

STUDI PUSTAKA

Hidroksiapatit dari cangkang telur sebagai *bone graft* yang potensial dalam terapi periodontal

Kosno Suprianto^{*✉}, Hidayati^{**}, Cytha Nilam^{***}, Nurul Khairiyah^{***}, Ratu Amelia^{***}, dan Siti Rahmadita^{***}

*Departemen Periodontologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

**Departemen Kesehatan Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

***Mahasiswa Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

*Jalan Perintis Kemerdekaan No. 77, Jati, Padang, Sumatera Barat, Indonesia; ✉ koresponden: skosno@yahoo.com

ABSTRAK

Kebutuhan *bone graft* semakin meningkat seiring dengan meningkatnya kebutuhan terapi periodontal. Berbagai macam bahan alami telah diteliti sebagai bahan yang dapat digunakan untuk *bone graft*. Limbah cangkang telur merupakan pilihan yang potensial dibandingkan dengan bahan alami lainnya karena hidroksiapatit (HA) dari cangkang telur memiliki kemampuan mensinter yang unggul. Studi pustaka ini bertujuan untuk menilai hidroksiapatit dari cangkang telur sebagai bahan *bone graft* untuk terapi periodontal. HA merupakan komposisi mineral utama yang hampir menyerupai komposisi mineral pada tulang. HA memiliki sifat biokompatibel, osteoinduktif dan osteokonduktif yang merupakan syarat ideal bahan *bone graft*. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa cangkang telur memiliki kemampuan yang lebih tinggi dalam pembentukan tulang. HA dari cangkang telur dapat mencegah transmisi penyakit karena dapat disterilkan dalam temperatur yang tinggi tanpa mengubah sifat biologisnya. Sumber alami HA lainnya yang berasal dari tulang sapi, tulang ikan, cangkang sotong, cangkang tiram dan terumbu karang telah diteliti sebelumnya. Namun, penggunaan yang terus menerus dapat menyebabkan kepunahan. Untuk itu, cangkang telur merupakan peluang yang bagus untuk mengurangi biaya dalam perawatan perbaikan tulang dengan dampak yang sedikit terhadap lingkungan. Kesimpulan: Cangkang telur merupakan bahan *bone graft* alami yang potensial karena memiliki sifat yang ideal sebagai bahan *bone graft*, kurangnya resiko transfer penyakit dan biaya yang efektif dan ekonomis, sehingga HA dari cangkang telur dapat digunakan sebagai bahan *bone graft* yang potensial.

Kata kunci: *bone graft*; cangkang telur; hidroksiapatit; terapi periodontal

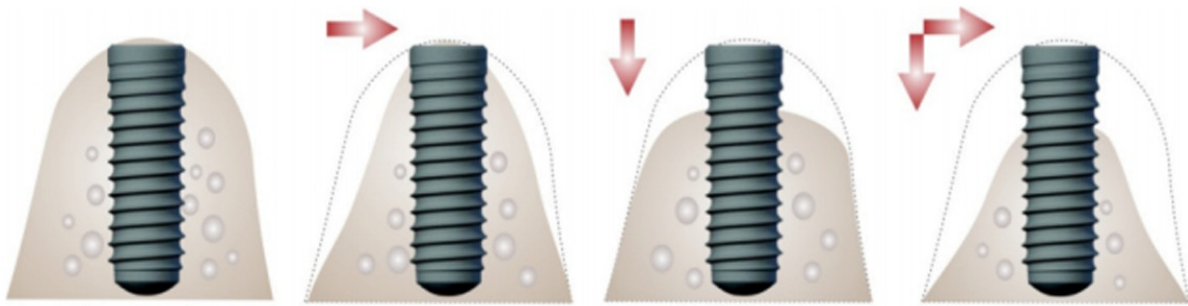
ABSTRACT: *Eggshell hydroxyapatite as a potential bone graft in periodontal therapy. The bone graft needs are growing more, along with the increasing need for periodontal treatment. Various natural ingredients have been studied as the ingredients that can be used for a bone graft. Eggshell waste is a potential choice compared to other natural ingredients because eggshell-derived hydroxyapatite (EHA) has superior sinterability. The type of this research is qualitative research with a literature study approach. The eggshell contains calcium carbonate that can be converted into HA with the main mineral composition that resembles the mineral composition of bone. HA has biocompatible, osteoinductive, and osteoconductive properties, which are ideal bone graft materials. Previous studies have reported that eggshells have a higher ability in bone formation. EHA can prevent disease transmission as it can be sterilized in high temperatures without changing its biological properties. Other natural HA derived from bovine bones, fish bones, cuttlefish shells, oyster shells, and corals have been studied previously. However, continuous use can lead to their extinction. Therefore, eggshells stand as a good chance of reducing the cost of treatment in bone repair with little impact on the environment. Eggshell is a promising natural bone graft material because of its biocompatibility, the lack of disease transfer risk, and cost-effectiveness, which can be prepared in a very economical way so that EHA can be used as a potential bone graft material.*

Keywords: *bone graft; eggshell; hydroxyapatite; periodontal therapy*

PENDAHULUAN

Bone grafting merupakan prosedur bedah yang digunakan untuk menggantikan tulang yang hilang akibat defek pada tulang setelah trauma, infeksi, tumor, fraktur yang kompleks seperti *delayed*

union dan *non-union*, serta rekonstruksi dalam bedah plastik dan wajah.¹ Saat ini, *bone grafting* digunakan dalam terapi periodontal seperti pada kasus defek *intraosseous* yang dalam, dukungan gigi yang mengalami resorpsi, defek tulang akibat



Gambar 1. Insufisiensi volume tulang untuk penempatan implan. Siebert mengklasifikasikan defek ridge, Class I menunjukkan kehilangan tulang horizontal dengan ketinggian yang memadai yang menyebabkan volume tulang tidak mencukupi untuk keberhasilan penempatan implan dengan diameter yang reguler. Class II terdapat kehilangan tulang vertikal dengan lebar yang memadai akan menyebabkan volume tulang tidak mencukupi untuk menempatkan panjang implan dalam posisi korono-apikal prostetik yang benar. Class III terjadi kehilangan tulang vertikal dan horizontal yang menyebabkan penempatan implan menjadi tidak berhasil dalam semua dimensi ruang.³

periodontitis juvenile, defek *intraosseous* yang dangkal untuk kebutuhan estetik, defek furkasi serta penempatan *dental implant*.² Keberhasilan jangka panjang *dental implant* sangat bergantung pada derajat osseointegrasi tulang yang cukup dan sehat. Kemajuan dalam penelitian biomaterial dan pengembangan teknik bedah yang terbaru, serta armamentariumnya menjadikan penggunaan *dental implant* semakin meningkat untuk menggantikan gigi yang hilang.³

Volume tulang akan berkurang setelah ekstraksi gigi karena waktu yang lama sebelum penempatan implan, periodontitis atau trauma. Rata-rata kehilangan tulang alveolar setelah ekstraksi gigi sebanyak 1,5-2 mm secara vertikal dan 40%-50% secara horizontal yang terjadi

dalam 6 bulan. Perubahan dimensi alveolar sebagian besar terjadi selama 3 bulan pertama. Jika tidak dilakukan perawatan untuk penggantian gigi, maka kehilangan tulang berlanjut sampai 40%-60% dari volume *ridge* yang resorpsi pada 3 tahun pertama. Hilangnya volume dan tinggi tulang vertikal akan merugikan hasil akhir perawatan yang berhubungan dengan keberhasilan dan lamanya *dental implant*. Hal ini menjadi tantangan besar pada penempatan *dental implant* karena kesulitan bedah dan keterbatasan anatomi (Gambar 1).³

Pendekatan bedah konvensional seperti *open flap debridement (OFD)*, memberikan akses yang sulit untuk mengevaluasi dan detoksifikasi permukaan akar, serta peningkatan bentuk dan

struktur jaringan periodontal. OFD ini hanya memberikan potensi yang terbatas dalam memulihkan atau perbaikan kembali komponen jaringan periodonsium.³ Untuk membantu proses perbaikan tulang, maka diperlukan suatu terapi dengan *bone graft*. Terapi tersebut dilakukan dengan mengambil tulang dari tempat yang berbeda kemudian mensubstitusikan pada jaringan tulang yang mengalami defek.⁴ *Bone graft* memiliki fungsi sebagai rangka struktural dan matriks untuk keterikatan dan proliferasi osteoblas.

Dalam pengaplikasiannya, suatu material yang akan digunakan sebagai *bone graft* harus mempunyai tiga fungsi pokok, yaitu osteokonduksi, osteoinduksi dan osteogenesis.^{4,5,6} *Bone graft* harus bersifat biokompatibel dan bioresorpsi, yaitu dapat diterima dan diserap oleh tubuh, mudah dimanipulasi dan mempunyai sifat mekanik yang baik.^{1,4,5,6} Karakteristik ideal lainnya dari bahan *bone graft* adalah non-toksik, non-antigenik, resisten terhadap infeksi, tidak menyebabkan resorpsi akar atau ankilosis, kuat dan kaku, mudah didapatkan, keterlibatan prosedur bedah yang minimal, menstimulasi perlekatan baru yang dapat memicu osteogenesis, sementogenesis serta pembentukan ligamen periodontal yang fungsional.⁷

Secara garis besar ada 4 macam *bone graft* berdasarkan sumbernya antara lain *autograft* (berasal dari tubuh pasien itu sendiri), *allograft* (berasal dari tulang kadaver yang biasanya diperoleh dari *bone bank*), *xenograft* (berasal dari donor yang

berbeda spesies) dan *alloplast* (sering terbuat dari hidroksiapatit atau zat lain yang terjadi secara alami dan biokompatibel). Penggunaan *autografts* masih menjadi pilihan utama untuk mengembalikan defek tulang. *Autograft* biasanya didapatkan dari tulang tibia, fibula, atau ilium. Hal tersebut masih menjadi standar utama bahan *bone graft* jika dibandingkan yang lainnya. Namun, jenis *bone graft* ini memiliki kerugian seperti dibutuhkannya prosedur operasi tambahan untuk mengambil tulang pada bagian tubuh yang lain sehingga menyebabkan trauma sekunder, keterbatasan jumlah terhadap material tulang yang tersedia dan morbiditas.^{1,4,8} *Allograft* dan *xenograft* juga memiliki kekurangan yaitu adanya reaksi imunologi, resiko kontaminasi, rendahnya vaskularisasi, lemahnya sel, tingginya tingkat resorpsi dan biaya yang relatif mahal.^{1,4}

Seiring dengan semakin tingginya tingkat kebutuhan akan *bone graft* terhadap terapi periodontal menyebabkan penelitian akan biomaterial terus dikembangkan. Berbagai bahan alami yang telah diteliti dan dapat digunakan sebagai *bone graft* jenis *alloplast* yaitu tulang ikan, tulang sapi, cangkang telur, cangkang sotong, cangkang tiram, terumbu karang dan jaringan keras hewan lainnya. Akan tetapi, penggunaan sumber daya ini secara terus menerus dapat menyebabkan kepunahan dan dalam kasus karang, mereka memiliki tingkat pertumbuhan yang lambat, kecuali pada cangkang telur.^{9,10}

Telur merupakan makanan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat di Indonesia. Menurut data Badan Pusat Statistik tahun 2009 dalam Mahreni (2012), produksi telur pada tahun 2008 sebesar 860.000 ton per tahun dan 10 % dari telur tersebut merupakan cangkang telur. Sehingga, dalam setahun dihasilkan 86.000 ton cangkang telur di seluruh Indonesia. Cangkang telur tersebut belum dimanfaatkan dan dibuang secara percuma yang dapat mencemari lingkungan. Salah satu pilihan yang dapat dilakukan dalam mengatasi limbah cangkang telur yaitu mengolah cangkang telur tersebut menjadi serbuk hidroksiapatit atau senyawa kalsium yang berguna dalam *bone graft*.¹¹

Komposisi utama (94%) dari cangkang telur adalah kalsium karbonat (CaCO_3) yang merupakan

komponen dalam memproduksi hidroksiapatit. Hidroksiapatit adalah bahan keramik kalsium fosfat ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) yang sangat penting sebagai biomaterial karena sifat osteofilik sehingga memiliki gambaran identik dengan hidroksiapatit pada tulang. Hidroksiapatit bersifat biokompatibel, osteokonduktif dan dapat menyatu dengan tulang sehingga dapat meningkatkan proses regenerasi tulang. Hidroksiapatit dari cangkang telur telah menunjukkan sinterabilitas yang unggul bila dibandingkan dengan hidroksiapatit dari sumber lain dalam hal kekerasan, kepadatan, dan kultur sel dan penggabungannya ke dalam jaringan tulang.^{4,5,9} Studi pustaka ini bertujuan untuk menilai hidroksiapatit dari cangkang telur sebagai bahan *bone graft* untuk terapi periodontal.

TINJAUAN PUSTAKA

Bone Graft

Bone graft merupakan prosedur bedah yang sudah dilakukan sejak lama seperti Implan tulang pertama kali dilakukan pada tahun 1668. *Bone graft* adalah material yang berfungsi untuk membantu rekonstruksi, menstabilkan struktur dan ikatan pada tulang serta menstimulasi proses osteogenesis serta penyembuhan defek tulang yang besar. Selain itu, *bone graft* juga digunakan untuk mengisi defek akibat kista, tumor, atau penyebab lainnya, menghubungkan sendi yang memberikan arthrodesis, menjembatani cacat besar atau membangun kelangsungan tulang panjang, menyediakan blok tulang untuk membatasi gerakan sendi (arthrosis), membentuk penyatuan dalam pseudarthrosis, memicu penyatuan atau mengisi cacat dalam delayed union, malunion, atau osteotomi serta arthrosis plastis pada acetabulum untuk dislokasi kongenital panggul dan penyakit Perthes.¹

Suatu bahan *bone graft* yang ideal harus memiliki tiga fungsi dasar yaitu osteokonduksi, osteoinduksi dan osteogenesis. Osteokonduksi adalah kemampuan cangkang berfungsi sebagai perancah (*scaffold*) untuk pertumbuhan tulang baru dan kapiler tumbuh, dan membimbing pertumbuhan reparatif tulang alami. Dalam

fungsinya sebagai *scaffold*, mampu menjadi media bagi sel-sel punca dan osteoblas untuk melekat, hidup dan berkembang dengan baik di dalam defek tulang. Osteoblas dari margin defek yang sedang dicangkokkan memanfaatkan bahan cangkok tulang sebagai kerangka kerja untuk menyebar dan menghasilkan tulang baru. Paling tidak, bahan cangkok tulang harus osteokonduktif. *Scaffold* juga membantu pembentukan pembuluh darah dalam pembentukan tulang baru. *Graft* osteokonduktif dapat merangsang pertumbuhan tulang dan menyebabkan aposisi tulang dari tulang yang telah ada. Sifat osteokonduksi suatu material dipengaruhi oleh bentuk dan strukturnya, antara lain derajat porositas, ukuran porus, hubungan antar porus, dan kekasaran permukaan.^{1,6}

Osteoinduksi adalah kemampuan *bone graft* cangkok untuk merangsang pembentukan tulang, mendorong sel-sel yang tidak berdiferensiasi menjadi osteoblas aktif. Osteoinduksi melibatkan stimulasi sel osteoprogenitor untuk berdiferensiasi menjadi osteoblas yang kemudian memulai pembentukan tulang baru. Jenis yang paling banyak dipelajari Mediator sel osteoinduktif adalah protein morfogenetik tulang (BMPs). Pencangkokan tulang material yang osteokonduktif dan osteoinduktif tidak hanya berfungsi sebagai perancah untuk osteoblas saat ini tetapi juga akan memicu pembentukan osteoblas baru, secara teoritis mempromosikan integrasi graft yang lebih cepat.^{1,7,4}

Osteogenesis adalah sel-sel pembentuk tulang yang berkontribusi untuk menjadi *remodeling* dan hanya bisa didapatkan dari *autograft*. Osteogenesis terjadi ketika osteoblas vital yang berasal dari bahan cangkok tulang berkontribusi terhadap pertumbuhan tulang baru bersama dengan pertumbuhan tulang yang dihasilkan melalui dua mekanisme lainnya.¹

Dari sudut pandang mekanis, pengganti tulang harus memiliki kekuatan yang sama dengan tulang yang digantikan. *Bone graft* harus bersifat biokompatibel, yaitu dapat diterima oleh tubuh, memiliki sifat mekanik yang baik, dan mudah dimanipulasi. Bahan cangkok tulang yang ideal harus biokompatibel, osteoinduktif, osteokonduktif dan harus memiliki sifat mekanik yang memuaskan.

Selain itu, harus menginduksi sedikit atau tidaknya reaksi fibrotik, menjalani renovasi dan mendukung pembentukan tulang baru. Kebanyakan cangkok tulang diharapkan dapat diserap dan diganti ketika tulang alami sembuh dalam waktu beberapa bulan.^{4,5,6}

Berdasarkan sumbernya, *bone graft* terbagi atas 4 jenis, yaitu *autograft*, *allograft*, *xenograft*, dan *alloplast*. Pencangkokan tulang autologous (autogenous) melibatkan penggunaan tulang yang diperoleh dari individu yang sama yang menerima cangkokan. Tulang autogenous adalah yang paling disukai karena mengurangi resiko penolakan graft karena cangkok berasal dari tubuh pasien sendiri. *Autograft* ini kebanyakan diperoleh dari krista iliaka yang dianggap sebagai standar emas karena menyediakan perancah untuk pertumbuhan tulang, mengandung sel tulang hidup sebagai osteogenesis, dan mengandung faktor pertumbuhan yang merangsang osteoinduksi. Namun, karena unsur seluler tidak selalu bertahan hidup dari transplantasi, manfaat klinisnya tidak dijamin. Selain itu, kekurangan dari *autograft* adalah memperpanjang prosedur pembedahan yakni diperlukannya penambahan lokasi bedah yang pada dasarnya menambahkan lokasi potensial lain untuk komplikasi dan komplikasi pasca-operasi, jumlah *graft* mungkin tidak mencukupi, atau bentuknya tidak sesuai. *Autograft* dikaitkan dengan risiko komplikasi 8-39%, misalnya infeksi, hematoma, saraf dan cedera uretra, ketidakstabilan panggul, kerugian kosmetik, nyeri pasca operasi dan nyeri kronis di lokasi donor. Lebih lanjut, autograft biasanya tidak dianjurkan untuk pasien lanjut usia atau anak atau untuk pasien dengan penyakit ganas atau infeksi.^{1,6}

Alternatif strategi seperti allo-, dan xenotransplantasi memiliki kelemahan biokompatibilitas utama dibandingkan dengan *autograft*. Perbedaannya adalah *allograft* diambil dari bangkai tulang orang lain yang disumbangkan sehingga dapat digunakan untuk orang yang hidup yang membutuhkannya, ini biasanya bersumber dari bank tulang. Pada anak-anak, tempat donor biasanya tidak menyediakan cangkok kortikal yang cukup besar untuk mengobati cacat, atau tulang

kanselus yang tersedia mungkin tidak cukup untuk mengisi rongga besar atau kista, lebih jauh lagi dengan mempertimbangkan perlukaan fisik. Oleh karena itu, cangkok untuk anak-anak biasanya diberikan dari ayah atau ibu.¹

Pengganti tulang dengan *xenograft* berasal dari spesies lain selain manusia, seperti sapi. *Xenograft* biasanya hanya didistribusikan sebagai matriks kalsifikasi. Cangkok alloplasti dapat dibuat dari hidroksiapatit, mineral alami yang juga merupakan komponen mineral utama tulang, yang mungkin terbuat dari kaca bioaktif. Hidroksiapatit adalah *bone graft* sintesis, yang paling banyak digunakan sekarang di antara sintesis lainnya karena osteokonduksi, kekerasan dan penerimaannya oleh tulang. Beberapa *bone graft* sintesis terbuat dari kalsium karbonat, yang mulai menurun dalam penggunaan karena bersifat *resorbable* dalam waktu singkat yang membuat tulang mudah pecah lagi. Sehingga, yang digunakan sekarang adalah tricalcium phosphate dalam kombinasi dengan hidroksiapatit yang memberikan efek osteokonduksi dan resorbabilitas.¹

Mekanisme Kerja Bone Graft

Proses pembentukan tulang baru diawali oleh fase inflamasi. Fase ini melibatkan trombosit dalam proses pembekuan darah dan sel polimorfonuklear (PMN), makrofag, serta limfosit. Sel-sel inflamasi akan memfagosit jaringan nekrotik dan melepaskan sitokin seperti *interleukin 1* (IL-1) dan IL-6, *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) dan PGE₂. Sitokin tersebut berfungsi untuk menarik sel progenitor yang dapat berdiferensiasi menjadi osteoblas, sel endotelial, dan osteoklas. Infiltrasi sel-sel tersebut menimbulkan jaringan granulasi, menstimulasi *angiogenesis* serta migrasi sel-sel mesenkimal agar area yang mengalami fraktur atau luka mendapat suplai oksigen dan nutrisi dengan baik. Fase inflamasi berlangsung antara minggu pertama sampai minggu ke-2.^{4,12,13,14}

Fase kedua yaitu fase reparasi yang dimulai dalam beberapa hari setelah fraktur atau luka dan tumpang tindih dengan fase inflamasi. Pada fase ini, lingkungan lokal yang bersifat asam dan hipoksia

selama fase inflamasi berangsur-angsur menjadi netral dan sedikit basa untuk memungkinkan mineralisasi tulang. *Bone graft* akan merangsang pertumbuhan tulang dengan cara menginduksi dan menjadi media bagi sel-sel punca dan osteoblas untuk melekat, hidup dan berkembang dengan baik di dalam defek tulang. Setelah itu, luka akan distabilisasi oleh kartilago (*soft callus*) yang nantinya akan menjadi tulang (*hard callus*). Fase ini berlangsung dalam hitungan beberapa bulan. Selama fase reparatif yaitu terjadi diferensiasi dari sel mesenkim *pluripotensial* menjadi *fibroblast*, *chondroblast*, dan *osteoblast*. *Chondroblast* dan *fibroblast* akan menginfasi daerah hematoma fraktur dan kemudian membawa matriks pada daerah luka. Pada minggu ke-4 hingga minggu ke-6 akan terbentuk *soft callus* yang tersusun dari jaringan *fibrous* dan kartilago.^{4,12} Sel *osteoblast* akan membantu proses mineralisasi *soft callus* dengan cara mensekresi matriks (kolagen tipe I) yang nantinya akan menjadi *hard callus* atau *woven bone*. Pada fase ini, tulang masih imatur dimana tulang masih lemah terhadap tekanan.^{4,12}

Fase terakhir dalam proses pembentukan tulang baru adalah fase remodeling. Fase remodeling berfungsi untuk memperbaiki bentuk, struktur, serta sifat-sifat mekanis tulang dan berlangsung selama beberapa bulan sampai bertahun-tahun. Pada fase ini, aktifitas *osteoblast* dan *osteoclast* merubah tulang imatur menjadi matur, membentuk *lamella* menjadi lebih terorganisir agar *woven bone* yang susunannya tidak beraturan menjadi lebih beraturan dan menjadikan daerah fraktur menjadi lebih stabil.⁴ *Osteoblast* menghasilkan *bone morphogenetic protein* (BMP), antara lain BMP-2, BMP-7, dan perubahan faktor β dengan *Insulin-Like Growth Factor*, (IGF-I dan IGF-II), *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), *Fibroblastic Growth Factors* (FGF), TGF- β , interleukin I dan PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*) dan *osteoid* yang sebagian terdiri dari kolagen tipe-I untuk proses mineralisasi matriks tulang dengan cara mensekresi osteosit dan matriks tulang. Setelah itu, terjadi pembentukan *medullary canal* dan pembentukan permukaan tulang baru.^{4,12}

Bone Graft Dalam Terapi Penyakit Periodontal

Peningkatan kedalaman probing dengan meningkatnya tingkat keparahan penyakit periodontal diduga berkaitan dengan defek infraboni. Studi klinis telah membuktikan bahwa residual poket masih ada setelah terapi periodontal *nonsurgical* atau penggunaan flap dan teknik resektif berdampak pada hilangnya perlekatan dan resesi jaringan lunak.¹⁵ Regenerasi atau restitusi jaringan pendukung yang hilang selalu dianggap sebagai tujuan ideal terapi periodontal. Regenerasi dapat didefinisikan sebagai reproduksi atau reformasi organ atau jaringan tubuh yang telah hilang atau cedera akibat luka atau infeksi. Prosedur periodontal regeneratif melibatkan pembentukan tulang alveolar baru, sementum, dan ligamen periodontal. Kebanyakan terapi periodontal fokus pada pencegahan penyakit, inisiasi dan perawatan bedah korektif untuk menghilangkan poket yang dalam. Regenerasi berbeda dari perbaikan jaringan dan ditandai dengan penggantian jaringan yang rusak dengan sesuatu yang mungkin lebih rendah daripada jaringan asli baik secara struktural dan fungsional.¹⁶

Mengeliminasi bakteri penyebab penyakit dan meregenerasi tulang serta jaringan pendukung membantu mengurangi kedalaman poket dan memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh perkembangan penyakit periodontal. Selama dekade terakhir modalitas yang berbeda pada pengobatan regeneratif telah digunakan dan diterapkan secara klinis. Efek positif dari cangkang telur dan tulang pengganti pada hasil prosedur regeneratif periodontal telah diteliti dan terbukti.¹⁶

Hidroksiapatit Dari Cangkang Telur

Cangkang telur terdiri dari 3 struktur lapisan, lapisan permukaan terluar adalah lapisan kutikula yang menyerupai keramik dan terdiri dari beberapa protein, lapisan tengah yang bersifat spongy, dan lapisan dalam yang terdiri dari lapisan lamella.^{9,10} Lapisan spongy dan lamella membentuk matriks yang dibentuk oleh serat protein yang terikat pada kristal kalsit (kalsium karbonat).¹⁰ Ketiga lapisan tersebut mewakili hampir 11% dari berat total telur.

Kalsium karbonat (*calcite*) merupakan komponen utama dan substansi inorganik yang paling banyak hingga 94% ditemukan dalam cangkang telur. Kalsium karbonat merupakan bahan yang esensial dalam produksi hidroksiapatit. Bahan organik sebanyak 4%, 1% magnesium karbonat, 1% kalsium fosfat.⁹

Salah satu perspektif, bahan yang tidak mahal dan ramah lingkungan untuk memproduksi hidroksiapatit adalah cangkang telur.¹⁷ Komposisi cangkang telur secara umum terdiri atas : air (1,6%) dan bahan kering (98,4%). Dari total bahan kering yang ada, dalam cangkang telur terkandung unsur mineral (95,1%) dan protein (3,3%). Berdasarkan komposisi mineral yang ada, maka cangkang telur tersusun atas kristal CaCO_3 (93,6%) ; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (0,8%) dan MgCO_3 .⁵

Kandungan protein dalam cangkang telur bisa bervariasi. Matriks organik dari cangkang telur terutama terdiri dari protein *polysaccharide* kompleks mengandung polisakarida 11% dan setidaknya 70% protein. *Hydroxyproline* bukan komponen dari matriks protein, tetapi dalam komposisi asam aminonya mirip dengan kartilago-protein-polisakarida. Chondroitin sulfat A dan B terdapat dalam matriks dan terhitung sekitar 35% dari total polisakarida. Cangkang telur yang terkalsifikasi mengandung matriks organik yang membentuk sekitar 3% dari berat cangkang telur. Selanjutnya, bagian organik ini mengandung proteoglikan dan protein seperti ovocleidin 116, ovotransferrin, ovalbumin, ovocalyxin-32, ovocleidin-17, osteopontin (OPN), dan lisozim, dimana beberapa dari mereka mampu memodifikasi morfologi kalsit kristal cangkang telur dan laju presipitasinya.⁵

Osteopontin (OPN) merupakan protein yang menjadi perhatian utama. Protein spesifik ini berperan penting dalam kalsifikasi dengan meningkatkan adhesi osteoblas ke matriks dan mengikat hidroksiapatit. Peran fungsional lainnya dari protein cangkang telur ini yaitu pengaturan mineralisasi cangkang telur, dan juga perlindungan antimikroba telur dan isinya.⁵

Hydroxyapatite (HA), dengan formula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, adalah bioceramik kalsium

fosfat dengan komposisi kimia hampir identik dengan mineral komponen dalam tulang alami. HA adalah biokompatibel, bioaktif, dan bahan osteokonduktif yang banyak digunakan sebagai biomaterial di bidang kedokteran, kedokteran gigi, dan farmakologi.^{18,19} HA telah digunakan sebagai *bone graft* selama lebih dari 30 tahun.^{10,20} HA juga telah digunakan sebagai lapisan untuk *dental implant*.²¹ Komersial HA telah dilaporkan secara luas sebagai *bone graft* yang efektif menggantikan aplikasi oral dan maksilofasial.^{22,23} Sayangnya, HA berkualitas tinggi yang tersedia secara komersial mahal untuk diproduksi karena kebutuhan reagen dengan kemurnian tinggi. Oleh karena itu, ada kebutuhan untuk mengembangkan metode memproduksi HA sebagai pengganti *bone graft* dari sumber yang lebih terjangkau atau murah.²⁴

Cangkang telur adalah limbah pertanian yang dianggap tidak berguna dan banyak dibuang sehingga berkontribusi pada polusi. Limbah ini berpotensi menghasilkan hidroksiapatit, komponen utama yang ditemukan di tulang dan gigi. HA adalah bahan yang sangat baik digunakan dalam perbaikan tulang dan regenerasi jaringan. Penggunaan cangkang telur untuk menghasilkan HA akan mengurangi efek polusi limbah dan konversi limbah menjadi produk yang sangat berharga. Proses transformasi cangkang telur menjadi HA dan nano-HA adalah proses yang ramah lingkungan. HA cangkang telur merupakan peluang bagus untuk mengurangi biaya pengobatan dalam perbaikan atau penggantian tulang dengan sedikit dampak pada lingkungan hidup.⁹

HA yang disintesis dari cangkang telur telah menunjukkan keunggulan sinterabilitas bila dibandingkan dengan hidroksiapatit yang disintesis dari sumber lain dalam hal kekerasan, kepadatan, dan kultur sel. Uji sitotoksitas dilakukan dengan menggunakan kultur sel osteoblas menetapkan biokompatibilitas cangkang telur. Ini menunjukkan bahwa HA yang berbasis cangkang telur dapat menstimulasi adhesi sel-sel osteoblas dan non-sitotoksik. Hal ini disebabkan oleh sifat biologis CaCO_3 yang dapat meningkatkan sifat dari HA. HA dari cangkang telur berkualitas baik karena

kemiripannya dengan jaringan keras manusia. HA telah dilaporkan secara signifikan membantu pembentukan tulang.⁹

Suhu kalsinasi untuk HA berbasis cangkang telur bervariasi dari 900°C dan pada suhu ini masalah yang berkaitan dengan penularan penyakit oleh patogen yang dapat mentransfer penyakit kepada pasien dapat dieliminasi. Ini adalah persyaratan utama yang dipertimbangkan sebelum apatit sintetik dapat digunakan untuk memperbaiki kerusakan dan jaringan keras. Tidak seperti HA dari cangkang telur, karakteristik HA yang diekstrak dari tulang alami biasanya bergantung pada alam dan sumber tulang, suhu kalsinasi, dan tekniknya. Semua kondisi ini mungkin memengaruhi sifat, efisiensi, kemurnian fase, dan distribusi ukuran dari HA.⁹

Sintesis Hidroksiapatit Dari Cangkang Telur

Ada beberapa metode untuk memproduksi hidroksiapatit dari cangkang telur. Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya hidroksiapatit pada cangkang telur dapat diperoleh diantaranya dengan metode hidrotermal, iradiasi gelombang mikro dan aktivasi mekanokemikal.^{25,26,27}

Metode Hidrotermal

Metode hidrotermal adalah metode produksi HA yang paling banyak dilaporkan dari cangkang telur. Metode ini telah terbukti menjadi metode HA yang paling mudah digunakan. Metode mensintesis HA dari cangkang telur dalam larutan fosfat pada suhu tinggi adalah cara baru untuk memproduksi bahan biomedis yang berguna. Di dalam metode ini, kristal tunggal hidroksiapatit halus disintesis dengan metode hidrotermal dengan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dan $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebagai bahan awalnya.²⁵

Penelitian H. Khandelwal, S. Prakash (2016) melakukan sintesis serbuk hidroksiapatit dari cangkang telur dengan metode hidrotermal ini. Dalam penelitian tersebut, cangkang telur yang masih baik (tidak dihancurkan) diambil secara massal dan dibersihkan dengan tangan dengan air deionisasi, kemudian direbus dalam air selama sekitar setengah jam di oven (Gambar 2 (a)). Selanjutnya cangkang telur dibersihkan dan



Gambar 2. Sintesis CaO: (A) Cangkang telur mendidih dalam oven; (B) Kalsinasi HA dalam tungku tabung.²⁵

disimpan dalam bejana porselen dan dikalsinasi dalam tungku tabung pada suhu 900°C untuk satu jam, ditunjukkan pada Gambar 2(b). Pada suhu 850°C cangkang telur menjadi karbon dioksida lalu berkonversi menjadi kalsium oksida.²⁵ Reaksi yang diharapkan terjadi adalah sebagai berikut:



Setelah didapatkan suatu jumlah yang diukur dari kekuatan cangkang yang terkalsinasi diambil dalam suatu gelas dan didispersikan dalam air suling. Jumlah stoikiometri tersebut diputuskan sesuai dengan kuantitas kalsium yang ada dalam cangkang telur yang terkalsinasi. Dalam reaksi ini CaO berubah menjadi $\text{Ca}(\text{OH})_2$.²⁵

Reagen 0,6 M dari larutan asam *orthophosphoric* ditambahkan ke larutan $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Larutan tersebut ditambahkan pada tingkat yang tepat, untuk menurunkan pH hingga 8,5. Pembentukan pengendapan diamati pada saat ini. Selanjutnya, larutan disimpan selama 24 jam pada suhu kamar, yang menyebabkan pengerasan pengendapannya. Larutan selanjutnya diaduk selama 30 menit pada pengaduk magnet dan kemudian dидiamkan selama 24 jam. Endapan disaring dengan kertas saring dan dicuci hati-hati dengan air suling ganda dan disaring lagi menggunakan kertas saring. Endapan kembali disimpan dalam oven selama 2 jam pada 100°C untuk pengeringan. Endapan kering selanjutnya dikalsinasi pada 900°C selama 2 jam dalam tungku tabung seperti Gambar 2 (b). Di akhir

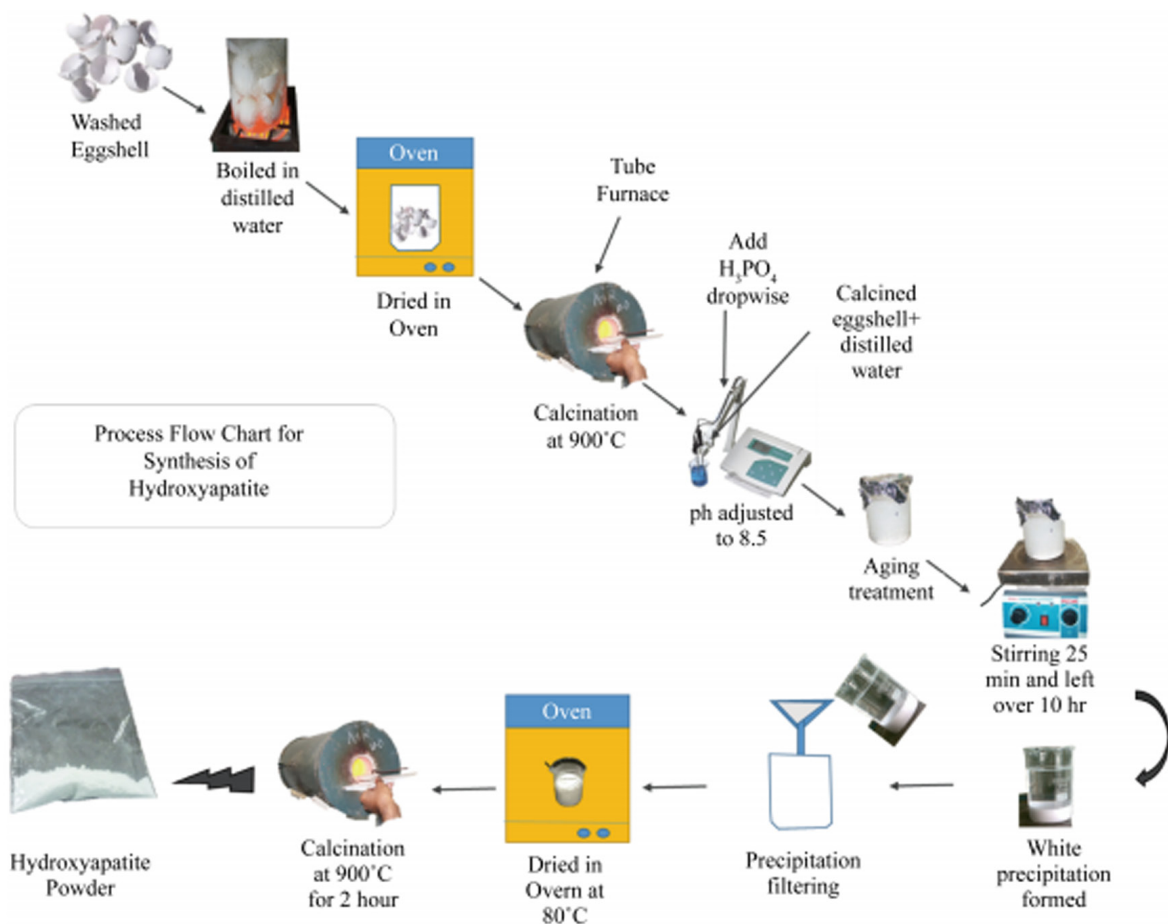
proses, gumpalan kristal putih dapat ditemukan di dalam wadah. Bagan proses lengkap terdapat pada Gambar 3.²⁵

Metode lain adalah penggunaan iradiasi gelombang mikro sederhana dan cepat yang membutuhkan bantuan agen *chelating* yang disebut ethylene diamine tetra asetat (EDTA). Hal ini merupakan proses tidak langsung di mana persiapan HA biasanya didahului oleh persiapan calcium precursor dari cangkang telur sebagai langkah pertama. HA yang dihasilkan oleh metode ini memiliki kemampuan sinterabilitas dan stabilitas yang lebih tinggi pada suhu tinggi dengan morfologi, stoikiometri, dan adhesi sel osteoblas yang lebih baik. Metode ini juga telah membuktikan bahwa cangkang telur dapat menjadi sumber kalsium yang menjanjikan untuk mempersiapkan nanokristalin HA yang dibutuhkan dalam pembentukan tulang. Puncak difraksi sinar-X yang dihasilkan oleh metode ini menunjukkan pembentukan fase HA murni.²⁶

Metode Aktifasi Mekanokemikal

Metode ini telah dilaporkan melibatkan penggunaan dua proses aktivasi *mechanochemical* yaitu *attrition milling* dan *ball milling*. Reaksi *mechanochemical* memasok jumlah gugus hidroksil yang cukup ke bubuk awal untuk membentuk satu fase HA.²⁷

Hamidi dkk (2017) melakukan sebuah studi komparatif dalam sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur dengan cara aktifasi mekanokemikal in dan berhasil mendapatkan serbuk HA dengan



Gambar 3. Bagan alur proses skematik untuk sintesis HA Powder oleh Eggshell dan H₃PO₄.²⁵

kristal dan ukuran partikel dalam kisaran 8–47 nm dan 250–550 nm. Diamati dari penelitian ini bahwa peningkatan kecepatan rotasi penggilingan telah meningkatkan kemurnian fase sampel EHA. Suhu pemanasan yang lebih tinggi dari sampel HA menghasilkan tingkat kristalinitas HA yang lebih tinggi dan munculnya β -tricalcium phosphate (β -TCP) sebagai fase sekunder.²⁷ Penelitian Yeong dkk, melaporkan bahwa melalui metode ini dapat diperoleh HA fase tunggal dengan *crystallinity* yang tinggi dengan > 20 jam aktivasi mekanis. Hasilnya bubuk HA menunjukkan ukuran partikel rata-rata ~25 nm. Selain itu, peningkatan tingkat aktivasi meningkatkan pertumbuhan kristalit HA. Ini menunjukkan bahwa nanokristalin dari fasa HA telah terbentuk sebagai hasil dari aktivasi mekanik. Metode ini relatif sederhana, dengan biaya lebih murah, dan telah direkomendasikan untuk produksi massal HA kristal tinggi.²⁷

PEMBAHASAN

Hidroksiapatit (HA) sebagai *bone graft* memiliki komposisi kimia yang hampir mirip dengan tulang asli. HA berfungsi sebagai osteo konduktif dan osteo induktif. HA memiliki karakteristik *biocompatible* dan *bioresorbable*. Penggunaan *bone graft* untuk menggantikan struktur tulang yang hilang atau rusak karena defek setelah trauma atau penyakit periodontal diharapkan dapat meningkatkan proses penyembuhan luka dan menginduksi pembentukan tulang baru. Namun, permukaan tulang asli yang mengalami defek tidak secara langsung terlibat dalam proses penyembuhan luka.¹² Dalam proses ini, HA berperan penting dalam pembentukan *scaffold* dimana menjadi media perlekatan sel-sel punca pada defek tulang.⁴ *Scaffold* juga berperan sebagai matriks ekstraseluler awal yang akan diperlukan untuk membantu sel-sel dalam proses penyembuhan tulang.⁹

Ketika diaplikasikan, tulang yang baru terbentuk mengikat langsung ke HA melalui ikatan *carbonated calcium-deficient apatite layer* pada permukaan tulang-implant. Permukaan HA membantu pertumbuhan, diferensiasi dan adhesi sel *osteoblast* serta tulang yang baru dalam proses substitusi pada tulang asli. HA berfungsi sebagai media pengiriman bagi sitokin untuk mengikat dan memusatkan BMP pada tempat yang terlibat. HA juga menunjukkan sifat osteoinduktivitas.¹⁰ Osteoinduksi terjadi karena stimulasi sel-sel punca inang. HA membuat sel-sel punca berdiferensiasi menjadi *osteoblast* yang matur.^{4,10} Hal tersebut didukung oleh penelitian Jorg Neunzehn (2015) yang menyatakan bahwa kalsium karbonat dari cangkang telur menunjukkan efek yang menguntungkan pada aktivitas *osteoblast*. Aktifitas proliferasi sel, diferensiasi, aktivitas metabolik sel yang terdiferensiasi serta pelepasan kalsium dapat merangsang diferensiasi *osteoblast* sehingga merangsang regenerasi tulang.^{5,28} Beberapa penelitian menunjukkan bahwa osteoinduksi disebabkan oleh konsentrasi faktor pertumbuhan tulang pada sirkulasi cairan biologis. Penelitian lain menunjukkan bahwa geometri HA adalah parameter penting dalam terjadinya osteoinduksi. HA dalam struktur nano menyebabkan pembagian asimetris sel-sel punca menjadi *osteoblast*.¹⁰

Sebagai alternatif untuk bahan *bone graft*, cangkang telur telah digunakan dalam berbagai penelitian *in vivo*. Penelitian awal telah berfokus pada proses biologis dan biokompatibilitas HA serta kemampuannya untuk terikat pada tulang alami. Tidak ada efek toksisitas atau inflamasi yang terbukti dari HA Cangkang telur.⁵ Hidroksiapatit yang disintesis dari cangkang telur telah menunjukkan keunggulan dalam hal kekerasan dan kepadatan tulang.⁹ Penelitian dari Vivekannd S Kattimani (2013) menunjukkan bahwa pengukuran nilai densitas tulang yang diberi bone graft dari HA cangkang telur sama atau lebih tinggi dari tulang normal. Densitas tulang tetap stabil setelah penyembuhan tulang selesai.²⁸

KESIMPULAN

Pemanfaatanlimbahtelahberkontribusi dalam aspek kehidupan dalam penggunaannya sebagai bahan

baku dalam produksi *biobased*. Pemanfaatannya memiliki potensi mengurangi tingkat polusi dan efek lingkungan yang diberikan oleh ketergantungan pada produk kimia. Cangkang telur yang dianggap tidak berguna memiliki manfaat sebagai biomaterial dalam aplikasi biomedis. Cangkang telur merupakan sumber yang kaya kalsium seperti kalsium karbonat sebagai sumber hidroksiapatit yang sangat baik. Meskipun cangkang telur bukan sumber alami yang pertama untuk sintesis hydroxyapatite, namun Hidroksiapatit dari cangkang telur telah menunjukkan sinterabilitas yang unggul bila dibandingkan dengan hidroksiapatit dari sumber lain. Hal ini dibuktikan dengan analisis kimia untuk melakukan fungsi serupa dengan hydroxyapatite. Hasil tersebut menunjukkan bahwa cangkang telur terbukti biokompatibel dengan kekuatan mekanik, serta dalam hal kekerasan, kepadatan, dan kultur sel dan penggabungannya ke dalam jaringan tulang. Dengan perkembangan ini, limbah pertanian cangkang telur telah memberikan kontribusi yang signifikan dalam produksi biomaterial yang digunakan dalam aplikasi medis. Penggunaannya akan membantu dalam memberikan solusi untuk masalah yang biasanya dihadapi sebagai akibat kerusakan dan cedera yang terkait dengan tulang dan gigi yang mengurangi biaya medis dan dampak lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hung NN. Basic knowledge of bone grafting. In: Zorzi A. Bone grafting. 2012.11–38.
2. Abhishek K, Jigyasa B, Sunny MB. Bone grafts in periodontal surgery: a review. 2014; (3):28–9.
3. Sheikh Z, Sima C, Glogauer M. Bone replacement materials and techniques used for achieving vertical alveolar bone augmentation. Materials (Basel). 2015; 8(6): 2953–93.
4. Hengky A. Peran hidroksiapatit sebagai bone graft dalam proses penyembuhan tulang. Stomatognatik J Kedokt Gigi. 2011; 8(2): 6–9.
5. Neunzehn J, Szuwart T, Wiesmann HP. Eggshells as natural calcium carbonate source in combination with hyaluronan as beneficial additives for bone graft materials, an in vitro study. Head Face Med. 2015; 11(1): 1–10.

6. Van der Stok J, Van Lieshout EMM, El-Massoudi Y, Van Kralingen GH, Patka P. Bone substitutes in the Netherlands - a systematic literature review. *Acta Biomater.* 2011; 7(2): 739–50. Available at <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706110003557>
7. Jangid MR, Rakhewar PS, Nayyar AS, Cholepatil A, Chhabra P. Bone grafts and bone graft substitutes in periodontal regeneration: a review. *Int J Curr Res Med Sci.* 2016; 2(8): 1–7. Available at <http://s-o-i.org/1.15/ijcrms-2016-2-8-1>
8. Takey N, Carranza K. *Clinical periodontology.* 2006.
9. Abdulrahman I, Tijani HI, Mohammed BA, Saidu H, Yusuf H, Jibrin MN, et al. From garbage to biomaterials : an overview on egg shell based hydroxyapatite. *J Mater.* 2014; 2014: 6.
10. Yasmin AR, Kalyani D, Chennai AU. Naturally derived porous hydroxyapatite / polymer biocomposite of cuttlebone and eggshell for dental and orthopedic applications. *Int J Res Appl Sci Eng Technol.* 2015; 3(6): 471–7.
11. Sulistyowati E, Sampe S. Pembuatan hidroksi apatit dari kulit telur. 2012; 1–5.
12. Shenoy R, Pillai A. Biology of fracture healing - an overview. 2017; 5(2): 48–52. Available at <https://www.boa.ac.uk/wp-content/uploads/2017/05/Biology-of-fracture-healing-an-overview-References.pdf>
13. Sathyendra V, Darowish M. Basic science of bone healing. *Hand Clin.* 2013; 29(4): 473–81. Available at <http://dx.doi.org/10.1016/j.hcl.2013.08.002>
14. Shantz J, Marcucio R, Kim H, Miclau III T. Bone and cartilage healing. *Fract Adults.* 2015; 109–25. Available at <http://freecontent.lww.com/wp-content/uploads/2015/03/Tornetta-Ch4-Bone-and-Cartilage-Healing.pdf>
15. Pandit N, Pandit I. Autogenous bone grafts in periodontal practice: a literature review. *J Int Clin Dent Res Organ.* 2016; 8(1): 27. Available at <http://www.jicdro.org/text.asp?2016/8/1/27/176247>
16. Ahmad R, Kidwai SM, Shrivastav P, Singh A. Periodontal regeneration in clinical practice : a case report. 2016; 3(10): 55–8.
17. Balázsi K, Gergely G, Chae CH, Sim HY, Choi JY, Kim SG, et al. Biogenic hydroxyapatite from eggshell as bone formation material. *Eur Cells Mater.* 2012; 24(1): 18.
18. Pignatello R. *Biomaterials Applications for Nanomedicine. Biomaterials Applications for Nanomedicine.* 2011. 1-470 p.
19. Chetty A, Wepener I, Marei MK, Kamary Y El, Moussa RM. Hydroxyapatite : Synthesis, properties and applications. *Nov Sci Publ.* 2012;91–132.
20. Kattimani VS, Kondaka S, Lingamaneni KP. Hydroxyapatite — Past , Present , and Future in Bone Regeneration. *Bone Tissue Regen Insights.* 2016;7:9–19.
21. Hamidi AA, Salimi MN, Yusoff AHM. Synthesis and characterization of eggshell-derived hydroxyapatite via mechanochemical method: a comparative study. *AIP Conf Proc.* 2017; 1835.
22. Oryan A, Bigham-Sadegh A, Monazzah S. Fish bone versus fish demineralized bone matrix (vertebra) effects on healing of experimental radial defect in rat model. *Comp Clin Path.* 2016; 25(5): 981–5.
23. Vohra A. Radiological measurement of bone density to assess the efficiency of bone graft. 2016; 3(2): 88–91.
24. Jo YY, Kim SG, Kwon KJ, Kweon HY, Chae WS, Yang WG, et al. Silk fibroin-alginate-hydroxyapatite composite particles in bone tissue engineering applications in vivo. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(4).
25. Hosseini B, Mirhadi SM, Mehrazin M, Yazdani M, Motamedi MRK. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite using eggshell and trimethyl phosphate. *Trauma Mon.* 2017; 22(5): 0–5.
26. Khandelwal H, Prakash S. Synthesis and characterization of hydroxyapatite powder by eggshell. *J Miner Mater Charact Eng.* 2016; 4: 119–26.

27. Hatim NA, Ahmad ZM. A novel method for conversion of eggshell hydroxyapatite particles to nano-size using microwave irradiation. 2013; 2(11): 71–6.
28. Kattimani VS, Chakravarthi PS, Kanumuru NR, Subbarao V V, Sidharthan A, Kumar TSS, et al. Eggshell derived hydroxyapatite as bone graft substitute in the healing of maxillary cystic bone defects: a preliminary report. *J Int oral Heal JIOH*. 2014; 6(3): 15–9. Available at <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4109239&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>