abbas selaku ketua Bidang Kesehatan PATIR Batan Tenaga Nuklir Nasional, Pasar Jumat.
6. Kepada teman-teman seperjuangan dan seluruh pihak di Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, BATAN, Pasar Jumat.
7. Kepada orang terkasih, sahabat-sahabat, dan semua pihak yang membantu dalam menyelesaikan skripsi.

Semoga laporan Penelitian ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya, serta mahasiswa Teknik Kimia Polimer Politeknik STMI Jakarta Kementerian Perindustrian Replublik Indonesia pada Khususnya.

Jakarta, Juli 2016

Penulis

ABSTRAK

Tulang Sapi di Indonesia cukup besar ketersediaannya dan dapat digunakan sebagai sumber hidroksiapatit (HA) dimana sangat berguna untuk aplikasi biomedik dan bersifat ekonomis dan ramah lingkungan, tulang mengandung 35% senyawa organik dan 65% senyawa anorganik (mineral Tulang). Hidroksiapatit (HA) adalah salah satu biomaterial yang merupakan komponen utama jaringan tulang dan gigi Terdapat beberapa metode untuk mengekstraksi hidroksiapatit dari tulang sapi. Hidroksiapatit bersifat biokompatibilitas, osteo konduksi, tidak toksik, tidak menyebabkan inflamasi dan tidak menyebabkan imunogenik tetapi juga bioaktif yang mampu membentuk senyawa kimia dengan jaringan hidup. Dalam penelitian ini, tulang sapi diekstraksi dengan menggunakan metode alkalin hidrotermal menggunakan larutan Natrium Hidroksida (NaOH) 10% dan 20 % pada suhu 121⁰ C. Metode Alkalin Hidrotermal: Proses penghilangan Senyawa organik yang terdapat pada tulang dengan perlarut basa, dengan menggunakan suhu 121⁰ C serta bersifat alamiah. Tulang Karselus dan korteks dapat mengalami deproteinasi dan penghilangan lemak dengan menggunakan larutan natrium hidroksida. Pada penelitian ini membandingkan antara korteks dan karselus. Dalam proses ekstraksi didapat hidroksiapatit karbonat dengan rumus molekul $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, 6 kali pengambilan sampel rata-rata 80,421 gr diperoleh persentase hidroksiapatit sebesar 70,67%. Hasil karakterisasi menunjukan Analisis kadar lemak menggunakan metode KJELDAHL menunjukan bahwa hlangnya kadar lemak berturut-turut 8,54%, 2,87 %, dan 0,31% dan kadar protein yang didapat HA karselus sebesar 0,42%, pada HA korteks 0,34%, Karakterisasi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) menunjukkan terdapat gugus fosfat (PO_4), karbonat (CO_3), dan hidroksida (OH), serta karakterisasi *Scanning Elektron Microscopy* (SEM) diperoleh ukuran rentang pori hidroksiapatit pada HA karselus sebesar 0,6 – 1,6 μm dan pada HA korteks sebesar 0,6-2,3 μm .

Kata Kunci: hidroksiapatit, alkalin hidrotermal, Karselus dan Korteks.

DAFTAR ISI

| | |
|---------------------------------------------------------------------|-----|
| KATA PENGANTAR | i |
| DAFTAR ISI | iii |
| DAFTAR TABEL | v |
| DAFTAR GAMBAR | vi |
| ABSTRAK | vii |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar Belakang Masalah | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 2 |
| 1.3 Batasan Masalah | 2 |
| 1.4 Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.5 Manfaat Penelitian..... | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Proses Ekstraksi Pada Tulang Sapi..... | 4 |
| 2.1.1 Sapi..... | 4 |
| 2.1.2 Taksonomi Sapi Bali..... | 7 |
| 2.1.3 Tulang | 8 |
| 2.1.4 Komponen Tulang | 9 |
| 2.2 Hidroksiapatit..... | 10 |
| 2.3 Karakteristik pada Senyawa Hidroksiapatit..... | 13 |
| 2.3.1 Pengujian Lemak dengan Metode <i>Soxhlet</i> | 14 |
| 2.3.2 Pengujian Protein dengan Metode KJELDH..... | 15 |
| 2.3.3 Karakteristik FTIR. | 18 |
| 2.3.4 Karakteristik <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) | 20 |
| BAB III METODE PENELITIAN | |
| 3.1 Lokasi Penelitian | 23 |
| 3.2 Variabel Penelitian | 23 |
| 3.2.1 Variabel Tetap | 23 |
| 3.2.2 Variabel Berubah | 24 |
| 3.2.3 Variabel Terkontrol..... | 24 |

| | |
|-------------------------------------------------------------|----|
| 3.3 Bahan dan Alat | 24 |
| 3.3.1 Bahan Penelitian | 24 |
| 3.3.2 Peralatan Penelitian..... | 24 |
| 3.4 Rancangan Percobaan | 25 |
| 3.4.1 Proses Ekstraksi | 25 |
| 3.5 Skema Penelitian | 26 |
| 3.5.1 Tahap Pelaksanaan..... | 27 |
| 3.5.2 Pengadaan pengujian..... | 29 |
| 3.5.3 Tahap Pengolahan Data dan Analisis Data | 29 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| 4.1 Ekstraksi | 31 |
| 4.2 Analisa Protein | 33 |
| 4.3 Analisa Lemak | 33 |
| 4.4 Analisa Ca/P | 34 |
| 4.5 Analisa <i>Fourier Transform Intra Red</i> (FTIR) | 35 |
| 4.6 Analisa <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) | 38 |
| BAB V PENUTUP | |
| 5.1 Kesimpulan | 41 |
| 5.2 Saran | 42 |
| DAFTAR PUSTAKA | |
| LAMPIRAN | |

DAFTAR TABEL

| | |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel IV.1 Analisa Protein..... | 33 |
| Tabel IV.2 Analisa Lemak Tulang Tepi Sapi..... | 34 |
| Tabel IV.3 Rasio Perbandingan Ca/P Hidroksiapatit..... | 34 |
| Tabel IV.4 Identifikasi Gugus Tulang Sapi Setelah Pemanasan..... | 36 |
| Tabel IV.5 Hasil Identifikasi Gugus Fungsi Serbuk Hidroksiapatit..... | 37 |
| Tabel IV.6 Rentang Ukuran Pori Hidroksiaptit dengan Perbesaran 2.000..... | 40 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar II.1 Sapi Bali..... | 7 |
| Gambar II.2 Tulang Karsulus dan Korteks..... | 8 |
| Gambar II.3 Struktur Kimia Hidroksiapatit..... | 11 |
| Gambar II.4 Instrumen FTIR..... | 18 |
| Gambar II.5 Instrumentasi SEM..... | 20 |
| Gambar III.1 Diagram Alir Penelitian..... | 26 |
| Gambar III.2 Diagram Alir Proses..... | 28 |
| Gambar IV.1 Tulang Sapi Mentah Sebelum Perlakuan dengan Proses Alkalin Hidrotermal (a), dan Ekstrak Hidroksiapatit Setelah Perlakuan (b)..... | 32 |
| Gambar IV.2 Mesin Pengujian FTIR..... | 35 |
| Gambar IV.3 Spektrum FTIR pada Tulang Sapi Mentah Setelah Pemanasan..... | 36 |
| Gambar IV.4 Spektrum FTIR pada Serbuk Hidrosiapatit..... | 37 |
| Gambar IV.5 Mesin Pengujian SEM..... | 38 |
| Gambar IV.6 Foto SEM pada Serbuk Hidroksiapatit jenis Karsulus Perbesaran.. | 39 |
| Gambar IV.6 Foto SEM pada Serbuk Hidroksiapatit jenis Korteks Perbesaran .. | 39 |

ABSTRAK

Tulang sapi di Indonesia cukup besar ketersediaannya dan dapat digunakan sebagai sumber hidroksiapatit (HA) dimana sangat berguna untuk aplikasi biomedik dan bersifat ekonomis dan ramah lingkungan, tulang mengandung 35% senyawa organik dan 65% senyawa anorganik (mineral Tulang). Hidroksiapatit (HA) adalah suatu biomaterial yang merupakan komponen utama jaringan tulang dan gigi yang bersifat biokompatibilitas, osteo konduksi, tidak toksik, tidak menyebabkan inflamasi dan tidak menyebabkan imunogenik. Dalam penelitian ini, tulang sapi diekstraksi dengan menggunakan metode alkalin hidrotermal menggunakan larutan Natrium Hidroksida (NaOH) 10% dan 20 % pada suhu 121°C. Metode alkalin hidrotermal: proses penghilangan senyawa organik yang terdapat pada tulang dengan perlarut basa, dengan menggunakan suhu 121°C serta bersifat alamiah. Tulang kanselus dan korteks dapat mengalami deproteinasi dan penghilangan lemak dengan menggunakan larutan natrium hidroksida. Pada penelitian ini membandingkan antara korteks dan kanselus. Dalam proses ekstraksi didapat hidroksiapatit dengan rumus molekul $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, 6 kali pengambilan sampel rata-rata 80,421 gr diperoleh persentase hidroksiapatit sebesar 70,67%. Hasil karakterisasi menunjukan analisis kadar lemak menggunakan metode kjedhal menunjukan bahwa hilangnya kadar lemak berturut-turut 8,54%, 2,87 %, dan 0,31% dan kadar protein yang didapat HA kanselus sebesar 0,42%, pada HA korteks 0,34%, karakterisasi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) menunjukkan terdapat gugus fosfat (PO_4), karbonat (CO_3), dan hidroksida (OH), serta karakterisasi *Scanning Elektron Microscopy* (SEM) diperoleh ukuran rentang pori hidroksiapatit pada HA kanselus sebesar 0,6 – 1,6 μm dan pada HA korteks sebesar 0,6-2,3 μm .

Kata kunci: Ekstraksi, hidroksiapatit, alkalin hidrotermal, kanselus dan korteks.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Potensi sampah biologi (*biowaste*) seperti tulang sapi di Indonesia cukup besar ketersediaannya dan dapat digunakan sebagai sumber hidroksiapatit (HA) dimana sangat berguna untuk aplikasi biomedik dan bersifat ekonomis dan ramah lingkungan. Hidroksiapatit (HA) termasuk di dalam keluarga senyawa kalsium fosfat yang mempunyai rumus molekul $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Material HA berasal dari sumber alami dapat membentuk ikatan yang kuat dengan jaringan tulang. Komposisi tulang sapi yang terdiri dari 93% hidroksiapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ dan 7% β -tricalcium phosphate ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, β -TCP)⁶.

Jutaan orang menderita cacat tulang yang timbul dari kecelakaan, trauma, tumor atau penyakit tulang, dan dalam kasus-kasus ekstrim dapat mengakibatkan kematian. Setiap tahun kebutuhan *bone graft* terus bertambah. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya jumlah kecelakaan yang mengakibatkan patah tulang, penyakit bawaan, dan non bawaan. Berdasarkan data di Asia Indonesia adalah Negara dengan jumlah penderita patah tulang tertinggi. Diantaranya, ada sebanyak 300-400 kasus operasi bedah tulang per bulan di RS. Dr. Soetomo Surabaya. Bahan tulang pengganti tradisional yang sudah umum seperti *autografts*, *allografts* dan *xenografts*, tidak tahan lama sehingga menyebabkan resiko infeksi dan berdampak pada pengurangan kekebalan tubuh, sehingga mempengaruhi kualitas tulang pengganti tersebut. Hidroksiapatit (HA) adalah salah satu biomaterial yang merupakan komponen utama jaringan tulang dan gigi. Sifat utama hidroksiapatit adalah memiliki biokompatibilitas, ikatan tulang, dan dapat tumbuh serta berkembang bersama-sama dengan tulang asli atau regenerasi tulang yang baik¹.

Di Indonesia, sapi yang tercatat dalam Badan Pusat Statistik (BPS) pada tahun 2014 baik yang dipotong di rumah potong hewan maupun di luar rumah sudah barang tentu menghasilkan limbah, salah satunya adalah tulang sapi yang selama ini dimanfaatkan sebagai bahan baku kerajinan dan pembuatan tepung sebagai pelengkap mineral dalam pembuatan pakan ikan. Secara kimia, tulang sapi mengandung unsur seperti kalsium dan fosfor. Kalsium yang terkandung dalam tulang sapi adalah sebesar 7,07% dalam bentuk senyawa CaCO_3 , 1,96% dalam bentuk senyawa CaF_2 , dan 58,30% dalam bentuk senyawa $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Sedangkan fosfor sebanyak 2,09% dalam bentuk senyawa $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ dan 58,30% dalam bentuk senyawa $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ kalsium dan fosfor merupakan unsur utama pembentuk hidroksiapatit sehingga tulang sapi dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam sintesis hidroksiapatit.

Hidroksiapatit yang berasal dari tulang sapi telah secara luas dipergunakan untuk mencangkok, memperbaiki, mengisi, atau penggantian tulang, dan dalam pemulihan jaringan gigi karena biokompabilitas yang sangat baik dengan jaringan keras, bioaktivitas merekonstruksi ulang jaringan tulang yang telah rusak dan juga di dalam jaringan lunak⁴. Komposisi, struktur, ukuran, bentuk, dan morfologi dari hidroksiapatit ditentukan oleh metode alkalin hidrotermal menggunakan NaOH pada suhu tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah dipaparkan, maka rumusan permasalahan dari penelitian ini adalah :

1. bagaimanakah pengaruh ekstraksi pada tulang sapi dengan metode alkalin Hidrotermal?
2. bagaimana karakteristik dari hidroksiapatit yang di ekstraksi dari tulang sapi?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bahan baku berupa tulang sapi diperoleh dari rumah pemotongan sapi, pretreatment bahan baku secara kimia dengan menggunakan pelarut NaOH, proses ekstraksi menggunakan suhu pada proses *pretreatment* 121°C

2. Proses karakterisasi dilakukan dengan variabel yang divariasikan adalah jenis bagian yang ada pada tulang sapi.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. mengetahui hasil ekstraksi dari tulang sapi dengan metode alkalin hidrothermal menjadi serbuk hidroksiapatit (HA).
2. mengetahui karakterisasi hidroksiapatit (HA) pada tulang sapi dengan analisa lemak, analisa protein, analisa kalsium & fospat, analisa gugus fungsi dan analisa mikrostruktur.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Penelitian ini sebagai sarana untuk mengaplikasikan teori-teori dalam bidang teknik kimia yang diperoleh dalam bangku kuliah, sehingga dapat menambah pengetahuan dan wawasan penelitian secara real terkait dengan kondisi nyata dalam suatu proses pengolahan.
2. Penelitian ini diharapkan dapat menjadikan sumbangan pustaka dan bahan referensi atau rujukan dalam pembuatan hidroksiapatit dengan metode alkalin hidrotermal, khususnya bagi penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Proses Ekstraksi Pada Tulang Sapi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa dari tumbuh-tumbuhan, hewan dan lain-lain dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi bisa dilakukan dengan berbagai metode yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi. Pada proses ekstraksi dapat digunakan sampel dalam keadaan segar atau yang telah dikeringkan, tergantung pada sifat tumbuhan dan senyawa yang akan diisolasi. Penggunaan sampel segar lebih disukai, karena penetrasi pelarut yang digunakan selama penyaringan ke dalam membran sel tumbuhan secara difusi akan berlangsung lebih cepat, selain itu juga mengurangi kemungkinan terbentuknya polimer berupa resin atau artefak lain yang dapat terbentuk selama proses pengeringan. Penggunaan sampel kering dapat mengurangi kadar air didalam sampel sehingga mencegah kemungkinan rusaknya senyawa akibat aktivitas anti mikroba.

Ekstraksi tulang sapi dengan cara alami yaitu dengan metode alkalin hidrotermal dilakukan dengan berpedoman pada prosedur el barakat ⁴. Dan ekstraksi tulang sapi dengan cara sintetis dapat dibentuk dengan mereaksikan senyawa kimia (kalsium fosfor).

2.1.1 Sapi

Sapi adalah hewan ternak anggota suku bovidae dan anak suku boviniae. Sapi yang telah dikediri dan biasanya digunakan untuk membajak sawah di namakan lembu. Sapi dipelihara terutama untuk dimanfaatkan susu dan dagingnya sebagai pangan manusia. Hasil sampingan, seperti kulit, jeroan, tanduk, dan kotorannya juga dimanfaatkan untuk berbagai keperluan manusia. Di sejumlah tempat, sapi juga dipakai sebagai penggerak alat transportasi, pengolahan lahan tanam (bajak), dan alat industri lain (seperti peremas tebu). Karena banyak kegunaan ini, sapi telah menjadi bagian dari berbagai kebudayaan manusia sejak

lama. Sapi yang baru lahir beratnya mencapai 25-45 Kg. Usia sapi dewasa kisaran 2 tahun. Namun saat dewasa, beratnya bisa mencapai rata-rata 1.090 kg. Beratnya ini pun tergantung jenis atau Ras. Secara garis besar, bangsa-bangsa sapi (*bos*) yang terdapat di dunia ada dua, yaitu kelompok yang berasal dari sapi zebu (*bos indicus*) atau jenis sapi yang berpunuk, yang berasal dan tersebar di daerah tropis serta kelompok dari *bos primigenius*, yang tersebar di daerah sub tropis atau lebih dikenal dengan *bos taurus*.

A. Sapi Bali

Sapi bali merupakan banteng yang dijinakkan dengan tubuh lebih kecil dari banteng dengan berat badan berkisar 300–400 Kg. Termasuk tipe potong dengan karkas mencapai 57 %. Karakteristik sapi bali berbeda dengan sapi lainnya yang ada di nusantara.

Dinamakan sapi bali karena memang penyebaran populasi bangsa sapi ini terdapat di pulau bali. Sapi bali (*bos sondaicus*) adalah salah satu bangsa sapi asli dan murni Indonesia, yang merupakan keturunan asli banteng.

Ditinjau dari sejarahnya, sapi merupakan hewan ternak yang tidak dapat dipisahkan dari kehidupan masyarakat petani di Bali. Sapi bali sudah dipelihara secara turun menurun oleh masyarakat petani Bali sejak zaman dahulu. Petani memeliharanya untuk membajak sawah dan tegalan, serta menghasilkan pupuk kandang yang berguna untuk mengembalikan kesuburan tanah pertanian

Secara fisik, sapi bali mudah dikenali karena mempunyai ciri-ciri sebagai berikut:

a) Warna bulu

Warna bulu pada badannya akan berubah sesuai usia dan jenis kelaminnya, sehingga termasuk hewan *dimorphism-sex*. Pada saat masih “pedet”, bulu badannya berwarna sawo matang sampai kemerahan, setelah dewasa sapi bali jantan berwarna lebih gelap bila dibandingkan dengan sapi bali betina. Warna bulu sapi bali jantan biasanya berubah dari merah bata menjadi coklat tua atau hitam setelah sapi itu mencapai umur 1,5 tahun dan menjadi hitam mulus pada umur 3 tahun. Warna hitam dapat berubah menjadi coklat tua atau merah bata apabila sapi itu dikebiri, yang disebabkan pengaruh hormon *testosterone*.

b) Kaki

Kaki di bawah persendian karpal dan tarsal berwarna putih. Kulit berwarna putih juga ditemukan pada bagian duburnya dan pada paha bagian dalam kulit berwarna putih tersebut berbentuk oval (*white mirror*). Warna bulu putih juga dijumpai pada bibir atas/bawah, ujung ekor dan tepi daun telinga. Bulu sapi Bali dapat dikatakan bagus (halus) pendek-pendek dan mengkilap.

1. Ukuran badan berukuran sedang dan bentuk badan memanjang.
2. Kepala agak pendek dengan dahi datar
3. Badan padat dengan dada yang dalam.
4. Tidak berpunuk dan seolah tidak bergelambir
5. Kakinya ramping, agak pendek menyerupai kaki kerbau.
6. Pada punggungnya selalu ditemukan bulu hitam membentuk garis.
7. Hidung, kuku dan bulu ujung ekornya berwarna hitam
8. Tanduk pada sapi jantan tumbuh agak ke bagian luar kepala, sebaliknya
9. untuk jenis sapi betina tumbuh ke bagian dalam.

Sapi bali termasuk jenis yang disukai oleh para peternak karena dwiguna, bisa sebagai sapi pekerja juga sapi pedaging, serta mempunyai banyak keunggulan seperti:

- a. Subur (cepat berkembang biak/ fertilitas tinggi)
- b. Mudah beradaptasi dengan lingkungannya,
- c. Dapat hidup di lahan kritis.
- d. Mempunyai daya cerna yang baik terhadap pakan.
- e. Persentase karkas yang tinggi.
- f. Harga yang stabil dan bahkan setiap tahunnya cenderung meningkat.
- g. Khusus sapi bali Nusa Penida, selain bebas empat macam penyakit, yaitu jembrana, penyakit mulut dan kuku, antraks, serta *Malignant Catarrhal Fever* (MCF). Sapi Nusa Penida juga dapat menghasilkan vaksin penyakit jembrana.
- h. Kandungan lemak karkas rendah.
- i. Keempukan daging tidak kalah dengan daging impor.

Dari berbagai kelebihan tersebut, Sapi Bali juga memiliki kelemahan walaupun hanya sedikit, diantaranya :

1. Dapat terserang virus jembrana yang menyebar melalui media “lalat”.
2. Rentan terhadap *Malignant Catarrhal Fever*, jika berdekatan dengan domba.

2.1.2 Taksonomi Sapi Bali :

Kingdom : animalia atau binatang
Phylum : chordota, merupakan salah satu dari kira-kira 21 phylum kingdom mamalia yang mempunyai tulang belakang
Class : mamalia, binatang berdarah panas, binatang berambut, melahirkan anak yang kemudian disusukan
Ordo : *artidactyla* (mamalia berkuku)
Family : bovidae
SubGenus : a. Taurine : *Bos taurus*, *Bos indicus*
 b. Bibovine : *Bos gaurus*, *Bos frontalis*, *Bos sondaicus*
Species : *bos sondaicus*



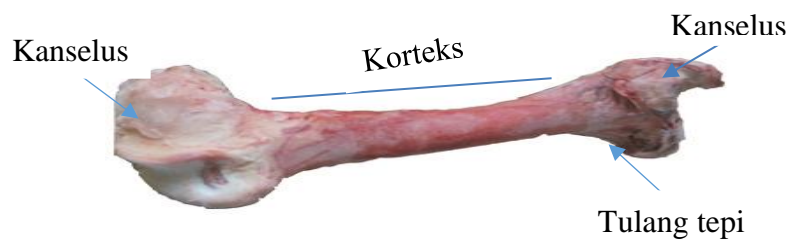
Gambar II.1 Sapi Bali ¹⁹

2.1.4 Tulang

Tulang merupakan kerangka yang dapat menopang tubuh. Bahan penyusun tulang terdiri atas 35% bahan organik dan 65% bahan anorganik (hidroksiapatit, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$).

Berdasarkan bentuknya tulang diklasifikasikan menjadi tulang pipa dan tulang pipih. Tulang pipa meliputi tulang anggota gerak (*seperti, tulang tibia, femur, humerus, radius dan ulna*) sedangkan tulang pipih meliputi tulang tengkorak, *sternum, scapula dan pelvis*.

Tulang pipa berkarakteristik padat atau kompak pada bagian luar dan berongga pada bagian dalamnya. Pada ujung tulang pipa terdapat struktur tulang berpori yang lebih dikenal sebagai tulang kanselus (*trabecular* atau *spons*) sedangkan tulang yang lebih padat dari kanselus adalah tulang korteks.



Gambar II.2 Tulang Kanselus dan Korteks

Sel-sel pembentuk tulang :

a. *Osteoblast*

Sel mononukleus yang mensintesis kolagen dan matriks tulang. Beberapa diantaranya terakumulasi sebagai matriks yang belum diklasifikasikan, disebut *osteoid*.

b. *Osteosit*

Seperti *osteoblast*, *osteosit* berasal dari matriks baik dengan mineral maupun tidak. Banyaknya *osteoblast* yang berubah menjadi *osteosit* bergantung kepada kecepatan. Semakin cepat pembentukan tulang semakin banyak jumlah osteosit.

c. *Osteoklas*

Dibandingkan dengan semua sel tulang dan prekursornya, multinukleus *osteoklas* adalah yang paling besar. Karena ukurannya, *osteoklas* dapat dengan mudah diidentifikasi dengan mikroskop cahaya.

d. Sel tulang dewasa

Sebagian besar sel terus berkembang untuk membentuk struktur dari tulang membentuk sel tulang dewasa.

Berdasarkan pada sumbernya terdapat 4 jenis *graft*:

1. Suatu teknik transplantasi (*graft*) sebuah jaringan atau organ yang berasal dari individu yang sama.
2. *Allograft*, suatu teknik transplantasi (*graft*) yang diperuntukkan bagi dua individu yang berbeda tetapi dalam satu spesies.
3. *Xenograft*, suatu teknik transplantasi (*graft*) dimana bahan cangkok berasal dari spesies yang berbeda, biasanya sapi.
4. *Alloplastic*, suatu teknik transplantasi (*graft*), dimana bahan cangkok berasal dari sintesis. Dengan menggunakan metode khusus, biasa terbuat dari kalsium fosfat untuk menghasilkan hidroksiapatit yang mempunyai sifat mirip tulang alami^{5,6,13,15}.

2.1.4 Komponen tulang

Tulang pada hakekatnya terdiri atas 3 tiga komponen utama sebagai berikut:

a. Senyawa organik

Senyawa organik utama penyusun tulang adalah protein, dan protein utama penyusun tulang adalah *kolagen* yang merupakan 90-95% bahan organik utama sedang sisanya adalah medium homogen yang disebut substansi dasar.

b. Substansi dasar tulang

Substansi dasar terdiri atas cairan *ekstraseluler* ditambah dengan proteoglikan khususnya kondroitin *sulfat* dan asam *hialuronat*. Fungsi utama dari bahan tersebut belum diketahui, akan tetapi diduga membantu pengendapan garam kalsium. Sedang bahan anorganik utama adalah garam kristal yang diendapkan di dalam

matrik tulang terutama terdiri dari kalsium dan fosfat yang dikenal sebagai kristal hidroksi.

2.2 Hidroksiapatit

Nama apatit pertama kali dipublikasikan oleh Werner pada tahun 1790. Pada tahun 1971 mulai berkembang teknik-teknik karakterisasi senyawa apatit yang berasal dari tulang dan gigi. Peneliti menggunakan metode *Scanning Elektron Microscope* (SEM) untuk proses karakterisasinya. Apatit juga terdapat dalam satu unit sel kristalogi dengan rumus kimia $M_{10}(ZO_4)X_2$. Unsur-unsur yang dapat menempati M, Z, dan X adalah sebagai berikut:

M : Kalsium, Stronsium, Barium, Kadmium dan Timbal

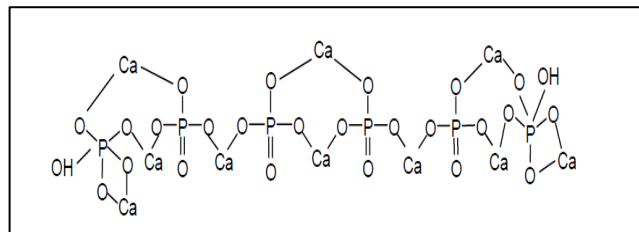
Z : Fosfor, Vanadium, Arsen, Belerang, Silikon dan Germanium.

X : Flour, Klor, Oksigen, dan Brom ⁴.

Senyawa apatit berbasis seperti fosfat, antara lain :

1. *Flourapatit* : $Ca_{10}(PO_4)_6F_2$
2. *Klorapatit* : $Ca_{10}(PO_4)_6Cl$
3. Hidroksiapatit : **$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$**
4. *Podolite* : $Ca_{10}(PO_4)_6CO_3$
5. *Dahlite* (karbonat apatit) : $Ca_{10}(PO_4CO_3)_6(OH)_2$
6. *Francolite* : $Ca_{10}(PO_4CO_3)_6(F,OH)_2$

Hidroksiapatit adalah sebuah molekul kristalin yang intinya tersusun dari fosfor dan kalsium dengan rumus molekul $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Molekul ini menempati porsi 65% dari fraksi mineral yang ada di dalam tulang manusia. Material ini juga terdapat dalam struktur gigi manusia terutama di dalam *dentine* dan *enamel*. Oleh karenanya, peranan material ini sangat penting di dalam dunia kesehatan



Gambar II.3 Struktur Kimia Hidroksiapatit

Terdapat beberapa metode yang telah diteliti untuk membuat hidroksiapatit sintetis, diantaranya melalui proses pengendapan kimia, metode sol-gel, mikroemulsi dan hidrolisis. Namun, hidroksiapatit sintetis tidak memiliki sifat biologis yang memadai sebagai apatit alami dalam tulang. Oleh karena itu dikembangkan pula hidroksiapatit yang berasal dari sumber alami seperti tulang ikan¹⁸, gigi dan tulang babi, cangkang tiram⁹, serta tulang sapi. Penelitian hidroksiapatit dari tulang sapi paling banyak dilakukan karena ketersediaan sumber yang melimpah, mudah diperoleh dan bernilai secara ekonomis. Selain itu tulang sapi termasuk *biowaste* yang pemanfaatannya bersifat ramah lingkungan^{13,17}. Tulang sapi terdiri dari komponen organik dan anorganik. Komponen organik terutama mengandung kolagen dan protein, serta sejumlah lemak dan protein non kolagen sedangkan komponen anorganik terutama adalah hidroksiapatit. Selain itu, tulang sapi juga mengandung sejumlah kecil karbonat, magnesium, fluorida, dan natrium. Menurut Keene, B.E (2004), pada sapi dewasa, berat tulang basah terdiri dari 20% air, 45% abu dan 35% materi organik. Kadar kalsium sebesar 37% dari kadar abu dan fosfor sebesar 18,5%. Pada berat tulang kering, sekitar 65% - 70% terdiri dari mineral dan 30% - 35% materi organik, selain zat tersebut adalah zat pengotor¹³.

1. Sifat-sifat Hidroksiapatit

Hidroksiapatit memiliki sifat yang penting yaitu *biocompatible*, *bioactive*, dan *bioresorbable*. *Biocompatible* maksudnya adalah material tersebut tidak menyebabkan reaksi penolakan dari sistem kekebalan tubuh manusia karena dianggap sebagai benda asing. *Bioactive* maksudnya adalah material sedikit terlarut tetapi membantu pembentukan sebuah lapisan permukaan apatit biologis sebelum langsung berinteraksi dengan jaringan dalam skala atomik, yang mengakibatkan

pembentukan sebuah ikatan kimia langsung ke tulang. Fungsi dari material yang *bioresorbable* adalah berperan dalam proses dinamis pembentukan dan reabsorpsi yang terjadi di dalam jaringan tulang, dengan demikian materi *bioresorbable* digunakan sebagai *scaffold* atau pengisi (*filler*) yang menyebabkan materi berinfiltrasi dan bersubstitusi ke dalam jaringan ¹².

2. Jenis-jenis Hidroksiapatit

Hidroksiapatit terbagi menjadi 2, yaitu hidroksiapatit alam (hidroksiapatit biologis) dan hidroksiapatit sintesis.

Hidroksiapatit biologis banyak ditemukan dalam struktur tulang dan gigi pada hewan dan manusia. Didalam tulang terkandung senyawa hidroksiapatit sekitar 65%-70% dan didalam *enamel* gigi terkandung sebesar 95% ¹².

a. Hidroksiapatit sintesis

Hidroksiapatit sintetis dapat dibentuk dengan mereaksikan senyawa kimia (kalsium fosfor). Terdapat beberapa metode yang dapat digunakan dalam proses pembuatan hidroksiapatit sintetis, meliputi metode:

- a. Metode basah, menggunakan reaksi larutan (dari larutan menjadi padatan), biasa digunakan membuat kristal hidroksiapatit.
- b. Metode kering, menggunakan reaksi padatan (dari padat menjadi padatan), biasa digunakan untuk penyiapan kristal tunggal hidroksiapatit.
- c. Metode hidrotermal, menggunakan reaksi hidrotermal (dari larutan menjadi padatan), biasa digunakan untuk penyiapan kristal tunggal hidroksiapatit.
- d. Metode alkoksida, menggunakan hidrolisis (dari larutan menjadi padatan), biasanya untuk menyiapkan membrane tipis hidroksiapatit poli kristal.
- e. Metode *flux*, menggunakan reaksi penggabungan garam (dari lelehan menjadi padatan), biasanya digunakan untuk menyiapkan komponen hidroksiapatit tunggal jumlah besar ⁴.

3. Hidroksiapatit alam dengan metode alkalin hidrotermal

Ekstraksi tulang sapi dengan metode alkalin hidrotermal dilakukan dengan berpedoman pada prosedur ⁴. Tulang sapi segar dipotong menjadi 4 bagian (kanselus, korteks, tulang tepi, dan serbuk sisa potong) alat yang digunakan pada tahap ini adalah *bone saw machine*, setelah itu hasil potongan tersebut dibersihkan

dengan mesin air bertekanan/*water jet* bertujuan untuk membersihkan kotoran-kotoran seperti darah yang masih menempel pada tulang. Tulang yang sudah bersih dimasukkan ke dalam botol dengan dipisahkan menurut bagiannya. Dilakukan penghilangan lemak (perebusan) dengan memasukan botol yang sudah berisi tulang ke dalam pemanas *autoclave* selama 20 menit (dilakukan 2 kali). Proses selanjutnya penghilangan lemak dengan merendam tulang korteks dan kanselus dengan *methanol-kloroform* 1:1 selama 5 jam lalu di masukan ke dalam oven selama ± 24 jam untuk proses pengeringan. Proses selanjutnya adalah proses alkalin hidrotermal dimana proses ini adalah proses inti dari ekstraksi tulang sapi ini. Sebanyak ± 20 gram tulang sapi kering ditambah dengan 300 ml larutan NaOH 20% kemudian di *autoclave* pada suhu 121°C selama 30 menit. Proses tersebut diulang kembali dengan melakukan penggantian larutan NaOH. Dilakukan proses sonikasi untuk membantu proses penghancuran tulang. Setelah itu, ditambahkan ± 500 ml (sampai tulang terendam) larutan NaOH 20% dan dilakukan proses pengadukan pada suhu 225°C . Dilakukan *homogenizer* jika keadaan tulang masih belum homogen sepenuhnya. Endapan hidroksiapatit digerus dengan mortar dan diayak menggunakan ayakan berukuran 200 mesh sehingga diperoleh serbuk hidroksiapatit. Proses ekstraksi hidroksiapatit dari tulang sapi ini dilakukan sebanyak enam kali (6 bonggol) pengulangan, dan dihitung berat rata-rata ekstrak hidroksiapatit yang diperoleh.

Tabel II.1 Standar Hidroksiapatit (HA) untuk Biomedis

| Sifat | Spesifikasi |
|----------------|-------------------------|
| Berat Material | <50 ppm |
| Kadar Ca:P | 1.67 – 1.76 |
| Densitas | 2.98 g/cm ³ |
| Kekuatan Tarik | 50,8 Mpa minimum |
| Kekuatan geser | >22 Mpa |
| Serbuk HA | 200 mesh, Nano Material |

Sumber: (HA) For *biomedical Application*

2.3 Karakterisasi Pada Senyawa Hidroksiapatit

Untuk mengetahui sifat yang terdapat pada senyawa hidroksiapatit perlu dilakukan karakterisasi dan pengujian pada senyawa hidroksiapatit itu sendiri. Adapun karakterisasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah: Pengujian

kandungan lemak, pengujian kandungan protein, karakterisasi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan *Scanning Electro Microscope* (SEM).

2.3.1 Pengujian Lemak dengan Metode *Soxhlet*

Lemak bebas diekstraksi dengan pelarut non polar. Metode *soxhlet* yaitu lemak yang terekstraksi dalam pelarut akan terakumulasi dalam wadah pelarut (labu *soxhlet*), kemudian dipisahkan dari pelarutnya dengan cara dipanaskan dengan *oven* 105°C . Pelarut akan menguap sedangkan lemak tidak karena titik didih lemak lebih tinggi dari 105°C , sehingga menguap dan tinggal dalam wadah. Lemak hasil ekstraksi kemudian ditimbang beratnya lalu dihitung sehingga diperoleh kadar lemak dalam sampel.

Menurut Lehninger (1982) lemak merupakan bagian dari lipid yang mengandung asam lemak jenuh bersifat padat. Lemak merupakan senyawa organik yang terdapat di alam serta tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik nonpolar, misalnya *dietil eter* ($C_2H_5OC_2H_5$), kloroform ($CHCl_3$), benzena, hexana dan hidrokarbon lainnya. Lemak dapat larut dalam pelarut tersebut karena lemak mempunyai polaritas yang sama dengan pelarut.

Dalam mengetahui kadar lemak yang terdapat di bahan pangan dapat dilakukan dengan mengekstraksi lemak. Namun mengekstrak lemak secara murni sangat sulit dilakukan, sebab pada waktu mengekstraksi lemak, akan terekstraksi pula zat-zat yang larut dalam lemak seperti *sterol*, *phospholipid*, asam lemak bebas, *pigmen karotenoid*, khlorofil, dan lain-lain. Pelarut yang digunakan harus bebas dari air (pelarut *anhydrous*) agar bahan-bahan yang larut dalam air tidak terekstrak dan terhitung sebagai lemak dan keaktifan pelarut tersebut menjadi berkurang ¹⁷.

Metode *soxhlet* termasuk jenis ekstraksi menggunakan pelarut semikontinu. Ekstraksi dengan pelarut semikontinu memenuhi ruang ekstraksi selama 5 sampai dengan 10 menit dan secara menyeluruh memenuhi sampel kemudian kembali ke tabung pendidihan. Kandungan lemak diukur melalui berat yang hilang dari contoh atau berat lemak yang dipindahkan. Metode ini menggunakan efek perendaman contoh dan tidak menyebabkan penyaluran. Walaupun begitu, metode ini memerlukan waktu yang lebih lama dari pada metode kontinu ⁸.

Prinsip *soxhlet* ialah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut konstan dengan adanya pendingin balik. *Soxhlet* terdiri dari pengaduk atau granul anti-*bumping*, *still pot* (wadah penyuling, *bypass sidearm*, *thimble* selulosa, *extraction liquid*, *syphon arm inlet*, *syphon arm outlet*, *expansion adapter*, *condenser* (pendingin), *cooling water in*, dan *cooling water out* ¹⁷.

Faktor-faktor yang memengaruhi laju ekstraksi adalah tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut, dan tipe pelarut. Dibandingkan dengan cara maserasi, ekstraksi dengan *soxhlet* memberikan hasil ekstrak yang lebih tinggi karena pada cara ini digunakan pemanasan yang diduga memperbaiki kelarutan ekstrak. Makin polar pelarut, bahan terekstrak yang dihasilkan tidak berbeda untuk kedua macam cara ekstraksi. Fenolat total yang tertinggi didapatkan pada proses ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat. Sifat antibakteri tertinggi terjadi pada ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat untuk ketiga macam bakteri uji gram-positif. Semua ekstrak tidak menunjukkan daya hambat yang berarti pada semua bakteri uji gram-negatif ⁶.

2.3.2 Pengujian Protein dengan Metode Kjeldahl

Metode kjeldahl merupakan metode yang sederhana untuk penetapan nitrogen total pada asam amino, protein dan senyawa yang mengandung nitrogen. Sampel didestruksi dengan asam sulfat dan dikatalisis dengan katalisator yang sesuai sehingga akan menghasilkan amonium sulfat. Setelah pembebasan dengan alkali kuat, amonia yang terbentuk disuling uap secara kuantitatif ke dalam larutan penyerap dan ditetapkan secara titrasi. Metode ini telah banyak mengalami modifikasi. Metode ini cocok digunakan secara semimikro, sebab hanya memerlukan jumlah sampel dan pereaksi yang sedikit dan waktu analisa yang pendek.

Cara kjeldahl digunakan untuk menganalisis kadar protein kasar dalam bahan makanan secara tidak langsung, karena yang dianalisis dengan cara ini adalah kadar nitrogennya. Dengan mengalikan hasil analisis tersebut dengan angka konversi 6,25, diperoleh nilai protein dalam bahan makanan itu. Untuk beras, kedelai, dan gandum angka konversi berturut-turut sebagai berikut: 5,95, 5,71, dan

5,83. Angka 6,25 berasal dari angka konversi serum albumin yang biasanya mengandung 16% nitrogen. Prinsip cara analisis kjedahl adalah sebagai berikut: mula-mula bahan didestruksi dengan asam sulfat pekat menggunakan katalis selenium oksiklorida atau butiran Zn. Amonia yang terjadi ditampung dan dititrasi dengan bantuan indikator. Cara kjedahl pada umumnya dapat dibedakan atas dua cara, yaitu cara makro dan semimakro. Cara makro kjedahl digunakan untuk contoh yang sukar dihomogenisasi dan besar contoh 1-3 g, sedang semimikro kjedahl dirancang untuk contoh ukuran kecil yaitu kurang dari 300 mg dari bahan yang homogen. Cara analisis tersebut akan berhasil baik dengan asumsi nitrogen dalam bentuk ikatan N-N dan N-O dalam sampel tidak terdapat dalam jumlah yang besar. Kekurangan cara analisis ini ialah bahwa purina, pirimidina, vitamin-vitamin, asam amino besar, kreatina, dan kreatinina ikut teranalisis dan terukur sebagai nitrogen protein. Walaupun demikian, cara ini kini masih digunakan dan dianggap cukup teliti untuk pengukuran kadar protein dalam bahan makanan. Analisa protein cara kjedahl pada dasarnya dapat dibagi menjadi tiga tahapan yaitu proses destruksi, proses destilasi dan tahap titrasi.

1. Tahap destruksi

Pada tahapan ini sampel dipanaskan dalam asam sulfat pekat sehingga terjadi destruksi menjadi unsur-unsurnya. Elemen karbon, hidrogen teroksidasi menjadi CO, CO₂ dan H₂O. Sedangkan nitrogennya (N) akan berubah menjadi (NH₄)₂SO₄. Untuk mempercepat proses destruksi sering ditambahkan katalisator berupa campuran Na₂SO₄ dan HgO (20:1). Gunning menganjurkan menggunakan K₂SO₄ atau CuSO₄. Dengan penambahan katalisator tersebut titik didih asam sulfat akan dipertinggi sehingga destruksi berjalan lebih cepat. Selain katalisator yang telah disebutkan tadi, kadang-kadang juga diberikan Selenium. Selenium dapat mempercepat proses oksidasi karena zat tersebut selain menaikkan titik didih juga mudah mengadakan perubahan dari valensi tinggi ke valensi rendah atau sebaliknya.

2. Tahap distilasi

Pada tahap distilasi, ammonium sulfat dipecah menjadi ammonia (NH₃) dengan penambahan NaOH sampai alkalis dan dipanaskan, supaya selama

distilasi tidak terjadi *superheating* ataupun pemercikan cairan atau timbulnya gelembung gas yang besar maka dapat ditambahkan logam zink (Zn). Ammonia yang dibebaskan selanjutnya akan ditangkap oleh asam khlorida atau asam borat 4 % dalam jumlah yang berlebihan. Agar supaya kontak antara asam dan ammonia lebih baik maka diusahakan ujung tabung distilasi tercelup sedalam mungkin dalam asam. Untuk mengetahui asam dalam keadaan berlebihan maka diberi indikator misalnya BCG + MR atau PP.

3. Tahap titrasi

Apabila penampung distilat digunakan asam khlorida maka sisa asam khorida yang bereaksi dengan ammonia dititrasi dengan NaOH standar (0,1 N). Akhir titrasi ditandai dengan tepat perubahan warna larutan menjadi merah muda dan tidak hilang selama 30 detik bila menggunakan indikator PP.

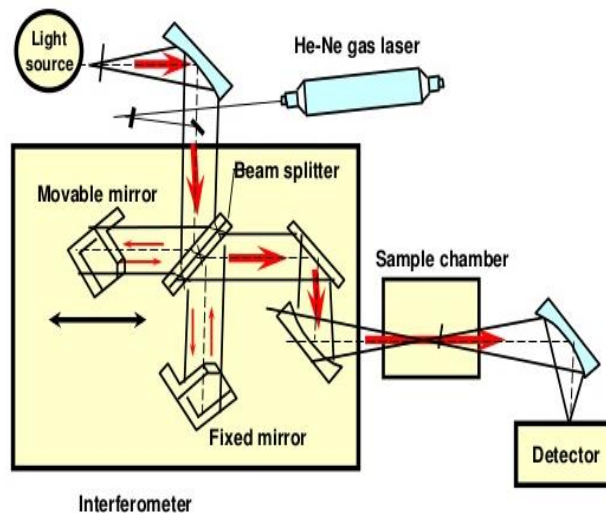
$$\%N = \times N. NaOH \times 14,008 \times 100\%$$

Apabila penampung distilasi digunakan asam borat maka banyaknya asam borat yang bereaksi dengan ammonia dapat diketahui dengan titrasi menggunakan asam khlorida 0,1 N dengan indikator (BCG + MR). Akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna larutan dari biru menjadi merah muda.

$$\%N = \times N.HCl \times 14,008 \times 100 \%$$

Setelah diperoleh %N, selanjutnya dihitung kadar proteinnya dengan mengalikan suatu faktor. Besarnya faktor perkalian N menjadi protein ini tergantung pada persentase N yang menyusun protein dalam suatu bahan ⁷.

2.3.3 Karakteristik *Fourier Transform Infra Red (FTIR)* pada Senyawa Hidroksiapatit



Gambar II.4 Instrumentasi FTIR ¹⁷

22

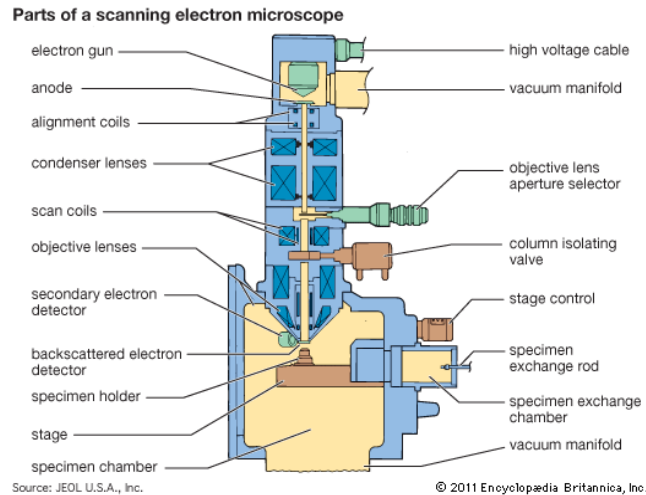
Spektrofotometer *Fourier Transform Infra-Red*(FTIR) pada umumnya memiliki prinsip yang sama dengan spektrofotometer inframerah. Perbedaan diantara keduanya terletak pada sistem optiknya. Spektrofotometer FTIR dilengkapi dengan interferometer yang merupakan instrumen yang digunakan sebagai pengganti monokromator yang dapat memisahkan radiasi menjadi dua bagian dan menghubungkannya kembali sehingga variasi intensitas yang keluar dapat diukur sekali dengan detektor. Sistem optik spektrofotometer FTIR dilengkapi dengan cermin yang bergerak tegak lurus dan cermin yang diam. Radiasi dibagi oleh pembagi berkas menjadi dua bagian lalu direaksikan kembali ke arah pembagi berkas, kemudian berkas tersebut sebagian direfleksikan dan sebagian diteruskan, sehingga berkas yang telah melewati cermin diam maupun cermin bergerak mencapai detektor. Adanya jarak yang ditempuh menuju cermin bergerak dan jarak cermin yang diam menimbulkan perbedaan jarak tempuh radiasi yang selanjutnya disebut sebagai retardasi. Hubungan antara intensitas radiasi IR yang diterima detektor terhadap retardasi disebut sebagai interferogram. Sedangkan sistem optik dari spektrofotometer inframerah yang

didasarkan atas bekerjanya interferometer disebut sebagai sistem optik *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) ⁸.

Sistem optik *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) menggunakan prinsip radiasi *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* (LASER) yang berfungsi sebagai radiasi yang diinterferensikan dengan radiasi inframerah agar sinyal radiasi infra merah yang diterima oleh detektor utuh dan lebih baik. Dari sisi detektor, Spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* menggunakan detektor *Triglisin Sulfat* (TGS) atau *Mercury Cadmium Telluride* (MCT). Pada penerapannya, detektor MCT lebih banyak digunakan dibandingkan detektor TGS karena dapat memberikan respon yang lebih baik (lebih cepat), lebih sensitif, serta sangat selektif terhadap energi vibrasi yang diterima dari radiasi inframerah.

FTIR dapat digunakan untuk menganalisa senyawa organik dan anorganik. Selain itu, FTIR juga dapat digunakan untuk analisa kualitatif dengan membandingkan *peak* yang dihasilkan sehingga dapat menganalisa gugus fungsi yang terkandung didalam bahan dan analisa kuantitatif dengan melihat kekuatan absorpsi senyawa pada panjang gelombang tertentu. Keuntungan FTIR dibanding spektroskopi inframerah diantaranya yaitu lebih cepat karena pengukuran dilakukan secara serentak, memiliki resolusi yang lebih baik, dapat mengukur sampel dalam jumlah yang sangat sedikit, serta mekanik optik yang lebih sederhana ⁸.

2.3.4 Karakteristik *Scanning Electron Microscope* (SEM)



Gambar II.5 Instrumentasi SEM¹⁷

Scanning Electron Microscope (SEM) adalah jenis mikroskop yang menggunakan sinar elektron untuk membuat gambar dari spesimen. Hal ini mampu perbesaran yang lebih tinggi dan memiliki kekuatan menyelesaikan lebih besar daripada mikroskop cahaya, yang memungkinkan untuk melihat objek jauh lebih kecil secara detail lebih halus.

Scanning Electron Microscope (SEM) adalah jenis mikroskop elektron yang gambar permukaan sampel dipindai dengan menggunakan sinar elektron berenergi tinggi dalam pola pemindai *pixel*. *Scanning Electron Microscope* (SEM) adalah mikroskop yang menggunakan hamburan elektron dalam membentuk bayangan elektron berinteraksi dengan atom-atom yang membentuk sampel menghasilkan sinyal yang berisi informasi tentang topografi permukaan sampel, komposisi dan sifat-sifat lain seperti konduktivitas listrik.

Alat ini memiliki banyak keuntungannya jika dibandingkan dengan menggunakan mikroskop cahaya. SEM menghasilkan bayangan dengan resolusi yang tinggi, yang maksudnya adalah pada jarak yang sangat dekat tetap dapat menghasilkan perbesaran yang maksimal tanpa memecahkan gambar. Kombinasi dari perbesaran kedalaman jarak fokus, resolusi yang bagus, dan

persiapan yang mudah, membuat SEM merupakan satu dari alat-alat yang sangat penting untuk digunakan dalam penelitian saat ini.

Cara kerja SEM yaitu gambar dibuat berdasarkan deteksi elektron baru (elektron sekunder) atau elektron pantul yang muncul dari permukaan sampel ketika sampel tersebut dipindai dengan sinar elektron. Elektron sekunder atau elektron pantul yang terdeteksi selanjutnya diperkuat sinyalnya, kemudian besar amplitudonya ditampilkan dalam gradasi gelap-terang dalam monitor *Cathode Ray Tube* (CRT). Di layar CRT inilah gambar struktur objek yang sudah diperbesar bias dilihat. Pada proses operasinya SEM tidak memerlukan sampel yang ditipiskan, sehingga bias digunakan untuk melihat objek dari sudut pandang tiga dimensi.

Pada sebuah *Scanning Electron Microscope* (SEM) terdapat beberapa peralatan utama, antara lain:

1. Pistol elektron, biasanya berupa filamen yang terbuat dari unsur yang mudah melepas elektron, misalnya tungsten
2. Lensa untuk elektron, berupa lensa magnetis karena elektron yang bermuatan negatif dapat dibelokkan oleh medan magnet
3. Sistem vakum, karena elektron sangat kecil dan ringan maka jika ada molekul udara yang lain elektron yang berjalan menuju sasaran akan terpecah sebelum mengenai sasaran sehingga menghilangkan molekul udara sangat penting.

Prinsip kerja SEM adalah sebagai berikut :

1. Sebuah pistol elektron memproduksi sinar elektron dan dipercepat dengan anoda
2. Lensa magnetik memfokuskan elektron menuju sampel
3. Sinar elektron yang terfokus memindai keseluruhan sampel
4. Ketika elektron mengenai sampel maka sampel akan mengeluarkan elektron baru yang akan diterima oleh detektor dan dikirim ke monitor (CRT = *Cathode Ray Tube*).

Aplikasi dari mikroskop pemindai electron dirangkum sebagai berikut:

1. Topografi : menganalisa permukaan dan tekstur
2. Morfologi : menganalisa bentuk dan ukuran dari sampel
3. Komposisi : menganalisa komposisi dari permukaan benda secara kuantitatif dan kualitatif⁹.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bahan Kesehatan, Bidang Proses Radiasi, Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional, Pasar Jumat, Jakarta Selatan. Waktu penelitian dimulai pada bulan Februari 2016 sampai dengan Mei 2016. Pada lokasi ini juga dilakukan pengujian Senyawa dengan (Distilasi *Soxhlet*, Metode Kjeldahl, Titrasi, *Spectrofotometry*, FTIR) sedangkan Pengujian Senyawa dengan (*Scanning Electro Microscopy*) dilakukan pada tanggal 14 April 2016 di Laboratorium Forensik Mabes Polri, Kebayoran Baru, Jakarta Selatan.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini ada 3 yakni variabel tetap, variabel berubah dan variabel terkontrol.

3.2.1 Variabel Tetap

Variabel tetap merupakan variabel yang tidak berubah selama penelitian berlangsung. Adapun variabel- variabel tersebut adalah sebagai berikut:

- a. Jenis Pelarut : NaOH
Methanol-Chloroform
- b. Suhu : 121°C (*Autoclave*)
- c. Waktu Pemanasan : 15 Menit dan 20 Menit (Tulang + H₂O)
25 menit dan 30 menit (Tulang + NaOH)
- d. Waktu Pengeringan : 24 jam

3.2.2 Variabel Berubah

Variabel berubah merupakan variabel yang di variasikan pada tiap penelitian agar didapat hasil yang diinginkan. Pada penelitian ini variabel yang berubah yaitu: tulang kanselus dan tulang korteks.

3.2.3 Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol yaitu: kondisi operasi proses pemanasan, kondisi operasi proses pengeringan dan ukuran produk hidroksiapatit.

3.3 Bahan dan Alat

Pada penelitian ini, bahan yang digunakan yaitu tulang sapi dan pelarut NaOH dan peralatan yang digunakan meliputi metode alkalin hidrotermal.

3.3.1 Bahan Penelitian

a) Tulang

Tulang yang digunakan pada penelitian ini adalah tulang sapi dewasa dengan usia sekitar 2 tahun yang diperoleh dari Pasar Cisalak, Kota Depok. Bagian yang digunakan dalam penelitian terdapat pada bagian kaki tulang tersebut, dalam bagian kaki tersebut dibagi dalam 4 bagian yaitu : korteks, kanselus (bagian inti), tulang tepi dan *powder* (bagian pendukung pengujian).

b) Pelarut

Pelarut yang digunakan yaitu Natrium Hidroksida (NaOH) 10% dan 20%, *methanol-chloroform* (1:1), heksan untuk pengujian lemak.

3.3.2 Perlatan Penelitian

a. Proses Alkalin Hidrotermal :

- | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|
| 1. Timbangan + timbangan analitis | 9. Pengaduk |
| 2. Alat potong sapi | 10. Pipet volume dan pipet ukur |
| 3. <i>Water jet</i> | 11. <i>Filler</i> |
| 4. <i>Bakker glass</i> | 12. Labu ukur leher panjang |
| 5. Kulkas | 13. Corong <i>bucher</i> |
| 6. Bransonic | 14. Corong gelas |
| 7. <i>Oven</i> | 15. <i>Erlenmeyer</i> |
| 8. <i>Autoclave</i> | 16. Pompa <i>vacuum</i> penyaringan |

- | | |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 17. <i>Stirer</i> + magnet <i>stirrer</i> | 22. <i>Petridish</i> |
| 18. Kertas saring | 23. Sikat tabung reaksi |
| 19. Spatula logam | 25. Alat uji lemak (distilasi <i>soxhlet</i>) |
| 20. Mortal dan pastle | 26. <i>Indicator</i> universal dll |
| 21. Desikator | |

b. Proses Pengujian

1. Alat *soxhlet*:
 - a) Kondensor (*cooler*) + selang
 - b) Labu didih
 - c) Kertas saring kasar
 - d) Cabang *soxhlet*
 - e) *Siphone tube*
 - f) *Vavour tube*
 - g) Statif + klem
 - h) *Heather*
 - i) Gelas Ukur 500 ml
2. *Spectrofotometry*
3. Serangkaian Alat Metode Kjahdal
4. *Scanning Electro Microscopy* (SEM)
5. *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

3.4 Rancangan Percobaan

Pada penelitian ini meliputi persiapan bahan, proses ekstraksi berlangsung dengan menggunakan metode alkalin hidrotermal dan karakterisasi menggunakan Distilasi *Soxhlet*, Metode Kjedadhl, Titrasi, *Spectrofotometry*, FTIR dan *Scanning Electro Microscopy*.

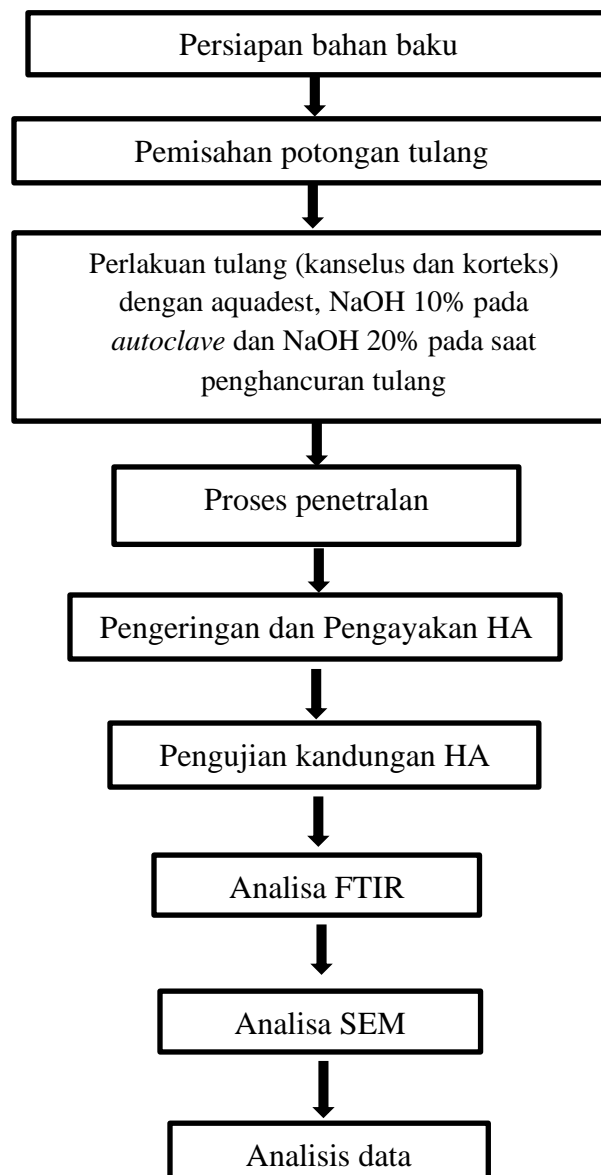
3.4.1 Proses Ekstraksi

Pada penelitian ini, proses ekstraksi berlangsung dengan metode alkalin hidrotermal. Pada metode alkalin hidrotermal, dilakukan dengan pelarut NaOH dan *methanol-chloroform* 1:1, proses pemanasan menggunakan autoclave pada suhu 121°C . Setelah dilakukan proses ekstraksi, semua sampel dilakukan karakterisasi untuk mengetahui kandungan yang terdapat didalamnya. Proses tersebut meliputi

Distilasi *Soxhlet*, Metode Kjeldahl, Titrasi, *Spectrofotometry*, FTIR dan *Scanning Electro Microscopy* (SEM).

3.5 Skema Penelitian

Skema penelitian ini dapat dijabarkan dalam diagram proses keseluruhan penelitian sebagai berikut:



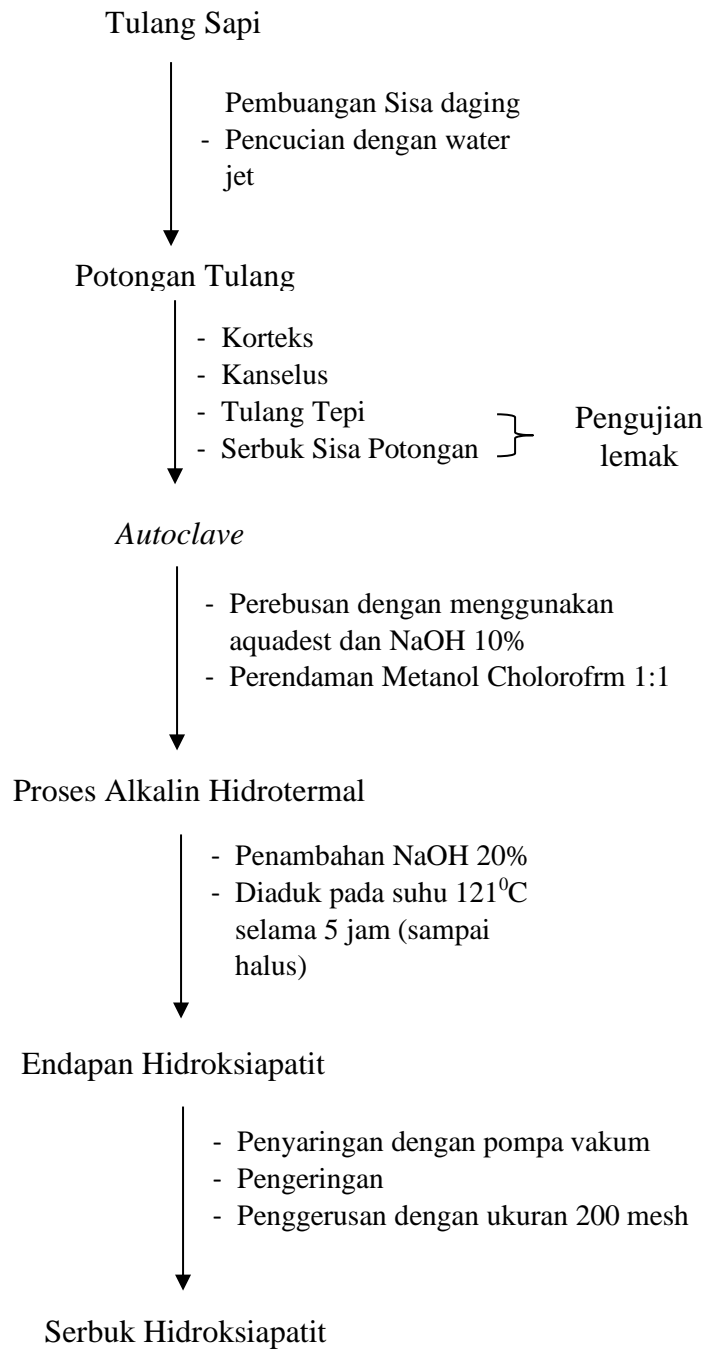
Gambar III.1 Diagram alir Penelitian

3.5.1 Tahap Pelaksanaan

Tahap pelaksanaan terdiri dari pelaksanaan penelitian 1 (pembuatan hidroksiapatit) dan pelaksanaan penelitian 2 (pengujian sampel).

a) Pelaksanaan penelitian 1

Pelaksanaan penelitian 1 atau proses pembuatan hidroksiapatit dimulai dengan pemotongan tulang sapi yang diambil dari lemari pendingin, Tulang sapi segar dipotong menjadi 4 bagian (kanselus, korteks, tulang tepi, dan serbuk sisa potong) alat yang digunakan pada tahap ini adalah *bone saw machine*, setelah itu hasil potongan tersebut dibersihkan dengan mesin air bertekanan/*water jet* bertujuan untuk membersihkan kotoran-kotoran seperti darah yang masih menempel pada tulang. Tulang yang sudah bersih dimasukkan ke dalam botol dengan dipisahkan menurut bagiannya. dilakukan penghilangan lemak (perebusan) dengan memasukan botol yang sudah berisi tulang ke dalam pemanas/*autoclave* selama 20 menit (dilakukan 2 kali). Proses selanjutnya penghilangan lemak dengan merendam tulang korteks dan kanselus dengan methanol-kloroform 1:1 selama 5 jam lalu di masukan ke dalam oven selama ± 24 jam untuk proses pengeringan. Proses selanjutnya adalah proses alkalin hidrotermal dimana proses ini adalah proses inti dari ekstraksi tulang sapi ini. Sebanyak ± 20 gram tulang sapi kering ditambah dengan 300 ml larutan NaOH 10%, kemudian di *autoclave* pada suhu 121°C selama 30 menit. Proses tersebut diulang kembali dengan melakukan penggantian larutan NaOH. Dilakukan proses sonikasi untuk membantu proses penghancuran tulang. Setelah itu, ditambahkan ± 500 ml (sampai tulang terendam) larutan NaOH 20% dan dilakukan proses pengadukan pada suhu 225°C . Dilakukan *homogenizer* jika keadaan tulang masih belum homogen sepenuhnya. Endapan hidroksiapatit digerus dengan mortar dan diayak menggunakan ayakan berukuran 200 mesh sehingga diperoleh serbuk hidroksiapatit. Proses ekstraksi hidroksiapatit dari tulang sapi ini dilakukan sebanyak enam kali (6 bonggol) pengulangan, dan dihitung berat rata-rata ekstrak hidroksiapatit yang diperoleh.



Gambar III.2 Diagram Alir Proses

b) Pelaksanaan Penelitian 2

Pelaksanaan penelitian 2 merupakan pengujian karakterisasi senyawa hidroksiapatit. Pengujian karakterisasi ini terdiri dari pengujian kandungan Protein, *calcium* dan *phosphat*, serta pengujian gugus fungsi dengan alat *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dan *scanning elektro microscope* (SEM).

a. Pengujian Protein

Pengujian protein ini dilakukan dengan metode kjeldahl yang bertujuan untuk mengetahui kadar protein yang terkandung dalam hidroksiapatit. Pengujian ini dilakukan dengan 3 tahap yaitu tahap destruksi, tahap distilasi dan tahap titrasi.

b. Pengujian *Calcium* dan *Phosphate*

Pengujian kandungan *calcium* dilakukan dengan cara titrasi dengan larutan EDTA 0,1 M sedangkan pengujian kandungan *phosphat* menggunakan alat spektrofotometer single beam dengan rentang panjang gelombang (400-800 nm).

c. Pengujian dengan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Pengujian senyawa Hidroksiapatit dengan *Fourier Transform Infra Red* adalah untuk menganalisa gugus fungsi yang terkandung di dalam hidroksiapatit. Bahan bantu untuk membaca produk hidroksiapatit adalah KBr (*Kalium Bromida*).

d. Pengujian dengan *Scanning Elekrton Microscopy* (SEM)

Analisa dengan menggunakan *Scanning Elekrton Microscopy* (SEM) bertujuan untuk mengetahui morfologi hidroksiapatit. Pengujian dilakukan dengan menggunakan sampel dari serbuk hidroksiapatit dengan perbesaran 250×, 500×, 1000× dan 2000× dengan titik yang sama pada masing-masing.

3.5.2 Tahap Pengolahan Data dan Analisis Data

Pengolahan data ini dilakukan setelah data terkumpul yang diperoleh dari seluruh instrumen penelitian hasil observasi, catatan lapangan, lembar pengamatan, dan hasil tersebut kemudian dibaca, dipelajari dan di telah.

Langkah pengolahan data yang dilakukan melalui tiga langkah yaitu :

1. Pengumpulan data

Data-data yang diperoleh di lapangan dicatat dan direkam dalam bentuk naratif, yaitu uraian data yang diperoleh dari lapangan apa adanya tanpa ada komentar atau catatan kaki. Perolehan data diambil dari seluruh instrument penelitian yang digunakan seperti hasil observasi, catatan saat dilapangan dan lembar pengamatan dari uji senyawa hidroksiapatit.

2. Reduksi Data

Reduksi data merupakan prosedur pemilihan, pemusatan perhatian pada penyederhanaan abstrak transformasi data kasar yang muncul dari seluruh instrument penelitian menjadi informasi hasil tindakan.

3. Penyajian Data

Pada tahap ini penyajian data yang digunakan adalah dalam bentuk paparan naratif representative *line chart*.

Berdasarkan data yang disajikan tersebut kemudian dilakukan analisis data. Analisis data biasanya dilakukan pada tahap akhir penelitian untuk menjawab pertanyaan penelitian, namun demikian untuk kepentingan tertentu analisis data dapat dilaksanakan beriringan dengan pengolahan data di setiap selesainya pengujian karakteristik hidroksiapatit.

BAB I

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi

Pada tahap ekstraksi dalam senyawa hidroksiapatit bermula dari tulang sapi yang mempunyai struktur dan bentuk fisik yang cukup kuat sehingga dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan metode alkalin hidrotermal. salah satu proses yang penting dilakukan untuk menghasilkan hidroksiapatit dari sumber biologi adalah proses pembersihan tulang. Proses tersebut bertujuan untuk menghilangkan senyawa organik seperti lemak dan protein. Proses awal yang dilakukan adalah memotong tulang paha sapi menjadi potongan-potongan kecil. Setelah itu membersihkan tulang dari jaringan lunak yang terdapat disekitarnya⁵. Untuk menghilangkan cairan di dalam tulang, sum-sum tulang dan sisa-sisa jaringan lunak, dilakukan proses perebusan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 30 menit dengan akuades.

Setelah proses *autoclave*, terdapat lapisan cairan berwarna kuning seperti minyak pada permukaan atas air yang diasumsikan sebagai lemak. Jaringan lunak banyak yang mulai terlepas dari tulang. Kemudian dilakukan proses penggantian air dan proses perebusan diulang kembali. Setelah itu potongan tulang dicuci bersih dan dikeringkan¹². Melakukan proses penghilangan lemak lanjutan dengan merendam potongan tulang di dalam larutan *methanol-chloroform* 1:1. Proses perendaman dilakukan selama 180 menit. Potongan tulang dicuci sampai bersih kemudian dikeringkan. Proses selanjutnya adalah ekstraksi hidroksiapatit menggunakan larutan alkalin (NaOH) pada suhu tinggi. Dilakukan modifikasi proses seperti yang dilakukan oleh⁴. Sebanyak 20 gram tulang sapi ditambah dengan 300 ml larutan NaOH 10%, kemudian di *autoclave* pada suhu 121°C selama 30 menit. Setelah proses *autoclave*, warna larutan NaOH yang semula jernih berubah menjadi kuning tua jernih. Proses tersebut diulang sebanyak dua kali. Warna kuning semakin memudar setelah proses *autoclave* yang kedua.

Kemudian dilakukan proses sonikasi untuk membantu proses penghancuran tulang. Setelah itu, ditambahkan 400 ml larutan NaOH 20% dan dilakukan proses pengadukan dengan pengaduk magnet pada suhu 100°C selama 5 jam. Tulang hancur sempurna dan terbentuk suspensi berwarna putih terang. Suspensi hidroksiapatit yang terbentuk didiamkan selama satu malam dan lama-kelamaan terbentuk endapan putih yang sangat halus. Endapan disaring menggunakan penyaring *buchner* dan pompa vakum dengan terlebih dahulu menimbang kertas saring yang dipakai. Endapan dicuci dengan akuades sampai bebas NaOH dan pH larutan pencuci netral. Selanjutnya endapan hidroksiapatit dikeringkan di oven suhu 60°C. Endapan kering ditimbang dan setelah dikurangi dengan berat kertas saring diperoleh serbuk hidroksiapatit berwarna putih terang.



Gambar IV.1. Tulang Sapi Mentah Sebelum Perlakuan dengan Proses Alkalin Hidrotermal (a), dan Ekstrak Hidroksiapatit Setelah Perlakuan (b)

Hasil persen rata-rata yang diperoleh pada ekstraksi hidroksiapatit tulang sapi dengan metode alkalin hidrotermal adalah sebesar $68,809 \pm 0,46$. Hasil tersebut diatas tidak jauh berbeda dengan hasil yang diperoleh²⁴ dan¹² yang menyatakan bahwa pada berat tulang sapi kering, sekitar 65% sampai 70% terdiri dari mineral dan 30% sampai 35% terdiri dari materi organik. Ekstrak hidroksiapatit selanjutnya digerus dengan mortar dan disaring menggunakan saringan dengan ukuran 200 mesh.

4.2 Analisa Protein

Pada Penelitian ini dilakukan analisa Protein supaya kita dapat mengetahui kandungan protein dalam hidroksiapatit maupun tulang sapi secara umumnya, dalam pengujian ini bagian yang di ambil potongan tulang sapi setelah pemanasan, serbuk hidroksiapatit, serta potongan tulang sapi setelah pemanasan + *methanol-chloroform*. Penetapan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode kjeldahl, dan hasil dapat dilihat pada tabel IV.1

Tabel IV.1 Analisa Protein Tulang Tepi Sapi

| SAMPEL | BOBOT (mg) | VOL. TITRAN (ml) | %N | % PROTEIN |
|-----------------------------------|-------------------|-------------------------|-----------|------------------|
| HA Karselus | 504,53 | 9,69 | 0,08 | 0,42 |
| HA Korteks | 505,13 | 9,82 | 0,04 | 0,34 |
| Tulang setelah pemanasan | 506,03 | 3,51 | 1,55 | 9,35 |
| Tulang <i>Methanol-chloroform</i> | 503,70 | 3,20 | 1,88 | 11,53 |

Berdasarkan tabel IV.1 diperoleh kadar protein HA karselus sebesar 0,42%, HA korteks sebesar 0,34 % , tulang setelah pemanasan sebesar 9,35% dan tulang *methanol-chloroform* sebesar 11,53% . dalam analisa ini pengaruh proses pembentukan tulang mentah (pemanasan) hingga menjadi serbuk mempengaruhi kadar protein tersebut.

4.3 Analisa Lemak

Pada Penelitian ini dilakukan analisa lemak supaya kita dapat mengetahui kandungan lemak yang terkandung dalam tulang sapi. Dalam pengujian ini bagian yang di analisa yaitu berupa tulang tepi sapi mentah, tulang tepi sapi setelah pemanasan dan tulang tepi setelah pemanasan + *methanol-chloroform*. Pelarut yang digunakan adalah pelarut heksan. Pelarut heksan bersifat non polar sehingga dapat melarutkan lemak dan heksan juga bersifat inert sehingga tidak ikut bereaksi

dan sering digunakan sebagai pelarut organik. Untuk mengetahui bobot % pada kandungan lemak dapat diketahui dengan rumus :

- Bobot lemak = (bobot labu didih + lemak) - (bobot labu didih Kosong + (bola didih))
- Kadar Lemak = $\frac{\text{Bobot lemak}}{\text{Bobot Sampel}} \times 100\%$

Tabel IV.2 Analisa Lemak Tulang Tepi Sapi

| NO | Analisa Tulang | % lemak |
|----|-------------------------------------------|---------|
| 1 | Tulang Tepi Mentah | 8,54% |
| 2 | Tulang Tepi Setelah Pemanasan | 2,87% |
| 3 | Tulang Tepi Pemanasan + Methanol Chlorofm | 0,31% |

Dari tabel IV.2, hasil rata-rata dari kandungan lemak pada tulang tepi mentah adalah 8,54% , kandungan tulang tepi setelah pemanasan 2,87% dan tulang tepi pemansan + *methanol-chloroform* 0,31%. Dalam hal ini pengaruh proses pemanasan dan penambahan *methanol-chloroform* dapat mempengaruhi kadar lemak pada tulang sapi. Untuk mendapatkan produk hidroksiapatit yang baik, sebaiknya dilakukan proses pemanasan dan penambahan *methanol-chloroform* agar dapat menurunkan kadar lemak dalam tulang sapi.

4.3 Analisa Ca/P

Analisis Ca/P pada penelitian ini dilakukan analisa kadar Ca/P pada serbuk hidroksiapatit guna untuk melihat rasio perbandingan kalsium dan fosfat. Rasio perbandingan kalsium dan fosfat dapat kita lihat pada tabel IV.3.

Tabel IV.3. Rasio Perbandingan Ca/P Hidroksiapatit

| Serbuk Hidroksiapatit | Kadar Ca (%) | Kadar P (%) | Kadar Ca/P (%) |
|-----------------------|--------------|-------------|----------------|
| Tulang kanselus | 25,92 | 13,57 | 1,91 |
| Tulang korteks | 25,84 | 15,54 | 1,66 |

Pada Tabel IV.3 dapat terlihat perbedaan antara kalsium dan pospat sehingga didapat rasio Ca/P. Berdasarkan literatur (*Preparation of Hidroxyapatit from Animal Bone*) senyawa hidroksiapatit memiliki perbandingan berkisar 1,33-1,68 dan berdasarkan rumus struktur hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) secara optimum perbandingan kalsium dan fosfat yaitu 10:6 atau 1,67. Serbuk hidroksiapatit jenis kanselus memiliki kadar Ca/P yang tinggi sehingga melebihi baik dari literatur maupun dari rumus struktur hidroksiapatit.

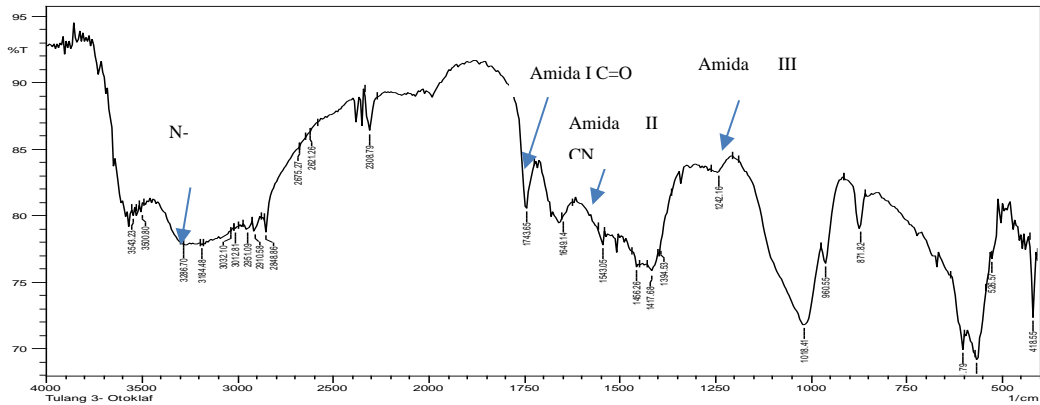
4.4 Analisa/ Karakterisasi Fourier Transform Infra Red (FTIR)



Gambar IV.2. Mesin Pengujian FTIR

Pada penelitian ini dilakukan analisa pengujian FTIR terhadap serbuk hidroksiapatit. Setelah diperoleh serbuk hidroksiapatit yang di ekstrak dari tulang sapi, dilakukan karakterisasi menggunakan spektrometer FTIR untuk melihat gugus fungsi yang terbentuk. Sebagai pembanding, dilakukan pula analisa terhadap tulang sapi mentah setelah pemanasan dan serbuk hidroksiapatit untuk mengetahui

perbedaan yang terjadi ekstraksi. Hasil identifikasi spektrum FTIR serbuk tulang sapi mentah setelah pemanasan dapat dilihat pada gambar IV.3



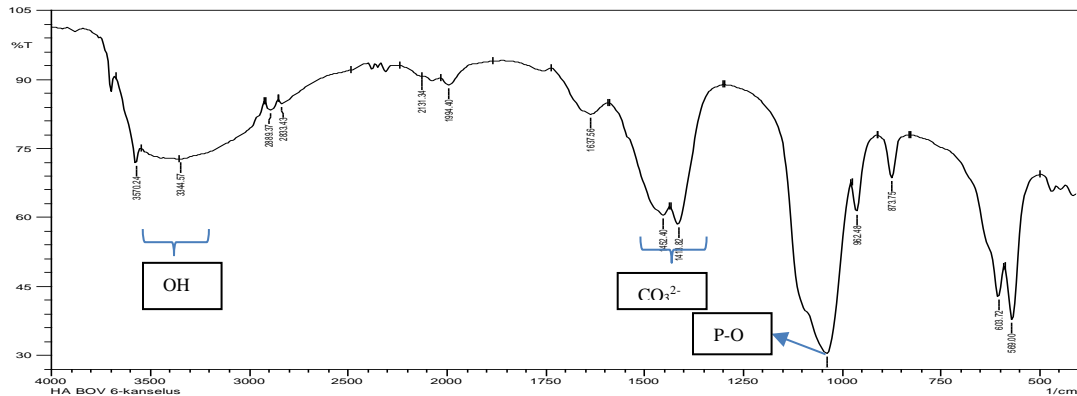
Gambar IV.3. Spektrum FTIR pada Tulang Sapi Mentah Setelah Pemanasan

Berdasarkan Gambar IV.3. terdapat puncak serapan di daerah 3286.70 cm^{-1} yang merupakan gugus N-H. Selain itu terdapat pula ikatan amida I pada $1743,66 \text{ cm}^{-1}$, amida II pada $1543,05 \text{ cm}^{-1}$ dan amida III pada 1242.16 . Gugus tersebut menunjukkan karakteristik dari makromolekul protein dalam matriks tulang sapi. Identifikasi spektrum FTIR tulang sapi mentah setelah pemanasan disajikan pada Tabel IV.4

Tabel IV.4. Identifikasi Gugus Tulang Sapi Mentah Setelah Pemanasan

| Identifikasi gugus | Daerah bilangan gelombang | Bilangan gelombang |
|--------------------------------------------------|---------------------------|--------------------|
| N-H | 3100 – 3500 | 3286,66 |
| Amida I (C=O) | 1690 – 1760 | 1743,66 |
| Amida II (CN) | 1480 – 1575 | 1543,05 |
| Amida III (CN) | 1180 – 1360 | 1243,16 |
| CH ₃ , CH ₂ , (C-H regang) | 2700-3000 | 2951,09 |

Hasil identifikasi spektrum FTIR serbuk hidroksiapatit dapat dilihat pada gambar IV.4



Gambar IV.4. Spektrum FTIR pada Serbuk Hidroksiapatit

Pada gambar IV.4 terlihat serbuk hidroksiapatit terdapat ion OH pada sampel yang merupakan kandungan air. Terdapat puncak serapan dari vibrasi regang OH pada daerah $3670,24 - 3344,57 \text{ cm}^{-1}$, serapan yang khas dari karbonat (CO_3^{2-}) pada $1452,40 - 1413,82 \text{ cm}^{-1}$, kemudian serapan fosfat (PO_4) pada $1048,86 \text{ cm}^{-1}$.

Hasil identifikasi spektrum FTIR serbuk hidroksiapatit dapat dilihat pada Tabel IV.5.

Tabel IV.5. Hasil Identifikasi Gugus Fungsi Serbuk Hidroksiapatit

| Identifikasi gugus fungsi | Daerah bilangan gelombang (cm^{-1}) | Bilangan gelombang (cm^{-1}) |
|---------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| | | Serbuk hidroksiapatit |
| Gugus O-H | 3600-3200 | 3670,24 |
| | | 3344,57 |
| Gugus P-O | 1100-950 | 1452,40 |
| | | 1413,82 |
| Gugus (CO_3) ²⁻ | 1450-1400 | 1049,86 |

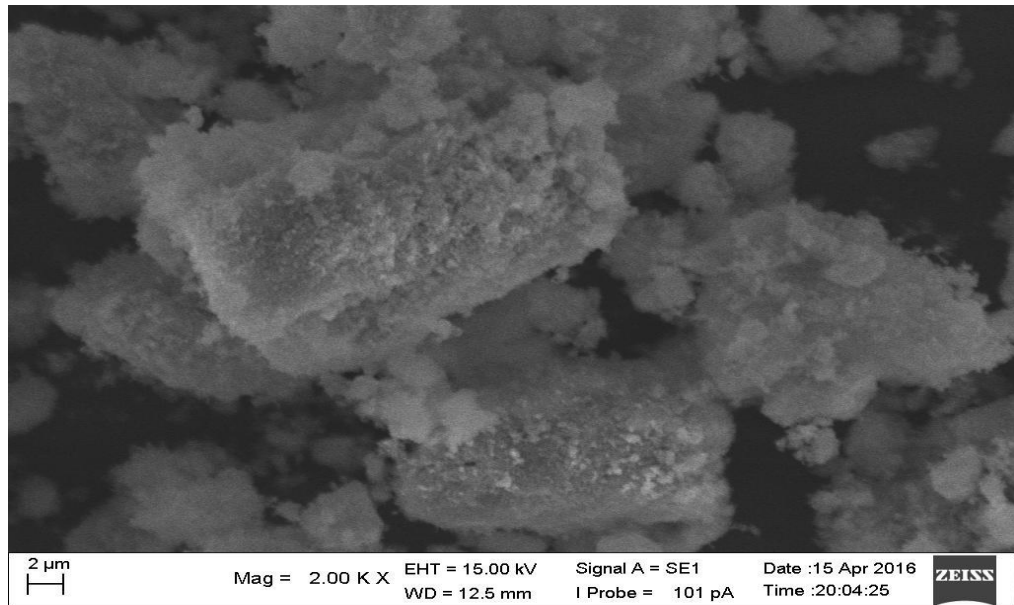
Berdasarkan Tabel IV.5 dapat diketahui gugus-gugus fungsional yang terdapat pada Serbuk hidroksiapatit Terdapat bilangan gelombang yaitu adanya gugus hidroksi (OH^-), gugus fosfat (PO_4^{3-}) dan gugus karbonat (CO_3^{2-}) yang merupakan gugus fungsi zat anorganik dari Serbuk hidroksiapatit. Maka, jenis hidroksiapatit yang terbentuk adalah *carbonated hydroxyapatite* (hidroksiapatit karbonat). Unsur karbonat yang ada pada hidroksiapatit menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki kristalinitas rendah sehingga memiliki sifat bioaktifitas yang baik ²⁵. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Tulang sapi merupakan matriks ekstraselular yang terdiri dari campuran mineral dan senyawa organik yaitu hidroksiapatit dan serat kolagen. Seperti terlihat pada gambar, spektrum FTIR antara tulang sapi mentah dan ekstrak hidroksiapatit menunjukkan perbedaan yang nyata. Perbedaan tersebut terlihat pada gugus fungsinya.

4.5 Analisa / karakterisasi SEM

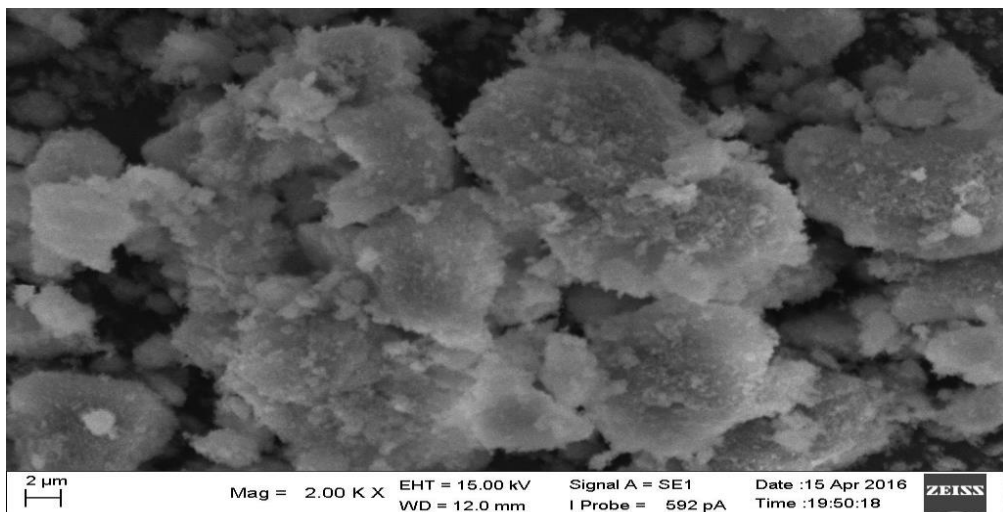


Gambar IV.5 Mesin Pengujian SEM

Pengukuran serbuk hidroksiapatit menggunakan SEM bertujuan untuk mengetahui besarnya diameter pori yang terbentuk pada serbuk hidroksiapatit. pengukuran lakukan terhadap 2 jenis serbuk hidroksiapatit yaitu kancellus dan korteks. Seperti yang tertera pada gambar IV.6 dan IV.7



**Gambar IV.6 Foto SEM Pada Serbuk Hidroksiapatit Jenis Kancellus
Perbesaran 2000×**



**Gambar IV.7 Foto SEM Pada Serbuk Hidroksiapatit Jenis Korteks
Perbesaran 2000×**

Berdasarkan Gambar IV.6 dan Gambar IV.7 pori-pori dari serbuk hidroksiapatit hasil ekstraksi tulang kancellus dan korteks sapi dapat dihitung dengan membagi ukuran pori serbuk hidroksiapatit (cm) pada gambar dengan panjang skala (cm) yang tertera pada bagian bawah foto SEM kemudian dikalikan dengan skala (μm) yang tertera pada bagian bawah foto SEM.

Tabel IV.6 Rentang Ukuran Pori Hidroksiapatit dengan Perbesaran 2000×

| Variasi Hidroksiapatit (HA) | Rentang Pori (μm) | Syarat Ukuran Pori (μm) |
|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| HA Kancellus | 0,6-1,6 | <10 |
| Ha Korteks | 0,6-2,3 | |

Fitur penting dalam struktur fisik dari biokeramik adalah porositasnya. Ukuran pori secara signifikan mempengaruhi tingkat pertumbuhan tulang. Syarat minimum ukuran pori hidroksiapatit adalah $<10 \mu\text{m}$. Mikroporositas penting untuk adsorpsi protein, lebih banyak protein dapat diserap di permukaan, luas permukaan yang lebih besar juga bisa memfasilitasi pertukaran ion. Butiran mikro mendukung cairan tubuh dan sirkulasi darah, yang memasok nutrisi dan ion mineral untuk regenerasi tulang.

Gambar IV.6 dan IV.7 adalah pengamatan SEM yang menunjukkan bahwa serbuk hidroksiapatit tidak memiliki bentuk yang teratur dan ukuran butiran dalam kisaran $0,6 \mu\text{m} - 2,3 \mu\text{m}$.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian, maka kesimpulan yang dapat diambil sebagai berikut :

1. Ekstraksi tulang sapi dengan metode alkalin hidrotermal menghasilkan hidroksiapatit dengan persentase hidroksiapatit sebesar 70,67%. Oleh karena umumnya persentase kandungan hidroksiapatit dalam tulang sapi bali adalah 65%-70%, maka kelebihan 0,67% adalah senyawa pengotor.
2. Hasil yang diperoleh dari karakterisasi Hidroksiapatit (HA) pada tulang sapi yaitu:
 - a. Dari analisa lemak diperoleh kandungan lemak pada tulang tepi mentah sebesar 8,54%, pada tulang tepi setelah pemanasan sebesar 2,87 %, dan pada tulang tepi pemanasan + *methanol-chlorofom* sebesar 0,31%.
 - b. Dari analisa protein diperoleh kandungan pada HA kanselus sebesar 0,42%, pada HA korteks 0,34% , dan pada tulang setelah pemanasan sebesar 9,35% serata pada tulang *methanol-chlorofom* sebesar 11,3% .
 - c. Dari analisa kalsium-fosfat diperoleh kandungan pada HA kanselus sebesar 1,91% dan pada HA korteks 1,66% .
 - d. Dari analisa gugus fungsi dengan alat *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) diperoleh gugus fungsi pada serbuk hidroksiapatit yaitu gugus OH, PO dan $(\text{CO}_3)^{2-}$.
 - e. Dari analisa mikrostruktur dengan alat *Scanning Elektron Microscopy* (SEM) diperoleh ukuran rentang pori hidroksiapatit pada HA kanselus sebesar 0,6 – 1,6 μm dan pada HA korteks sebesar 0,6-2,3 μm .

5.2 Saran

Sehubungan dengan hasil penelitian, maka untuk pengembangan penelitian ini lebih lanjut :

1. Disarankan untuk penelitian mengenai hidroksiapatit dari tulang sapi tidak perlu dibagi menjadi dua (kanelus dan korteks), mengingat hasil dari kedua bagian tulang tersebut sama.
2. Disarankan dilakukan pencucian tulang sebersih mungkin sebelum proses pemanasan dilakukan, agar senyawa pengotor terminimalisir.
3. Untuk dihasilkan senyawa hidroksiapatit yang lebih lengkap, disarankan dilakukan penelitian dengan menggunakan peralatan SEM EDS.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abbas B, Pandansari P, Anas P, Hilmy N. Kegunaan jaringan biologi steril radiasi (allograft & xenograft) untuk pemakaian klinis. *Fatmawati Journal of Health Sciences*. Vol.6.No.16; Desember 2005.h. 651-3
2. Agnes ZK, Zygmunt K, Zbigniew W. *Preparation of hydroxyapatite from animals bone*. 2009.11(4).p. 23.
3. Aoki H. Science and medical applications of hydroxyapatite. Takayama proses system Centre; Tokyo ; 1991, p 1, p 179.
4. Barakat, N et al.(2008).Physiochemical characterizations of hydroxyapatite extracted from bovine bones bythree different methods: Extraction of biologically desirable Hap.*Materials Science and Engineering C*, 28,1381–1387.
5. Betancur A.LG et al. (2013).Comparison of physicochemical properties of bio and commercial Hydroxyapatite.*Current Applied Physics*, 13,1383 – 1390.
6. Bone graft alternative. Diambil dari: www.bone_graft.pdf. Diakses 28 april 2016
7. Bone graft dental implant. Diambil dari:
<http://www.dentalimplan.co.uk/dental-implan/bone-graft.html>.
Diakses pada tanggal 28 April 2016
8. Carlson C S, Weisbrode S E. Pathologic basis of vetenary diseases:
Elsevier, 2011,5.p.920-71
9. Ching Wu,S.,Chuan Hsua.,& Yu-Ning.(2011).Hydroxyapatite synthesized from oyster shell powders by ball milling and heat treatment.*Materials Characterization*,62,1180-1187.
10. Dunlap M, Adaskaveg JE. *Introduction to the scanning electron microscope, theory, practice, and procedures*. USA, Davis;1997.p. 4-30
11. Haberko, K et al.(2006).Natural hydroxyapatite—its behaviour during heat treatment.*Journal of the European Ceramic Society*, 26,537–542.

12. Fakhriyadi.(2013).*Isolasi dan karakterisasi senyawa hidroksiapatit dari tulang kanselus sapi bali (Bos sandaicus)*. Skripsi, Universitas Pancasila.
13. Keene,B.E et al.(2004).Measures of Bone Mineral Content in Mature Dairy Cows. *J. Dairy Sci*, 87,3816–3825.
14. Dairy Cows. *J. Dairy Sci*, 87,3816–3825.Kusrini,E., Pudjiastuti,A.R., Astutiningsih and Harjanto,S.(2012).*Preparation of Hydroxyapatite from Bovine Bone by Combination Methods of Ultrasonic and Spray Drying*. International Conference on Chemical, Bio-Chemical and Environmental Sciences (ICBEE'2012) December 14-15 2012, Singapore.
15. Medonca TA, Cinz MB, Barros TC, Sena LA, Soares GA, Granjeiro JM. *Physicochemical characterization of two deproteinized bovine xenograft*. Brazil: Campus do Valonguinho;2008.p.6
16. Metode KJEDAHL. Diambil dari:
<http://kisahfathe.blogspot.co.id/2009/02/kjeldahl.html>
17. Metode soxlet. Diambil dari:
<http://smakmakassar3a11.blogspot.co.id/2014/10/penentuan-kadar-lemak- cara-soxlet.html>
18. Nirmala,R., Sheikh,F.A., Muzafar,A.(2011).Synthesis and characterization of bovine femur bone hydroxyapatite containing silver nanoparticles for the biomedical applications.*J Nanopart Res*, 13,1917–1927.
19. Sapi bali. Diambil dari:
<http://www.peternakankita.com/ternak-sapi-bali-dan-ciri-ciri-sapi-bali-yang-perlu-diketahui/>. Diakses pada 2 Mei 2016
20. Scoog DA, Holler J, Crouch SR. Principles of instrumental analysis sixth edition. Belmont: Thomson Higher Education: 2007.
21. Taksonomi sapi bali. Diambil dari:
www.damandiri.or.id/file/harapinipbtinjpustaka.pdf.Diakses pada tanggal 26 april 2016
22. Smith, Brian C. *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*,

Second Edition. Boca Raton: CRC Press Taylor and Francis Group; 2011.

23. Widayat D. Difraksi Sinar X. Diambil dari:
<http://labterpadu.undip.ac.id/blog/2013/01/28/difraksi-sinar-x/>. Diakses
28 april 2016
24. Wirastuti Y, Darwis D. Sintesis dan karakterisasi komposit hidroksiapatit (HA) sebagai graft tulang sintetik. Jakarta: Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional.2008. vol.4 no. 2. h. 11-2
25. Xiao,X., Rongfang Liu et al. (2009). Preparation and characterization of hydroxyapatite/polycaprolactone-chitosan composites. *J Mater Sci:Mater Med*, 20,2375-2383.

DAFTAR PUSTAKA

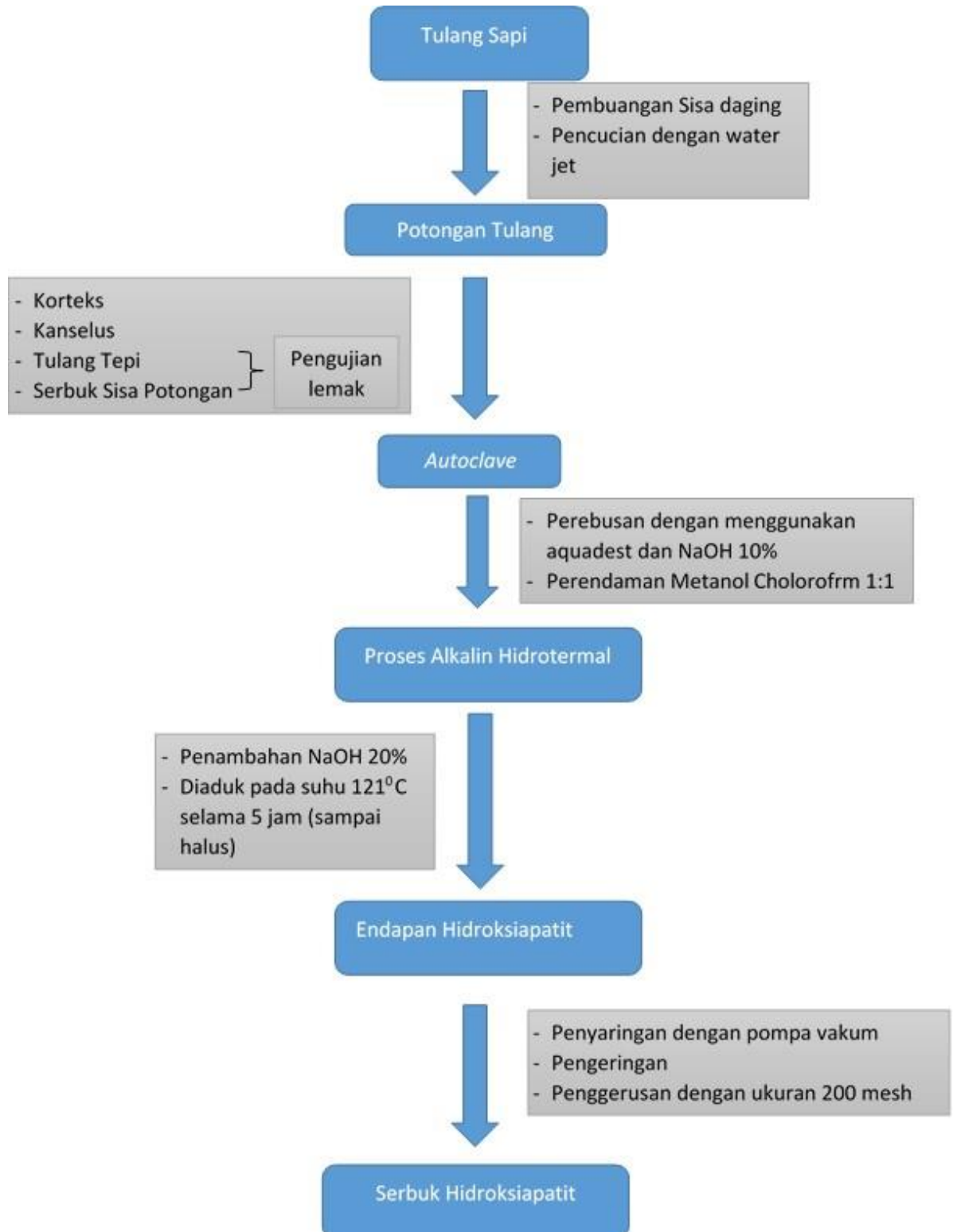
26. Abbas B, Pandansari P, Anas P, Hilmy N. Kegunaan jaringan biologi steril radiasi (allograft & xenograft) untuk pemakaian klinis. Fatmawati Journal of Health Sciences. Vol.6.No.16; Desember 2005.h. 651-3
27. Agnes ZK, Zygmunt K, Zbigniew W. *Preparation of hydroxyapatite from animals bone*. 2009.11(4).p. 23.
28. Aoki H. Science and medical applications of hydroxyapatite. Takayama proses system Centre; Tokyo ; 1991, p 1, p 179.
29. Barakat, N et al.(2008).Physiochemical characterizations of hydroxyapatite extracted from bovine bones bythree different methods: Extraction of biologically desirable Hap.*Materials Science and Engineering C*, 28,1381–1387.
30. Betancur A.LG et al. (2013).Comparison of physicochemical properties of bio and commercial Hydroxyapatite.*Current Applied Physics*, 13,1383 – 1390.
31. Bone graft alternative. Diambil dari: www.bone_graft.pdf. Diakses 28 april 2016
32. Bone graft dental implant. Diambil dari: <http://www.dentalimplan.co.uk/dental-implan/bone-graft.html>. Diakses pada tanggal 28 April 2016
33. Carlson C S, Weisbrode S E. Pathologic basis of vetenary diseases: Elsevier, 2011,5.p.920-71
34. Ching Wu,S.,Chuan Hsua.,& Yu-Ning.(2011).Hydroxyapatite synthesized from oyster shell powders by ball milling and heat treatment.*Materials Characterization*,62,1180-1187.
35. Dunlap M, Adaskaveg JE. *Introduction to the scanning electron microscope, theory, practice, and procedures*. USA, Davis;1997.p. 4-30
36. Haberko, K et al.(2006).Natural hydroxyapatite—its behaviour during heat treatment.*Journal of the European Ceramic Society*, 26,537–542.

37. Fakhriyadi.(2013).*Isolasi dan karakterisasi senyawa hidroksiapatit dari tulang kanselus sapi bali (Bos sandaicus)*. Skripsi, Universitas Pancasila.
38. Keene,B.E et al.(2004).Measures of Bone Mineral Content in Mature Dairy Cows. *J. Dairy Sci*, 87,3816–3825.
39. Dairy Cows. *J. Dairy Sci*, 87,3816–3825.Kusrini,E., Pudjiastuti,A.R., Astutiningsih and Harjanto,S.(2012).Preparation of Hydroxyapatite from Bovine Bone by Combination Methods of Ultrasonic and Spray Drying. International Conference on Chemical, Bio-Chemical and Environmental Sciences (ICBEE'2012) December 14-15 2012, Singapore.
40. Medonca TA, Cinz MB, Barros TC, Sena LA, Soares GA, Granjeiro JM. *Physicochemical characterization of two deproteinezed bovine xenograft*. Brazil: Campus do Valonguinho;2008.p.6
41. Medonca TA, Cinz MB, Barros TC, Sena LA, Soares GA, Granjeiro JM. *Physicochemical characterization of two deproteinezed bovine xenograft*. Brazil: Campus do Valonguinho;2008.p.6
42. Metode KJEDAHL. Diambil dari:
<http://kisahfathe.blogspot.co.id/2009/02/kjeldahl.html>
43. Metode soxlet. Diambil dari:
<http://smakmakassar3a11.blogspot.co.id/2014/10/penentuan-kadar-lemak-cara-soxlet.html>
44. Nirmala,R., Sheikh,F.A., Muzafar,A.(2011).Synthesis and characterization of bovine femur bone hydroxyapatite containing silver nanoparticles for the biomedical applications.*J Nanopart Res*, 13,1917–1927.
45. Sapi bali. Diambil dari:
<http://www.peternakankita.com/ternak-sapi-bali-dan-ciri-ciri-sapi-bali-yang-perlu-diketahui/>. Diakses pada 2 Mei 2016
46. Scoog DA, Holler J, Crouch SR. Principles of instrumental analysis sixth edition. Belmont: Thomson Higher Education: 2007.

47. Taksonomi sapi bali. Diambil dari:
www.damandiri.or.id/file/harapinipbtinjpustaka.pdf. Diakses pada tanggal 26 april 2016
48. Smith, Brian C. *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Second Edition*. Boca Raton: CRC Press Taylor and Francis Group; 2011.
49. Widayat D. Difraksi Sinar X. Diambil dari:
<http://labterpadu.undip.ac.id/blog/2013/01/28/difraksi-sinar-x/>. Diakses 28 april 2016
50. Wirastuti Y, Darwis D. Sintesis dan karakterisasi komposit hidroksiapatit (HA) sebagai graft tulang sintetik. Jakarta: Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional. 2008. vol.4 no. 2. h. 11-2
51. Xiao, X., Rongfang Liu et al. (2009). Preparation and characterization of hydroxyapatite/polycaprolactone-chitosan composites. *J Mater Sci: Mater Med*, 20, 2375-2383.

Lampiran

Diagram Alir Proses



Lampiran A

Gambar dan Spesifikasi yang Digunakan



Gambar A.1 *bone saw machine*



Gambar A.2 Mesin Pendingin



Gambar A.3 Autoclave



Gambar A.3 Oven



Gambar A.4 *Vacuum Pump*



Gambar A.5 Pengaduk Magnetik
Homogenizer

Gambar A.6



Gambar A.7 Mesin pengujian *FTIR*



Gambar A.8 Mesin Pengujian SEM

Lampiran B

Data Pengamatan dan Perhitungan Tulang pada proses Ekstraksi

Data pengukuran :

➤ Tulang utuh :

| No | Sample | Berat (Kg) | Diameter tengah (cm) | | | | | Panjang (cm) |
|----|----------|------------|----------------------|-------|------|---------------|--------------|--------------|
| | | | Tengah | Kanan | Kiri | Bonggol kanan | Bonggol kiri | |
| 1 | Tulang 1 | 1,50 | - | - | - | - | - | - |
| 2 | Tulang 2 | 1,30 | 13 | 16,4 | 16,4 | 14,5 | 12,5 | 37,3 |
| 3 | Tulang 3 | 1,15 | 12,2 | 20 | 20,4 | 11,7 | 7 | 40,4 |
| 4 | Tulang 4 | 1,12 | 14,5 | 16 | 20,5 | 8,7 | 13,5 | 42,5 |
| 5 | Tulang 5 | 2,49 | 15,6 | 17,8 | 21,3 | 15,5 | 16 | 39 |
| 6 | Tulang 6 | 1,30 | 8 | 14 | 17,5 | 21 | 8 | 47 |

➤ Berat Tulang sebelum proses NAOH

| No | Jenis Tulang | Berat korteks | Berat kanselus | Tanggal masuk autoclave |
|----|--------------|---------------|----------------|-------------------------|
| 1 | 1 | 100,0003 | 100,0003 | 9 februari 2016 |
| 2 | 2 | 78,6300 | 78,6300 | 16 februari 2016 |
| 3 | 3 | 75,2865 | 75,0373 | 7 Maret 2016 |
| 4 | 4 | 73,8184 | 73,8090 | 23 februari 2016 |

| | | | | |
|---|---|---------|---------|------------------|
| 5 | 5 | 75,0068 | 75,0055 | 7 Maret 2016 |
| 6 | 6 | 79,9162 | 79,9120 | 26 februari 2016 |

➤ **Data tulang yang sudah disaring + Oven**

| NO | Tulang 1 (gr) | Tulang 2 (gr) | Tulang 3 (gr) | Tulang 4 (gr) | Tulang 5 (gr) | Tulang 6 (gr) |
|-------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Kanselus | 65,0580 | 57,8134 | 54,5560 | 53,2402 | 55,3561 | 61,1582 |
| Korteks | 67,0180 | 59,9354 | 51,0567 | 52,2501 | 56,4752 | 56,6912 |
| KS Kanselus | 0,6975 | 0,7116 | 0,7563 | 0,7045 | 0,7120 | 0,7002 |
| KS Korteks | 0,7213 | 0,7232 | 0,7085 | 0,6910 | 0,7054 | 0,7112 |
| BB Kanselus | 64,3605 | 57,1018 | 53,7997 | 52,5357 | 54,6441 | 60,4580 |
| BB Korteks | 66,2967 | 59,2122 | 50,3482 | 51,5591 | 55,7698 | 55,9800 |

Ket : - KS : Kertas Saring

- BB : Berat bersih

| | | | | |
|----|--------|--|-----------------------|-----------|
| No | Sample | | Tulang yang di proses | Serbuk HA |
|----|--------|--|-----------------------|-----------|

| | | Berat (gram) | Berat korteks | Berat kanselus | Berat Kanselus | Berat Korteks |
|-----------|----------|--------------|---------------|----------------|----------------|---------------|
| 1 | Tulang 1 | 1500 | 100 | 100 | 64,3605 | 66,2967 |
| 2 | Tulang 2 | 1300 | 78,63 | 78,63 | 57,1018 | 59,2122 |
| 3 | Tulang 3 | 1150 | 75,2865 | 75,0373 | 53,7997 | 50,3482 |
| 4 | Tulang 4 | 1120 | 73,8184 | 73,809 | 52,5357 | 51,5591 |
| 5 | Tulang 5 | 2490 | 75,0068 | 75,0055 | 54,6441 | 55,7698 |
| 6 | Tulang 6 | 1300 | 79,9162 | 79,912 | 60,458 | 55,98 |
| Rata-rata | | 1476,667 | 80,4430 | 80,3990 | 57,1499 | 56,5276 |
| | | | 80,4210 | | 56,8388 | |

% Perhitungan kadar Hidroksiapatit

$$\% \text{ HA yang terkandung} = \frac{\text{Serbuk HA}}{\text{Tulang yang di Proses}} \times 100\%$$

$$= \frac{56,8388}{80,4210} \times 100\%$$

$$= 70,67 \%$$

Lampiran C

Data sampling Pengujian Protein

$$\text{Kadar nitrogen total} = \frac{(v1-v2) \times N \text{ HCL} \times 14}{\text{Bobot sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{(ml \text{ HCL} - ml \text{ NaOH}) \times N \text{ HCL} \times 14}{\text{Bobot sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Protein} = \text{Kadar N total} \times \text{Fk}$$

Keterangan : V1 = volume HCL yang dibutuhkan

V2 = volume NaOH yang dibutuhkan

N HCL = factor koreksi protein (6.25)

| No | BOBOT (mg) | VOL. TITRAN | % N | % PROTEIN | KET |
|----|------------|-------------|------|-----------|----------|
| 1 | 505,7 | 9,89 | 0,03 | 0,18 | HA 2 SLS |
| 2 | 503,7 | 9,86 | 0,04 | 0,25 | HA 3 SLS |
| 3 | 504,2 | 9,33 | 0,19 | 1,19 | HA 4 SLS |
| 4 | 502,5 | 9,95 | 0,01 | 0,06 | HA 2 TKS |
| 5 | 506,9 | 9,72 | 0,07 | 0,43 | HA 3 TKS |
| 6 | 506 | 9,8 | 0,05 | 0,31 | HA 4 TKS |
| 7 | 508,4 | 3,23 | 1,86 | 11,62 | X2 OTO |
| 8 | 502,5 | 4,24 | 1,6 | 10 | X3 OTO |
| 9 | 507,2 | 3,06 | 1,19 | 11,93 | X4 OTO |
| 10 | 504 | 2,25 | 2,15 | 13,43 | X2 MC |
| 11 | 503,4 | 4,15 | 1,62 | 10,12 | X3 MC |

| | | | | | |
|-----------|-------------|--|--|-------|---------------------------------------|
| Rata-rata | HA kanselus | | | 0,42 | HA Rata-rata kanselus |
| Rata-rata | HA korteks | | | 0,34 | HA Rata-rata korteks |
| Rata-rata | Tulang oto | | | 9,35 | HA Rata-rata <i>autoclave</i> |
| Rata-rata | Tulang MC | | | 11,53 | HA Rata-rata <i>methanol-chloform</i> |

Lampiran D

Data sampling Pengujian Kadar Lemak

Hasil Pengujian lemak tulang tepi setelah pemanasan + methanol chloroform (Rabu, 2 maret 2016)

| NO | Jenis pengukuran | Tulang 2 (gr) | | Tulang 4 (gr) | | Tulang 3 (gr) | |
|-----------------|---------------------------------|---------------|----------|---------------|----------|---------------|----------|
| | | A | B | A | B | A | B |
| 1 | Labu kosong + bola didih | 110,3696 | 109,6214 | 109,4067 | 111,1697 | 102,9947 | 111,7414 |
| 2 | Tulang tepi stlh pemanasan + MC | 10,0300 | 10,0048 | 10,0038 | 10,0092 | 10,0632 | 10,0147 |
| 3 | Labu kosong + bd + lemak ke 1 | 110,3738 | 109,7654 | 109,4098 | 111,1770 | 102,9995 | 111,7438 |
| 4 | Labu kosong + bd + lemak ke 2 | 110,3742 | 109,7895 | 109,4120 | 111,1775 | 103,0058 | 111,7488 |
| % Lemak | 1 | 0,04% | 1,44% | 0,03% | 0,07% | 0,05% | 0,02% |
| | 2 | 0,05% | 1,68% | 0,05% | 0,08% | 0,11% | 0,07% |
| rata-rata | | 0,04% | 1,56% | 0,04% | 0,08% | 0,08% | 0,05% |
| rata-rata duplo | | 0,80% | | 0,06% | | 0,06 | |

Hasil Pengujian lemak tulang tepi mentah (kamis tanggal 25 februari)

| NO | Jenis pengukuran | Tulang 2 (gr) | | Tulang 3 (gr) | | Tulang 4 (gr) | |
|-----------------|-------------------------------|---------------|----------|---------------|----------|---------------|----------|
| | | A | B | A | B | A | B |
| 1 | Labu kosong + bola didih | 105,7522 | 109,7056 | 110,4331 | 103,1386 | 111,1949 | 109,4443 |
| 2 | Tulang tepi mentah | 10,0001 | 10,0021 | 10,2080 | 10,0001 | 10,0021 | 10,0206 |
| 3 | Labu kosong + bd + lemak ke 1 | 106,6967 | 111,2930 | 110,7059 | 103,7212 | 112,3471 | 110,0197 |
| 4 | Labu kosong + bd + lemak ke 2 | 106,6921 | 111,2937 | 110,7250 | 103,7293 | 112,3477 | 110,0296 |
| % Lemak | 1 | 9,44% | 15,87% | 2,67% | 5,83% | 11,52% | 5,74% |
| | 2 | 9,40% | 15,88% | 2,86% | 5,91% | 11,53% | 5,84% |
| rata-rata | | 9,42% | 15,87% | 2,77% | 5,87% | 11,52% | 5,79% |
| rata-rata duplo | | 12,65% | | 4,32% | | 8,66% | |

Hasil Pengujian lemak tulang tepi setelah pemanasan (senin tanggal 29 februari)

| NO | Jenis pengukuran | Tulang 2 (gr) | | Tulang 3 (gr) | | Tulang 4 (gr) | |
|-----------------|-------------------------------|---------------|----------|---------------|----------|---------------|----------|
| | | A | B | A | B | A | B |
| 1 | Labu kosong + bola didih | 110,3804 | 109,7761 | 110,5033 | 111,579 | 111,1863 | 109,423 |
| 2 | Tulang tepi stlh pemanasan | 10,0117 | 10,0424 | 10,0036 | 10,0711 | 10,0015 | 10,0470 |
| 3 | Labu kosong + bd + lemak ke 1 | 110,3980 | 109,8036 | 110,9960 | 111,8942 | 111,9137 | 109,5542 |
| 4 | Labu kosong + bd + lemak ke 2 | 110,4005 | 109,8052 | 110,9958 | 111,8882 | 111,9384 | 109,5556 |
| % Lemak | 1 | 0,18% | 0,27% | 4,92% | 3,12% | 7,27% | 1,31% |
| | 2 | 0,20% | 0,29% | 4,92% | 3,06% | 7,52% | 1,32% |
| rata-rata | | 0,19% | 0,28% | 4,92% | 3,09% | 7,40% | 1,31% |
| rata-rata duplo | | 0,24% | | 4,01% | | 0,31% | |

Lampiran E

Data Sampling pengujian CA/P

Rumus: $\% P = \frac{V_{tc} \times C_x \times f_p \times 10^{-3}}{mg \text{ sampel}} \times 100\%$

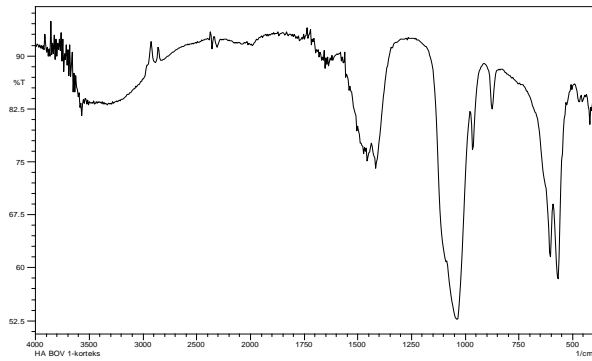
Dengan, $y = 0,0617 + 0,0443 x$

| No | Sampel | Ulangan | Volume Titran | Bobot | % Ca |
|----|------------|---------|---------------|-------|-------|
| 1 | HA 2 (SIS) | 1 | 3,70 | 100,4 | 26,89 |
| | | 2 | 3,70 | 100,4 | 26,89 |
| | | 3 | 3,60 | 100,9 | 25,77 |
| | | 4 | 3,60 | 100,9 | 25,77 |
| 2 | HA 3 (SIS) | 1 | 3,70 | 100,5 | 26,87 |
| | | 2 | 3,70 | 100,5 | 26,87 |
| | | 3 | 3,70 | 100,6 | 26,84 |
| | | 4 | 3,70 | 100,6 | 26,84 |
| 3 | HA 4 (SIS) | 1 | 3,60 | 100,3 | 25,92 |
| | | 2 | 3,70 | 100,3 | 26,92 |
| | | 3 | 3,60 | 100,3 | 25,92 |
| | | 4 | 3,60 | 100,3 | 25,92 |
| 4 | HA 2 (TKS) | 1 | 3,70 | 100,6 | 26,84 |
| | | 2 | 3,71 | 100,6 | 26,94 |
| | | 3 | 3,60 | 100,5 | 25,87 |
| | | 4 | 3,60 | 100,5 | 25,87 |
| 5 | HA 3 (TKS) | 1 | 3,50 | 100,4 | 24,90 |
| | | 2 | 3,70 | 100,4 | 26,89 |
| | | 3 | 3,50 | 100,1 | 24,98 |
| | | 4 | 3,60 | 100,1 | 25,97 |
| 6 | HA 4 (TKS) | 1 | 3,70 | 100,4 | 26,89 |
| | | 2 | 3,60 | 100,4 | 25,90 |
| | | 3 | 3,60 | 100,4 | 25,90 |
| | | 4 | 3,60 | 100,4 | 25,90 |
| 7 | X 2 (OTO) | 1 | 2,80 | 105,3 | 17,09 |

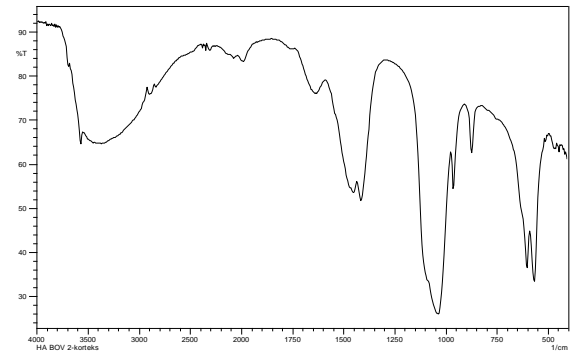
| | | | | | |
|----|-----------|---|------|-------|-------|
| | | 2 | 2,80 | 105,3 | 17,09 |
| | | 3 | 2,90 | 105,7 | 17,98 |
| | | 4 | 2,90 | 105,7 | 17,98 |
| 8 | X 3 (OTO) | 1 | 3,30 | 100,2 | 22,95 |
| | | 2 | 3,00 | 100,2 | 19,96 |
| | | 3 | 3,10 | 100,7 | 20,85 |
| | | 4 | 3,00 | 100,7 | 19,86 |
| | | 1 | 3,1 | 100,7 | 20,85 |
| 9 | X 4 (OTO) | 2 | 3,1 | 100,7 | 20,85 |
| | | 3 | 2,90 | 100,8 | 18,85 |
| | | 4 | 2,90 | 100,8 | 18,85 |
| 10 | X 2 – MC | 1 | 2,80 | 100,1 | 17,98 |
| | | 2 | 2,90 | 100,1 | 18,98 |
| | | 3 | 2,90 | 100,7 | 18,87 |
| | | 4 | 2,90 | 100,7 | 18,87 |
| 28 | X 3 – MC | 1 | 3,00 | 100,4 | 19,92 |
| | | 2 | 3,00 | 100,4 | 19,92 |
| | | 3 | 3,00 | 100,3 | 19,94 |
| | | 4 | 3,00 | 100,3 | 19,94 |
| 29 | X 6 – MC | 1 | 3,00 | 100,4 | 19,92 |
| | | 2 | 3,00 | 100,4 | 19,92 |
| | | 3 | 3,00 | 100,5 | 19,90 |
| | | 4 | 3,00 | 100,5 | 19,90 |

Lampiran F

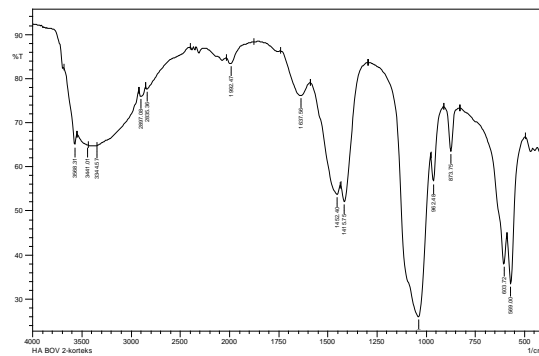
Hasil spectrum *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)



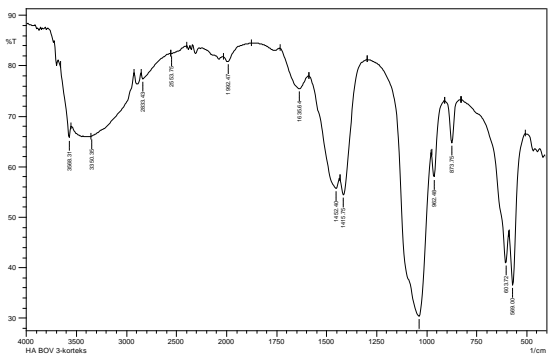
HA BOV 1-korteks



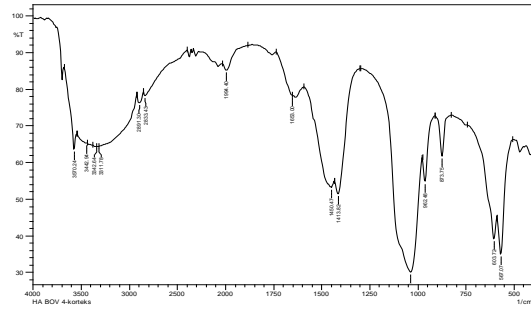
HA BOV 2-korteks



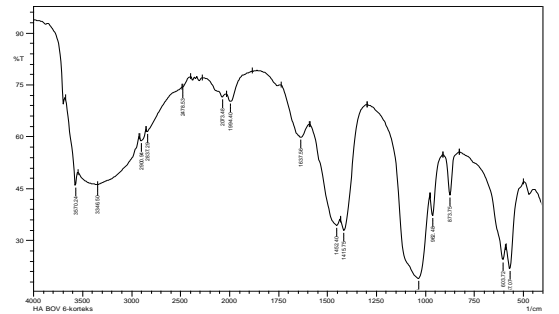
HA BOV 3-korteks

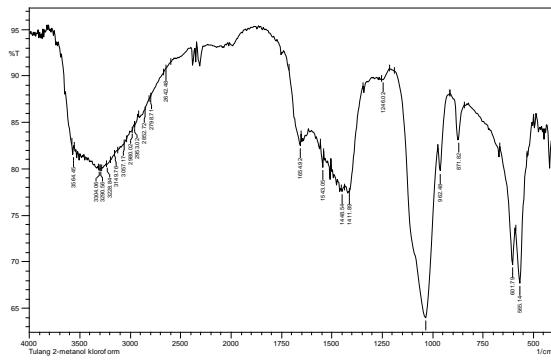


HA BOV 4-korteks



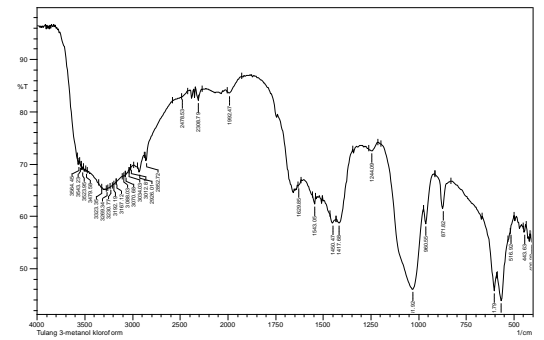
HA BOV 6-korteks





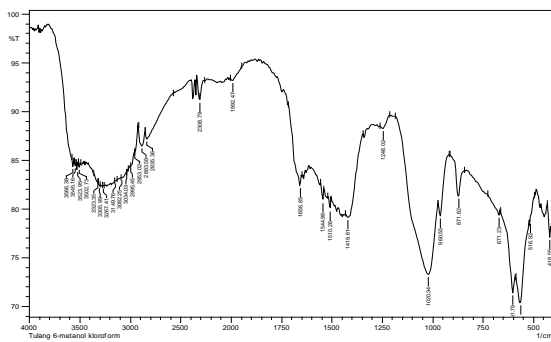
HA BOV 1-kanselus

HA



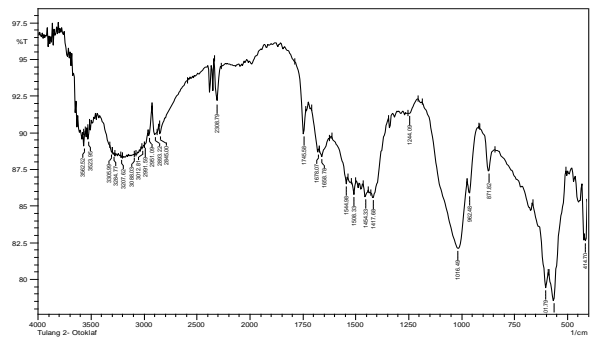
BOV 6-kanselus

Tulang 2-MC

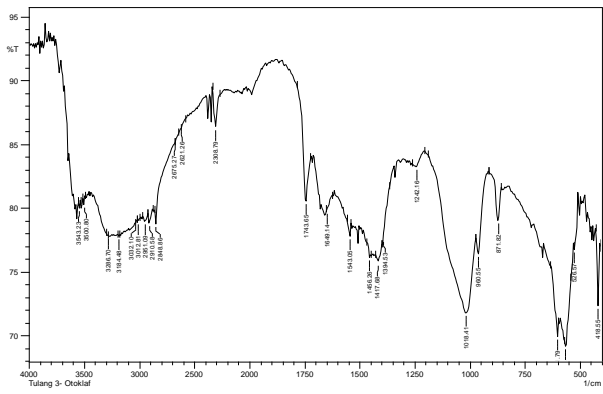


Tulang 2-otoklaf

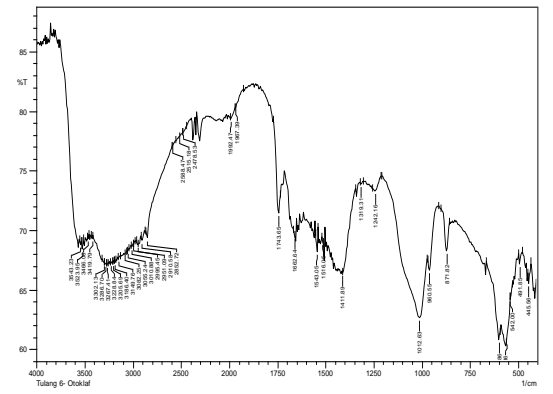
Tulang 3-MC



Tulang 6-MC



Tulang 3-otoklaf



Tulang 6-otoklaf

Lampiran G

Foto Hasil Uji *Scanning Elektro Microscopy*

Perhitungan

$$\text{Rumus : } \textit{Diameter Pori} = \frac{\textit{Panjang Pori}}{\textit{Panjang Skala}} \times \textit{skala}$$

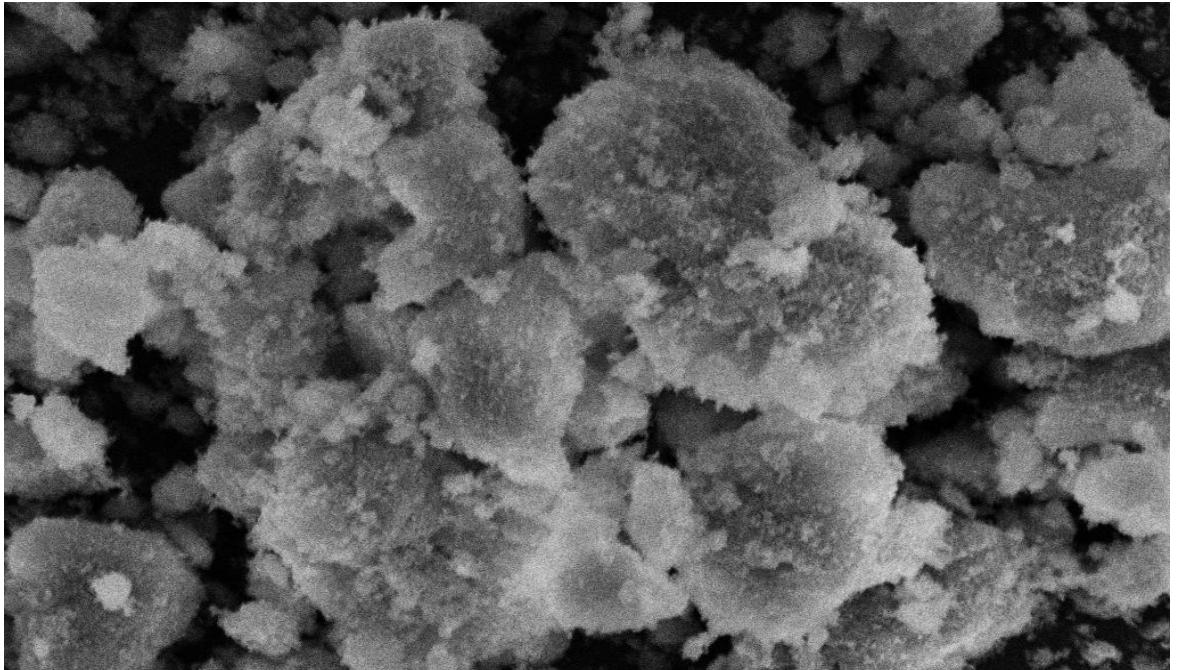
DATA HA 4 KORTEKS PERBESARAN 2000

| No | Panjang Pori (cm) | Panjang Skala (cm) | Skala (μm) | Diameter Pori |
|----|-------------------|--------------------|-------------------------|---------------|
| 1 | 0,7 | 0,6 | 2 | 2,3 |
| 2 | 0,5 | 0,6 | 2 | 1,6 |
| 3 | 0,2 | 0,6 | 2 | 0,6 |
| 4 | 0,2 | 0,6 | 2 | 0,6 |
| 5 | 0,6 | 0,6 | 2 | 2 |

DATA HA 6 KANSELUS PERBESARAN 2000

| No | Panjang Pori (cm) | Panjang Skala (cm) | Skala (μm) | Diameter Pori |
|-----------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------------------|----------------------|
| 1 | 0,5 | 0,6 | 2 | 1,6 |
| 2 | 0,3 | 0,6 | 2 | 1 |
| 3 | 0,5 | 0,6 | 2 | 1,6 |
| 4 | 0,2 | 0,6 | 2 | 0,6 |
| 5 | 0,3 | 0,6 | 2 | 1 |

GAMBAR HA 4 KORTEKS PERBESARAN 2000



2 μ m

Mag = 2.00 K X

EHT = 15.00 kV
WD = 12.0 mm

Signal A = SE1
I Probe = 101 pA

Date :15 Apr 2016
Time :19:46:50



GAMBAR HA 6 KANSELUS PERBESARAN 2000

