

## KARAKTERISASI NANOHIKROKSIPATIT TULANG TUNA *Thunnus* sp. SEBAGAI SEDIAAN BIOMATERIAL

### CHARACTERIZATION OF NANOHYDROXYAPATITE FROM TUNA'S *Thunnus* sp. BONE AS BIOMATERIALS SUBSTANCE

Aditya Bayu Hanura\*, Wini Trilaksani, dan Pipih Suptijah

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB

\*E-mail : [aditya.bayu.0889@gmail.com](mailto:aditya.bayu.0889@gmail.com)

#### ABSTRACT

Tuna *Thunnus* sp. is a high-value fisheries products. The abundance of waste from tuna's processing industry has not been used optimally. The objective of this study was to produce and characterize nanohydroxyapatite ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})0.8\text{F}0.2$ ) of tuna's *Thunnus* sp. bone waste using high temperature sintering of 400-800°C continuing by nanomilling method. The results of the characterization showed that the sintering temperature of 800°C was the best treatment yielding of hidroxyapatite 57.73%, 89.27% white degree level. The result of statistic analysis showed that the sintering temperature variation gave a significant effect on the white degree at the test level ( $p < 0.05$ ). Proximate result after sintering showed moisture content of 0.15%, 99.83% ash, 0.05% fat, 0.73% protein and 0% crude fiber. Results of heavy metal analysis showed the content of lead (Pb) and mercury (Hg) was negative, and cadmium (Cd) 0.018 ppm. The mineral test consist of calcium, phosphor, kalium, magnesium, iron, zinc, manganese, and sodium with the dominant elements were 49.76% calcium and 9.02% phosphor. The result of statistic analysis showed that the sintering temperature variation gave significant effect to the three main minerals at the test level ( $p < 0.05$ ). The Particle Size Analyzer test showed that nanohydroxyapatite particles was measured at 800-900 nm. The X-Ray Diffractometer analysis showed the results of sample identification contains hydroxyapatite and fluorian, with syn 100.00%. The hidroxyapatite was a compound complex and crystals formed has a hexagonal shape with a percentage of 82.9% crystallinity.

**Keywords** : bone, nanohidroxyapatite, particles, sintering, tuna

#### ABSTRAK

Ikan tuna *Thunnus* sp. merupakan produk perikanan bernilai tinggi. Melimpahnya limbah hasil pengolahan industri tuna belum dimanfaatkan secara optimal. Penelitian ini bertujuan membuat dan mengkarakterisasi nanohidroksiapatit ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{O H})0.8\text{F}0.2$ ) dari limbah tulang tuna *Thunnus* sp. menggunakan metode *sintering* variasi suhu 400-800°C dilanjutkan dengan metode *nanomilling*. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa suhu *sintering* 800°C menjadi perlakuan terbaik dengan rendemen 57,73%, derajat putih 89,27%. Hasil analisis ragam menunjukkan variasi suhu *sintering* memberikan pengaruh nyata terhadap nilai derajat putih pada taraf uji ( $p < 0.05$ ). Hasil proksimat (setelah *sintering*) menunjukkan kandungan kadar air 0,15%, kadar abu 99,83%, kadar lemak 0,05%, kadar protein 0,73% dan kandungan serat kasar 0 %. Hasil analisis logam berat menunjukkan kandungan timbal (Pb) dan merkuri (Hg) negatif, serta cadmium (Cd) 0,018 ppm. Pengujian mineral meliputi kalsium, fosfor, kalium, magnesium, besi, seng, mangan, dan natrium dengan presentasi dominan adalah kalsium sebesar 49,76% dan fosfor sebesar 9,02%. Hasil analisis ragam terhadap mineral utama menunjukkan variasi suhu *sintering* memberikan pengaruh nyata terhadap ketiga mineral utama pada taraf uji ( $p < 0.05$ ). Pengujian partikel dengan *Particle Size Analyzer* menunjukkan nanohidroksiapatit berukuran 800-900 nm. Analisis *X-Ray Diffractometer* menunjukkan hasil identifikasi sampel memiliki kandungan Hydroxylapatite dan fluorian, dengan syn 100.00%. Senyawa hidroksiapatit berbentuk kompleks dan kristalnya memiliki bentuk *hexagonal shape* dengan presentase kristalinitas sebesar 82,9%.

**Kata kunci** : nanohidroksiapatit, partikel, *sintering*, tulang, Tuna

## I. PENDAHULUAN

Ikan tuna dan sejenisnya adalah ikan ekonomis penting yang saat ini masih mendominasi ekspor produk perikanan Indonesia. Indonesia menjadi pemasok utama tuna bagi negara maju dan produk tuna merupakan komoditi ekspor terbesar kedua Indonesia yang berkontribusi 15% dari total nilai ekspor pada tahun 2011. Pasar utama untuk ekspor tuna dari Indonesia adalah Jepang (35%), Amerika Serikat (20%), Thailand (12%), negara-negara Uni Eropa (9%), dan Saudi Arabia (6%) (Kementerian Kelautan dan Perikanan 2012). FAO (2010) menyatakan bahwa Indonesia adalah negara penghasil tuna terbesar di dunia, memberikan kontribusi sebanyak 15% dari produksi tuna global pada tahun 2009, diikuti oleh Filipina, China, Jepang, Korea, Taiwan, dan Spanyol. Data dari Kementerian Kelautan dan Perikanan (2015) menunjukkan volume ekspor produk ikan tuna sampai dengan bulan Oktober 2015 sebesar 142.023 ton dengan nilai ekspor sekitar 491.891 juta US\$.

Ikan tuna dapat diolah menjadi produk dalam kondisi segar utuh (loin, steak, dan saku), produk beku (frozen), produk ambient (tuna yang dikemas dalam kaleng), dan produk olahan (bakso, abon, otak-otak, nugget, sosis) yang dalam kegiatan pengolahannya akan menghasilkan limbah berupa kepala, kulit dan tulang. Berdasarkan data tersebut memperkuat bahwa Indonesia merupakan negara dengan industri tuna yang besar. Produksi tuna yang besar akan menghasilkan produk samping atau limbah dalam volume yang besar pula, sehingga membutuhkan pengembangan pemanfaatan (valorisasi).

Volume limbah tuna yang besar memiliki potensi untuk dimanfaatkan, salah satunya adalah tulang. Menurut Ozawa dan Suzuki (2002), tulang ikan tuna merupakan sumber alami hidroksiapatit yang murah dan memiliki potensi yang besar di masa depan. Hal ini diperkuat oleh Trilaksani (2006) yang menyatakan tulang memiliki kandungan mineral mencapai 84,22%. Limbah tulang

ikan merupakan limbah hasil pengolahan ikan yang kaya akan kandungan kalsium 36%, fosfor 17% dan magnesium 0,8% yang berpotensi untuk meningkatkan nutrisi produk pangan. Kalsium merupakan unsur penting yang sangat dibutuhkan oleh tubuh, karena kalsium berfungsi dalam metabolisme tubuh dan pembentukan tulang serta gigi.

Hidroksiapatit dapat dibentuk dalam ukuran nanopartikel atau disebut nanohidroksiapatit berukuran dibawah 1 mikro. Nanokalsium menurut Lekahena *et al.* (2014) merupakan kalsium yang dihasilkan dengan memanfaatkan teknologi nano sehingga membentuk kalsium berukuran  $10^{-9}$ m.

Menurut Gulsun *et al.* (2009) terdapat banyak keuntungan dari penggunaan partikel nano, yaitu peningkatan penyerapan, pengurangan dosis yang diperlukan dan peningkatan stabilitas. Greiner (2009) menyatakan bahwa material yang berukuran nano dapat dibuat dengan dua pendekatan yaitu *bottom up* dan *top-down*. Metode *bottom up* menggunakan pendekatan dengan merangkai atom atau molekul kemudian menggabungkannya melalui suatu reaksi kimia contohnya dengan menggunakan metode presipitasi. Metode *top down* dilakukan dengan cara memperkecil material yang besar contohnya menggunakan alat milling

Beberapa penelitian terkait dengan bahan baku alami untuk pembuatan hidroksiapatit, Xu *et al.* (2001) meneliti coral laut (*sea coral*) menjadi hidroksiapatit menggunakan teknik *hydrothermal* dengan mineral  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Barakat *et al.* (2009), melakukan ekstraksi dari tulang sapi menggunakan metode *thermal decomposition, subcritical water, alkaline hydrothermal processes*.

Huang *et al.* (2011) mengekstraksi hidroksiapatit dari sisik ikan. Venkatesan dan Kim (2010) mempelajari pengaruh suhu isolasi terhadap karakterisasi hidroksiapatit dari tulang ikan tuna *Thunnus obesus*. Penelitian juga dilakukan Pallela *et al.* (2011) yang mengisolasi hidroksiapatit dari tulang ikan tuna (*Thunnus obesus*) dengan bantuan polimer. Ditambahkan oleh Tseng *et al.*

(2009) proses pembuatan hidroksiapatit dipengaruhi faktor gelasi, pengeringan, dan sintering yang terkontrol.

Erosi dan karies pada gigi merupakan indikasi terjadinya demineralisasi lapisan gigi yang disebabkan oleh asam. Hal ini berkaitan dengan pola diet atau kebiasaan konsumsi makanan pada gaya hidup masyarakat modern misalnya coklat, permen, biskuit yang mengandung zat pemanis, ditambah dengan perilaku budaya menggosok gigi yang kurang teratur.

Menurut Arnadottir *et al.* (2003), hal ini disebabkan oleh pengaruh asam yang dapat melarutkan struktur mineral gigi. West *et al.* (1998) mengemukakan penyebab utama kerusakan permukaan enamel adalah kelarutan hidroksiapatit ( HAp ) pada pH rendah.

Berbeda dengan jaringan tubuh lain, misalnya tulang, enamel gigi tidak mampu memperbaiki diri bila rusak oleh kondisi gigi tertentu contohnya karies, demineralisasi, abrasi atau patah karena kurangnya sel. Salah satu cara untuk mengembalikan enamel rusak adalah memberikan restorasi dengan bahan sintesis. Pendekatan preventif menggunakan senyawa *fluoride* dianggap cara terbaik untuk mengurangi kerusakan enamel.

Roveri *et al.* (2008) menyatakan kerusakan lapisan enamel gigi akibat terdapatnya karies, demineralisasi, erosi atau keretakan tidak bisa diperbaiki dari dalam sebab tidak adanya sel dalam gigi, sehingga dibutuhkan material sintesis untuk memperbaiki kerusakan gigi tersebut.

Berdasarkan fakta bahwa pemanfaatan limbah tulang hasil pengolahan tuna di Indonesia belum optimal, teknologi sintesis hidroksiapatit yang belum efektif, harga hidroksiapatit sintesis mahal serta karakterisasi material hidroksiapatit yang belum banyak diketahui, maka penelitian ini bertujuan membuat dan mengkarakterisasi nanohidroksi apatit dengan metode *thermal* dan *nanomilling* dari limbah tulang tuna sebagai sediaan biomaterial.

## II. METODE PENELITIAN

### 2.1. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan untuk preparasi bahan baku tulang ikan tuna, pembuatan nanohidroksiapatit dan analisis karakterisasinya diantaranya *sinterer*, *ball mill Nanoblend*, *sprayer*, *X-Ray Diffractometer* (XRD) dan *Particle Size Analyzer* (PSA), timbangan, sonikator, *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS), *Fourier Transfer Infra Red* (FTIR) dan *Whitenessmeter*. Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah tulang ikan tuna *Thunnus* sp.

### 2.2. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri atas beberapa tahap yaitu preparasi dan karakterisasi tulang ikan tuna, pembuatan hidroksiapatit, pembuatan nanohidroksiapatit dan analisis karakteristik nanohidroksiapatit. Analisis karakteristik nanohidroksiapatit meliputi perhitungan rendemen, analisis proksimat, analisis kandungan mineral dan logam berat menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS), analisis derajat putih menggunakan *Whitenessmeter*, analisis morfologi kristalinitas menggunakan *X-Ray Diffractometer* (XRD), analisis ukuran partikel menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) dan analisis gugus fungsi menggunakan *Fourier Transfer Infra Red* (FTIR).

#### 2.2.1. Pembuatan Hidroksiapatit

Pembuatan hidroksiapatit diawali dengan tulang ikan tuna yang sudah dipreparasi diproses dengan *sintering* (pemanasan dengan variasi suhu tinggi). Sintesis hidroksiapatit tulang ikan tuna dilakukan dengan variasi suhu *sintering* 400°C, 600°C, dan 800°C selama 6 jam (Venkatesan and Kim, 2010). Hidroksiapatit yang diperoleh dianalisis dengan beberapa uji meliputi : Uji rendemen, proksimat, derajat putih dan logam berat (Hg, Pb, dan Cd) serta analisis mineral dengan AAS.

### 2.2.2. Pembuatan Nanohidroksiapatit

Nanohidroksiapatit tulang ikan tuna dibuat dengan cara *sizing* (pengecilan ukuran) hidroksiapatit dari hasil metode perlakuan suhu *sintering* terbaik, dilanjutkan dengan *Nanoblend Ball Mill* pada lama waktu tertentu (modifikasi Rajkumar *et al.*, 2011). Partikel nanohidroksiapatit yang dihasilkan diukur menggunakan alat PSA, analisis morfologi kristalinitas dengan alat XRD dan analisis gugus fungsi menggunakan FTIR.

### 2.2.3. Pengukuran Rendemen

Rendemen merupakan persentase dari perbandingan kadar bobot akhir nanohidroksiapatit terhadap bobot tulang tuna sebelum mengalami perlakuan.

### 2.2.4. Analisis Proksimat

Analisis proksimat yang dilakukan meliputi beberapa pengujian diantaranya : Analisis kadar air, kadar protein, kadar abu, kadar lemak, dan kadar serat kasar. Analisis proksimat dilakukan terhadap bahan baku tulang tuna yang sudah dipreparasi serta terhadap hidroksiapatit terbaik hasil perlakuan variasi suhu *sintering* (AOAC, 2005).

### 2.2.5. Analisis Derajat Putih

Pengukuran derajat putih menggunakan *Whitenessmeter*. Sejumlah sampel ditempatkan pada wadah khusus alat *Whitenessmeter*, lalu dipasang penutup kaca dan diletakkan dibawah lensa. Kemudian diukur nilai derajat putihnya yang berkisar 0-100 %. Kalibrasi alat dilakukan terlebih dahulu dengan plat standar warna putih 81,6%. Hasil pembacaan dinyatakan dalam % derajat putih terhadap plate standar barium sulfat derajat putih 100% (Kett Electric Laboratory, 1981).

### 2.2.6. Analisis Mineral dan Logam Berat

Sampel kering ditimbang sebanyak  $\pm$  1 g dan dimasukkan dalam Erlenmeyer 125 mL. HNO<sub>3</sub> ditambahkan sebanyak 5 mL dan didiamkan 1 jam pada suhu ruang di ruang asam. Sampel dipanaskan diatas *hot plate*

dengan temperatur rendah selama 4-6 jam dalam ruang asam lalu dibiarkan semalam dalam kondisi tertutup. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,4 mL ditambahkan lalu dipanaskan diatas *hot plate* sampai larutan berkurang (lebih pekat) biasanya 1 jam. Ditambahkan 2-3 tetes larutan campuran HClO<sub>4</sub>: HNO<sub>3</sub> (2:1). Sampel masih tetap diatas *hot plate*, karena pemanasan terus dilanjutkan sampai ada perubahan warna dari coklat →kuning tua→kuning muda (biasanya  $\pm$  1 jam). Setelah ada perubahan warna, pemanasan masih dilanjutkan selama 10-15 menit. Pindahkan sampel, dinginkan dan tambahkan 2 mL aquades dan 0.6 mL HCl. Sampel dipanaskan kembali agar larut ( $\pm$ 15 menit) kemudian masukkan kedalam labu takar 100 mL. Apabila ada endapan disaring dengan *glass wool* atau kertas saring. Hasil pengabuan basah bisa di analisis di AAS atau spektrofotometer untuk dianalisis berbagai mineral dan parameter logam berat (timbal (Pb), merkuri (Hg) dan cadmium (Cd)) (AOAC, 2005).

### 2.2.7. Analisis Partikel

Uji ukuran partikel nanohidroksiapatit dilakukan menggunakan pengujian *Particle Size Analyzer* (PSA). Nanohidroksiapatit ditimbang sebanyak 0,02 g lalu dilarutkan ke dalam 100 mL akuades. Sampel larutan diambil dengan pipet kemudian dimasukkan ke dalam tabung dengan tinggi maksimum 15 mm. Hasil pengujian sampel nanohidroksiapatit akan muncul pada layar computer (Malvern Instrumen Limited, 2012).

### 2.2.8. Analisis Kristalinitas

Analisis kristalinitas dilakukan dengan menggunakan alat XRD digunakan untuk mengetahui komposisi unsur dari suatu material, mengkarakterisasi struktur kristal, ukuran kristal dari kristal nanohidroksi apatit yang dihasilkan (Cullity, 1978).

### 2.2.9. Analisis Gugus Fungsi

Analisis dengan alat FTIR digunakan untuk mengetahui gugus-gugus fungsi khas dari hidroksi apatit yang dihasilkan. Sampel

uji terlebih dahulu dibentuk pelet dengan campuran KBr. Sebanyak 100mg KBr dan 2 mg sampel uji dicampurkan, kemudian ditumbuk sampai halus dan tercampur rata dalam mortar agate. Pengukuran sampel uji dilakukan pada bilangan gelombang antara 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ . Spektra FTIR yang dihasilkan menunjukkan puncak-puncak serapan bilangan gelombang dari sampel uji. Gugus-gugus fungsi sampel uji ditentukan berdasarkan puncak serapan bilangan gelombang yang terdeteksi (Chatwall, 1985).

### 2.3. Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan pada tahap *sintering* pada proses pembuatan hidroksi apatit adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan parameter variasi suhu *sintering* dengan kadar derajat putih serta parameter variasi suhu *sintering* dengan hasil analisis kadar mineral utama. Pengolahan data menggunakan perangkat lunak *SPSS 15.0 for windows*. Jika uji ANOVA menunjukkan hasil yang berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Hasil Perhitungan Rendemen

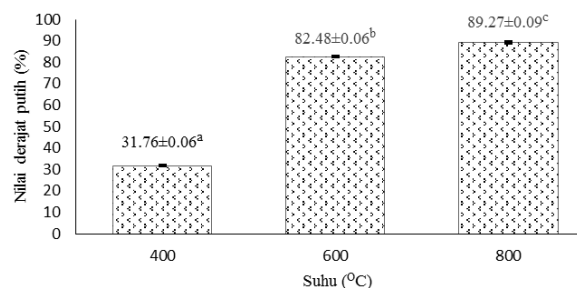
Rendemen merupakan perbandingan berat awal dan berat akhir produk yang dihasilkan setelah mengalami suatu proses. Analisis rendemen pada sampel dengan variasi suhu 400°C, 600°C dan 800°C. Pada sampel dengan suhu *sintering* 400°C, berat sebelum *sintering* 50,235 g dan setelah *sintering* menjadi 30,666 g sehingga didapat rendemen 61,05%. Pada perlakuan suhu *sintering* 600°C, berat sampel sebelum *sintering* 50,337 g dan setelah *sintering* menjadi 29,741 g sehingga didapat rendemen 59,09%. Sampel dengan suhu *sintering* 800°C, berat sebelum *sintering* 50,257 g dan setelah *sintering* berubah menjadi 29,014 g sehingga didapat rendemen 57,73%.

Data menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu *sintering* akan memberikan

rendemen lebih rendah. Hal ini bisa disebabkan oleh semakin tinggi suhu *sintering* akan menghilangkan seluruh komponen organik yang terdapat pada tulang seiring dengan pemanasan menjadi bentuk mineral yang semakin murni. Al-Sokanee *et al.* (2009) mengemukakan hasil rendemen mengalami penurunan akibat proses *sintering* diduga karena hilangnya kandungan air dan bahan organik yang terdapat pada bahan serbuk tulang ikan.

### 3.2. Hasil Pengukuran Derajat Putih

Analisis derajat putih dilakukan untuk mengukur tingkat warna putih suatu materi. Semakin tinggi presentasi derajat putih suatu materi maka tingkat kemurnian warna putihnya juga semakin tinggi. Pengukuran derajat putih ini dilakukan dengan menggunakan *Whitenessmeter*. Hasil analisis derajat putih dari sampel tulang tuna pada suhu *sintering* 400°C diperoleh derajat putih sebesar 31,76 %, derajat putih pada suhu 600°C sebesar 82,48 %, dan derajat putih pada suhu 800°C sebesar 89,27 %. Analisis ragam (ANOVA) dilakukan terhadap derajat putih. Hasil analisis ragam derajat putih dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Nilai derajat putih hidroksiapatit tulang tuna (suhu *sintering* 400°C, 600°C, 800°C).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa variasi suhu *sintering* memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai derajat putih pada taraf uji ( $p < 0,05$ ). Semakin tinggi suhu *sintering* memberikan prosentase nilai derajat putih yang tinggi. Hasil uji lanjut

Duncan menunjukkan bahwa nilai derajat putih, variasi suhu *sintering* 400°C berbeda terhadap suhu *sintering* 600°C serta berbeda pada perlakuan suhu *sintering* 800°C.

Data dari pengukuran derajat putih menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu *sintering* maka sampel akan memiliki tingkat derajat putih yang paling tinggi. Hal ini dapat dilihat dari kenaikan persen derajat putih dari suhu 400°C yaitu 31,76% sampai pada suhu 800°C yaitu 89,27%. Suhu yang tinggi akan menyebabkan hilangnya senyawa organik seperti lemak, protein, karbon atau lainnya yang menyebabkan warna suatu materi menjadi kurang putih. Menurut Pallela *et al.* (2011), serbuk tulang ikan tuna sebelum *sintering* berwarna kuning, yang menandakan keberadaan gugus organik di dalam sampel hidroksiapatit tersebut.

### 3.3. Hasil Analisis Proksimat

Analisis proksimat dilakukan terhadap sampel tulang ikan tuna (*Thunnus* sp.) sebelum dan setelah *disintering*, meliputi pengujian kadar air, abu, lemak, protein dan kandungan serat kasar. Sampel tulang tuna (*Thunnus* sp.) sebelum *sintering* memiliki kadar air 10,39%, abu 60,36%, lemak 0,48%, protein 22,34% dan serat kasar 0,04%. Sampel tulang tuna setelah *sintering* memiliki kadar air 0,15%, kadar abu 99,83%, kadar lemak 0,05%, kadar protein 0,73% dan kandungan serat kasar sebesar 0%.

Hasil analisis proksimat menunjukkan kandungan kadar air, kadar lemak, kadar protein dan serat kasar menurun sangat drastis setelah proses *sintering*. Hal ini dikarenakan pengaruh panas dapat merusak kandungan bahan-bahan tersebut sehingga hasil akhir setelah *sintering* kandungan yang tersisa tinggal sedikit sekali. Reo (2011) menyebutkan bahwa waktu pengeringan, suhu pengeringan, dan luas permukaan bahan dapat mempengaruhi kadar air suatu bahan.

Hasil analisis kadar abu menunjukkan bahwa tulang tuna *Thunnus* sp. sebelum *sintering* sebesar 60,36% dan setelah *sintering* 99,83%. Kadar abu menandakan besarnya

kandungan mineral di dalam suatu bahan, semakin tinggi kadar abu akan semakin besar kandungan mineralnya, demikian juga sebaliknya. Menurut Lesbani *et al.* (2011) tingginya kadar abu menunjukkan kandungan mineral yang tinggi dalam suatu bahan.

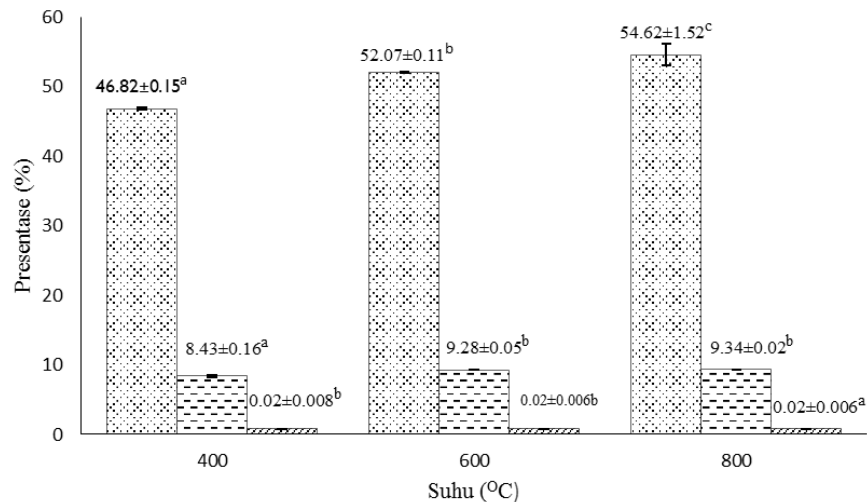
### 3.4. Hasil Analisis Logam Berat

Menurut Standar Nasional Indonesia, logam berat merupakan elemen kimiawi metalik dan metaloida, memiliki bobot atom dan bobot jenis yang tinggi, yang dapat bersifat racun bagi makhluk hidup. Dilakukan analisis logam berat pada tulang tuna setelah *sintering* meliputi pengujian terhadap logam berat Pb, Hg dan Cd untuk mengetahui tingkat keamanan produk yang dihasilkan.

Hasil analisis logam berat menunjukkan tulang tuna memiliki kandungan Pb) dan Hg) negatif dan Cd sebesar 0,018 ppm. Berdasarkan data tersebut sampel tulang tuna tidak terdeteksi kandungan logam berat timbal dan merkuri, sementara kandungan cadmium terdapat 0,018 ppm masih berada di bawah ambang batas yang ditetapkan oleh SNI Nomor 7387 Tahun 2009, mengenai ketentuan batas logam berat untuk Cadmium yaitu 0,2 mg/kg. Hal ini menunjukkan bahwa sampel yang digunakan aman dari cemaran logam berat.

### 3.5. Hasil Analisis Mineral

Kandungan mineral tulang tuna *Thunnus* sp. dianalisis menggunakan AAS. Pengujian mineral yang dilakukan terhadap sampel tulang tuna meliputi mineral seperti kalsium, fosfor, kalium, magnesium, besi, seng, mangan, dan natrium. Pengujian mineral ini mengacu pada Suptijah *et al.* (2010) yang mengungkapkan bahwa nanokalsium cangkang udang memiliki 8 jenis mineral yaitu kalsium, magnesium, kalium, fosfor, mangan, natrium, besi, dan zinc. Hasil analisis mineral didapatkan data bahwa sampel memiliki kandungan mineral diantaranya meliputi : kalsium (Ca) sebesar 511689,1 ppm (49,76 %), fosfor (P) sebesar 90195,293



Gambar 2. Kandungan mineral utama hidroksiapatit tulang tuna (▨ kalsium, ▨ fosfor, ▨ kalium).

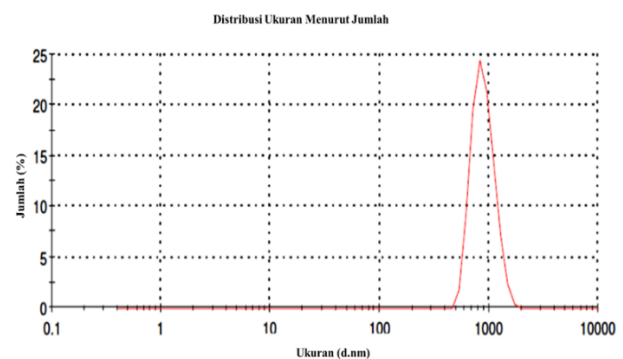
ppm (9,02%), kalium (K) sebesar 220,3292 ppm (0,022%), magnesium (Mg) sebesar 5507,48 ppm (0,551%), besi (Fe) sebesar 81,797 ppm (0,008%), seng (Zn) sebesar 89,554 ppm (0,009%), mangan (Mn) sebesar 12,133 ppm (0,0012%), serta kadar natrium (Na) sebesar 6999,144 ppm (0,7%). Analisis ragam (ANOVA) dilakukan terhadap mineral. Hasil analisis ragam mineral utama dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil analisis ragam terhadap mineral utama menunjukkan bahwa variasi suhu *sintering* memberikan pengaruh yang nyata terhadap ketiga mineral utama pada taraf uji ( $p < 0.05$ ). Semakin tinggi suhu *sintering* memberikan prosentase yang tinggi terhadap kalsium dan fosfor, sementara kadar kalium cenderung tidak mengalami perubahan yang signifikan. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pada mineral kalsium dan fosfor, variasi suhu *sintering* 400°C berbeda terhadap suhu 600°C serta berbeda pada perlakuan suhu 800°C. Hasil uji lanjut Duncan terhadap mineral kalium, perlakuan suhu *sintering* 400°C tidak berbeda dengan 600°C, akan tetapi keduanya berbeda terhadap suhu 800°C. Berdasarkan hasil tersebut didapatkan suatu fakta bahwa sampel tulang tuna memiliki kandungan mineral yang dominan yaitu kalsium dan fosfor dibandingkan dengan jenis mineral lain. Hal ini didukung oleh pendapat dari Trilaksani (2006), yang menyatakan

bahwa tulang ikan adalah suatu contoh limbah industri perikanan yang mengandung kandungan kalsium dengan jumlah paling banyak dibandingkan bagian tubuh ikan lain, karena tulang ikan terdiri dari unsur utama seperti kalsium, fosfor dan karbonat.

### 3.6. Hasil Analisis Partikel

Analisis partikel menggunakan PSA dilakukan untuk mengetahui ukuran diameter partikel dari nanohidroksi apatit tulang tuna. Grafik hasil analisis PSA dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Ukuran partikel nanohidroksi-apatit tulang tuna.

Analisis partikel didahului dengan pelarutan sampel ke dalam media cair, kemudian diikuti dengan proses sonikasi. Nikmatin (2010) menjelaskan bahwa analisis menggunakan PSA partikel harus didispersi-

kan ke dalam media cair sehingga partikel tidak saling beraglomerasi dan ukuran partikel yang terukur adalah *single particle*.

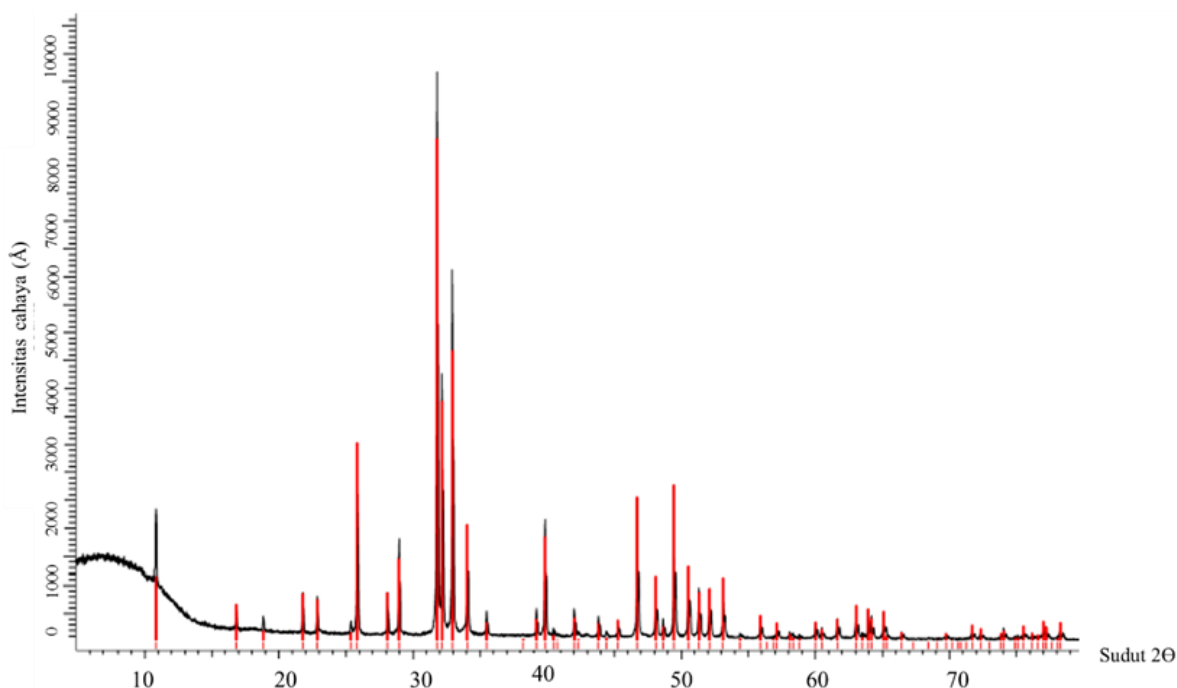
Berdasarkan pengujian partikel menggunakan PSA dimana ukuran partikel tulang tuna memiliki kisaran ukuran 800-900nm dapat dikategorikan dalam golongan nanopartikel. Nanopartikel adalah suatu materi yang memiliki ukuran partikel dibawah 1000 nm atau kurang dari 1 mm. Hal ini didukung oleh Mohanraj dan Chen (2006) yang mendefinisikan nanopartikel adalah suatu partikel yang memiliki ukuran 10-1000 nm. Pendapat lain tentang nanoteknologi diungkapkan Greiner (2009) yang menyatakan bahwa umumnya digunakan untuk suatu bahan dengan ukuran 1-100 nm.

### 3.7. Hasil Analisis Kristalinitas

Analisis kristalinitas dengan menggunakan alat *X-Ray Diffractometer* (XRD) dilakukan untuk mengetahui karakteristik struktur kristal dari nanohidroksiapatit tulang tuna. Grafik hasil analisis XRD dapat dilihat pada Gambar 4.

Hasil analisis XRD menunjukkan bahwa sampel tulang tuna teridentifikasi memiliki kandungan *Hydroxylapatite* dan *fluorian*, dengan syn 100.00%. Senyawa hidroksiapatit tersebut membentuk kompleks dengan rumus senyawa  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3((\text{OH})0.8\text{F}0.2)$ . Kristal yang terbentuk di dalam senyawa tersebut memiliki bentuk *hexagonal*. Hal ini membuktikan bahwa di dalam tulang tuna terdapat senyawa hidroksiapatit dan fluorian yang sangat potensial untuk dikembangkan.

Gambar 4 menunjukkan sampel nanohidroksiapatit tulang tuna memiliki presentase kristalinitas sebesar 82,9%. Kandungan kristal memiliki presentasi cukup tinggi, ditandai dengan banyaknya fase kristalin yang terbentuk. Persentase kristalinitas cenderung meningkat seiring dengan kenaikan suhu pemanasan. Hal ini terlihat dari semakin tingginya intensitas dan semakin sempitnya lebar puncak (*peak*). Dahlan *et al.* (2009) melaporkan sintesis HAp dari cangkang telur dengan metode kering dengan pemanasan pada suhu 900 dan 1000°C, menghasilkan kristalinitas antara 84% dan 94%.



Gambar 4. Kristalinitas nanohidroksiapatit tulang tuna.



### 3.8. Hasil Analisis Gugus Fungsi

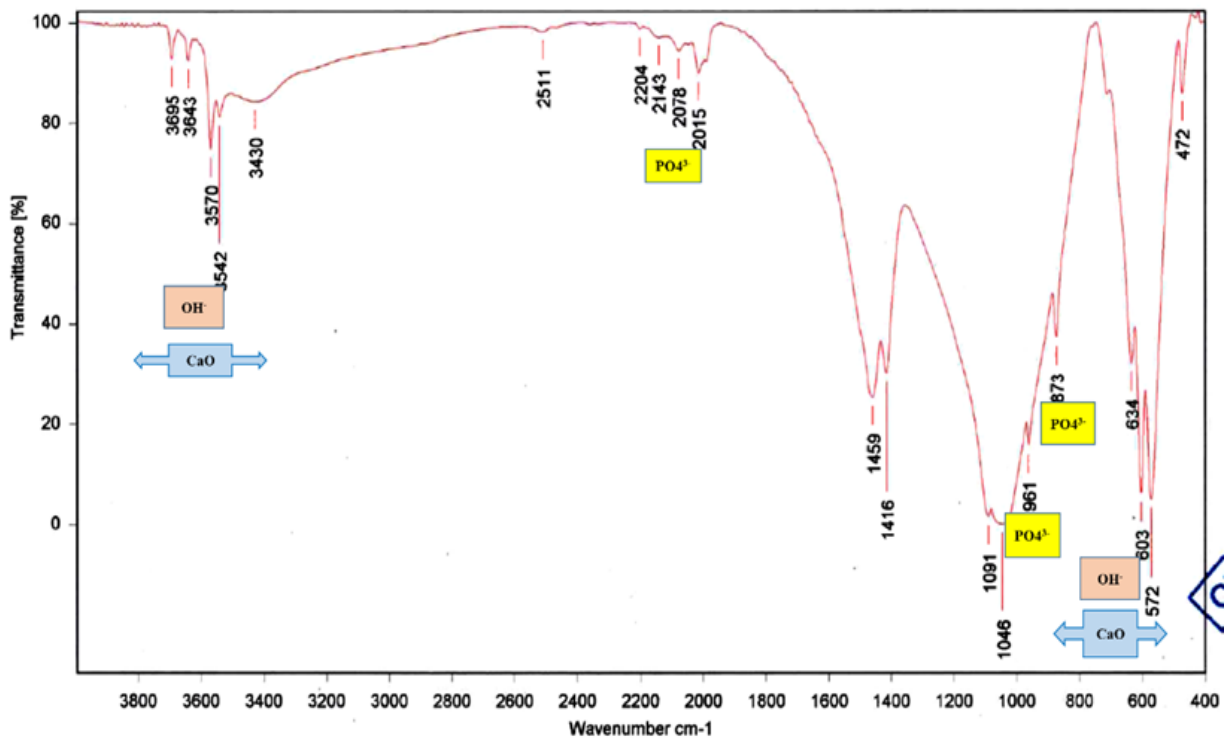
Analisis gugus fungsi dengan menggunakan FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus/komponen tertentu dalam sampel yang ditunjukkan dengan adanya puncak (*peak*) pada suatu bilangan gelombang tertentu dengan alat FTIR. Grafik hasil analisis gugus fungsi dapat dilihat pada Gambar 5. Analisis FTIR juga dilakukan dengan menggunakan metode transmisi. Hasil analisis FTIR menunjukkan bahwa sampel tulang tuna teridentifikasi memiliki kom-ponen/gugus yang terdiri dari gugus OH<sup>-</sup>, gugus CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> dan gugus PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>. Ketiga gugus tersebut merupakan komponen utama dalam pembentukan hidroksi apatit. Prabarakan dan Rajeswari (2006) mengemukakan bahwa hidroksiapatit memiliki kandungan gugus OH<sup>-</sup>, gugus CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> dan gugus PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>.

Hasil pembacaan spektra menunjukkan bahwa gugus CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> atau gugus karbonat terdeteksi pada pada bilangan gelombang 1.459 cm<sup>-1</sup> dan 1.416 cm<sup>-1</sup>. Hasil ini didukung oleh Mondal *et al.* (2012) yang mengungkapkan bahwa indikasi adanya gugus

karbonat pada sampel dapat ditunjukkan oleh puncak pada rentangan panjang gelombang 1.400 cm<sup>-1</sup> - 1.500 cm<sup>-1</sup>. Kandungan gugus OH<sup>-</sup> pada sampel terdeteksi dari hasil

Pembacaan visual spektra yang terdapat antara panjang gelombang 3.542 cm<sup>-1</sup> dan 3.570 cm<sup>-1</sup>. Venkatesan dan Kim (2010) menjelaskan bahwa puncak yang terdeteksi pada bilangan gelombang 3.300 cm<sup>-1</sup> - 3.600 cm<sup>-1</sup> merupakan indikasi adanya gugus hidroksil.

Kandungan gugus PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> sampel diindikasikan oleh pembacaan visual puncak spektra terdeteksi pada bilangan gelombang 1.046 cm<sup>-1</sup> -1.091 cm<sup>-1</sup>, juga pada pembacaan bilangan gelombang 572 cm<sup>-1</sup> - 603 cm<sup>-1</sup>. Terdeteksinya gugus fosfat ini memiliki kesamaan dengan penelitian yang dilakukan oleh Mondal *et al.* (2012) terbentuknya kompleks fosfat pada bilangan gelombang yang berkisar antara 1.000 cm<sup>-1</sup> - 1.100 cm<sup>-1</sup> dengan pola vibrasi asimetri stretching serta pada bilangan gelombang 576,30 cm<sup>-1</sup> dengan pola vibrasi simetri bending.



Gambar 5. Spektogram FTIR nanohidroksiapatit tulang tuna.

#### IV. KESIMPULAN

Nanohidroksiapatit dapat dihasilkan dari limbah tulang tuna dengan metode *sintering* dan *nanomilling*. Semakin tinggi suhu *sintering*, rendemen akan semakin sedikit namun nilai derajat putih dan kadar abu semakin tinggi. Hidroksi apatit tidak mengandung logam berat (Pb) dan Hg, serta Cd kadarnya masih di bawah standar ambang batas. Kandungan mineral yang dimiliki oleh hidroksiapatit didominasi oleh kalsium dan fosfor. Nanohidroksiapatit memiliki kisaran ukuran partikel nano, terdiri dari hydroxyl-apatite dan fluorian. Senyawa hidroksiapatit diidentifikasi memiliki bentuk *hexagonal* dengan presentase kristalinitas yang tinggi.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Arnadottir, I.B., S.R. Samundsson, and W.P. Holbrook. 2003. Dental erosion in Icelandic teenagers in relation to dietary and lifestyle factors. *Acta Odontol Scand*, 61:25-28.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 2005. Official methods of analysis. 18<sup>th</sup> Ed. Association of Official Analytical Chemist Inc. Mayland. USA. 56p.
- Al-Sokanee, Z.N, A.A.H. Toabi, M.J. Al-Assadi, and E.A. Al-Assadi. 2009. The drug releasestudy of cefi riaxone from porous hydroxyapatite scaff olds. *AAPS pharmacy Science Tech*, 10(5): 772-779.
- Barakat, N.A.M., M.S. Khil, A.M. Omran, F.A. Sheikh, and H.Y. Kim. 2009. Extraction of pure natural hydroxyapatite from the bovine bones bio waste by three different methods. *J. of Materials Processing Technology*, 209:3408-3415.
- Chatwall, G. 1985. Spectroscopy atomic and molecule. Himalaya Publishing House. Bombay. India. 135p.
- Cullity, B.D. 1978. Elemen of X-Ray diffraction. 2<sup>nd</sup> ed. Addison Wcsley Pusblishing Company. USA. 531p.
- Dahlan, K., F. Prasetyanti, dan Y.W. Sari. 2009. Sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur menggunakan *dry method*. *J. Biofisika*, 5(2):71-78.
- Food And Organisation (FAO). 2010. Data produksi perikanan tangkap. Statistik Perikanan. [Http://www.fao.org](http://www.fao.org). [26 Desember 2017].
- Greiner, R. 2009. Current and projected of nanotechnology in the food sector. *J. of Brazilian Society of Food and Nutrition*, 34(1):243-260.
- Gulsun, T., R.N. Gursoy, and L. Oner. 2009. Nanocrystal teknologi for oral delivery of poorly water-soluble drug. *J. Pharmacy Science*, 34:55-65.
- Huang, Y.C, P.C. Hsiao, and H.J. Chai. 2011. Hydroxyapatite extracted from fish scale: effect on MG63 osteoblast-like cells. *J. Ceramics International*, 37: 1825-1831.
- Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2012. Statistik ekspor produk perikanan 2011. KKP. Jakarta. 35hlm.
- Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2015. Kelautan dan Perikanan dalam Angka. KKP. Jakarta. 35hlm.
- Kett Electric Laboratory. 1981. Operating intruction kett digital whitenessmeter. Kett Electric Laboratory. Tokyo (JP). 21p.
- Lekahena, V., D.N. Faridah, R. Syarief, dan R. Peranginangin. 2014. Karakteristik fisikokimia nanokalsium hasil ekstraksi tulang ikan nila menggunakan larutan basa dan asam. *J. Tek dan Industri Pangan*, 25(1):57-64.
- Lesbani, A, Y. Setiawati, dan R.A.M. Mika. 2011. Karakteristik kitin dan kitosan dari cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*). *J. Penelitian Sains*, 14(3C): 32-36.
- Malvern Instruments Limited. 2012. A basic guide to particle characterization. USA. 20p.

- Mohanraj, V.J. and Y. Chen. 2006. Nanoparticles-a review. *Tropical J. of Pharmaceutical Research*, 5(1):561-573.
- Mondal, S., B. Mondal, A. Dey, and S.S. Mukhopadhyay. 2012. Studies on processing and Characterization of hydroxyapatite biomaterials from different bio wastes. *J. of Minerals and Materials Characterization and Engineering*, 11(1):56-67.
- Ozawa, M. and S. Suzuki. 2002. Microstructural development of natural hydroxyapatite originated from fishbone waste through heat treatment. *J. American Ceramic Society*, 85:1315-1317.
- Pallela, R., J. Venkatesan, and S.K. Kim. 2011. Polymer assisted isolation of hydroxyapatite from *Thunnus obesus* bone. *J. Ceramics International*, 37:3489-3497.
- Prabarakan, K. and S. Rajeswari. 2006. Development of hydroxyapatite from natural fish bone through heat treatment. *J. Trends Biomaterials Artificial Organs*, 20(1):20-23.
- Rajkumar, M., N.M. Sundaram, and V. Rajendran. 2011. Preparation of size controlled, stoichiometric and bioresorbable hydroxyapatite nanorod by varying initial Ph, Ca/P ratio and sintering temperature. *Digest J. of Nanomaterials and Biostructures*, 6(1):169 – 179.
- Reo, A.R. 2011. Pengaruh perbedaan konsentrasi larutan garam dan lama pengeringan terhadap mutu ikan layang asin dengan kadar garam rendah. *Pasific J.*, 2(6):1118-1122.
- Roveri, N., E. Battistella, I. Foltran, E. Foresti, M. Iafisco, M. Lelli, B. Palazzo, and L. Rimondini. 2008. Synthetic biomimetic carbonate hydroxyapatite nanocrystals for Enamel Remineralization. *Adv Materials Research*, 47:821-824.
- Standar Nasional Indonesia Nomor 7387 Tahun 2009. 2009. Cara uji kimia: Penentuan kadar logam berat Cadmium (Cd) pada produk perikanan. BSN. Jakarta. 14hlm.
- Suptijah, P., L. Hardjito, J. Haluan, dan M.T. Suhartono. 2010. Recovery dan manfaat nanokalsium hewan perairan (dari cangkang udang). *J. Logika*, 7(2):61-64.
- Trilaksani, W. 2006. Pemanfaatan limbah tulang Ikan Tuna (*Thunnus* sp.) sebagai Sumber Kalsium dengan Metode Hidrolisis Protein. *Buletin Tek Has Perikanan*, 9(2):59-61.
- Tseng, Y., C. Kuo, Y. Li, and C. Huang. 2009. Polymerassisted synthesis of hydroxyapatite nanoparticle. *J. Materials Science and Engineering*, 29:819-822.
- Venkatesan, J. and S.K. Kim. 2010. Effect of temperature on isolation and characterization on hydroxyapatite from tuna (*Thunnus obesus*) bone. *J. Materials* 3:4761-4772.
- West, N.X., A. Maxwell, J.A. Hughes, D.M. Parker, R.G. Newcombe, and M. Addy. 1998. A method to measure clinical erosion: the effect of orange juice consumption on erosion of enamel. *J. Dent*, 26:329–335.
- Xu, Y, D. Wang, L. Yang, and H. Tang. 2001. Hydrothermal conversion of coral into hydroxyapatite. *J. Materials Characterization*, 47:83-87.

Diterima : 25 Juni 2017

Direview : 02 Agustus 2017

Disetujui : 30 November 2017

