

## UJI DEGRADASI TULANG *CANCELLOUS XENOGRAF* STERIL DALAM LARUTAN SBF ( *SIMULATED BODY FLUID* ).

Nani Suryani

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, BATAN.

### ABSTRAK

**UJI DEGRADASI TULANG *CANCELLOUS XENOGRAF* STERIL DALAM LARUTAN SBF ( *SIMULATED BODY FLUID* ).** Telah dilakukan percobaan degradasi tulang xenograf liofilisasi radiasi di dalam larutan SBF. Sembilan (9) buah tulang xenograf berbentuk kubus ukuran 1 x 1 x 1 cm ditimbang beratnya, kemudian dimasukkan ke dalam sembilan buah botol sampel yang masing – masing berisi 25 ml larutan SBF, pH 7,40. Sampel diinkubasi dalam oven bersuhu 37°C selama 1 minggu, pH larutan diukur tiap hari. Setelah hari ketujuh sampel tulang dalam masing-masing botol diangkat, dicuci dengan aquadest steril dan dikeringkan pada oven suhu 60°C selama 24 jam, kemudian disimpan pada alat desikator dan ditimbang. Pekerjaan tersebut dilakukan berulang kali sampai didapatkan bobot tetap. Hasil menunjukkan bahwa tulang xenograf didegradasi oleh larutan SBF dalam satu minggu sebanyak 41,66 %.

**Kata kunci:** Degradasi, xenograf, *Simulated body Fluid* (SBF)

### ABSTRACT

**DEGRADATION OF STERILIZED CANCELLOUS BONE XENOGRAFT IN SBF SOLUTION.** Experiment of absorption of lyophilized bone xenograft cube sterile-irradiated in SBF has been carried out. Nine pieces of bone xenograft cube size 1 x 1 x 1 cm, were weighed, and then immersed into nine bottles which containing of 25 ml SBF pH 7.40. Incubation was done in an oven at temperature 37 °C for one week. The pH of each sample was measured every day. After the seventh day of experiment, the bone samples were removed from each bottle and washed with sterile distilled water and then dried in oven at 60 °C for 24 hours. The samples were stored in desiccator for one hour and then weighed. The work is done repeatedly until the sample weight is fixed. Results showed that the bone cube in the SBF solution absorbed by as much as 41.66% for a week.

**Key word:** Degradation, xenograft, *Simulated body Fluid* (SBF)

### PENDAHULUAN

Perkembangan penggunaan graf tulang untuk memperbaiki kerusakan tulang di bidang orthopedic, gigi dan mulut di Indonesia dimulai pada akhir tahun 1990. Graf



---

tulang yang sangat diperlukan tersebut masih import dengan harga yang mahal dan tidak terjangkau oleh masyarakat golongan ekonomi menengah – bawah. Pelayanan yang membutuhkan graf tulang tersebut hanya bisa dinikmati oleh masyarakat yang berpenghasilan tinggi saja<sup>1</sup>.

Berdasarkan pada survey rumah tangga tahun 2001(Perodontal), prevalensi penyakit gigi di Indonesia sebanyak 60% dari total populasi, dimana 12,3%nya berobat ke RS/dokter. Dari total yang berobat mengalami gigi rusak sebanyak 29.520.000 kasus dan 1.298.000(4.4%) dari kasus gigi yang rusak, harus dilakukan pencabutan gigi, dengan kata lain kebutuhan graf tulang untuk pengisi soket gigi pertahun mencapai 1 juta<sup>2</sup>, berdasarkan kebutuhan dalam bidang periodontal yang begitu banyak, sejak tahun 1992 Bank Jaringan Riset Batan mulai melakukan penelitian tulang allograf dan xenograf. Pada penelitian ini, bahan baku didapatkan dari sapi yang berasal dari Rumah Potong Hewan. Sapi yang digunakan adalah yang berumur di bawah 2 tahun dan bebas dari penyakit menular (penyakit kuku dan mulut)<sup>2</sup>

Persyaratan ideal suatu graf tulang adalah harus steril, tidak menimbulkan reaksi antigen-antibodi, tidak menyebabkan iritasi, resisten terhadap infeksi, menjadi satu dengan bagian tubuh yang diimplan, memiliki kekuatan mekanis yang sama atau mendekati kekuatan mekanis dengan jaringan yang diganti, siap digunakan, dan tersedia dalam berbagai ukuran. Bank Jaringan Riset Batan telah dapat menyediakan graf tulang (xenograf) dalam berbagai bentuk dan ukuran sesuai dengan yang dibutuhkan para dokter . Tulang yang telah diproses dikeringkan dengan cara liofilisasi atau proses sublimasi. Keuntungan metode liofilisasi antara lain: produknya dapat disimpan pada suhu kamar, dapat menghambat proses enzimatik dan tidak terjadi perubahan kimia dari jaringan biologi. Bila produk dari jaringan hasil liofilisasi tersebut direndam di dalam air maka sifat asli dari jaringan akan kembali ke keadaan semula<sup>3,5</sup>

Karena tulang yang diimplankan ke dalam tubuh harus bersifat biodegradable, maka penelitian ini bertujuan, untuk mendapatkan data dan informasi secara ilmiah tentang daya degradasi larutan Simulated Body Fluid (SBF) terhadap graf tulang secara *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

### 1. Bahan.

Graf tulang liofilisasi steril radiasi bentuk kubus (BX.Cub.1) produksi Bank Jaringan Riset Batan, berukuran 1 x 1 x 1 cm sebanyak 10 buah dengan berat lebih kurang hampir sama.. Larutan SBF terdiri dari campuran beberapa senyawa (garam) kimia sebagai berikut: NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, MgCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan (CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub> dan aquadest steril sebagai pelarut.

### 2. Peralatan.

Botol sampel, gunting, pinset, neraca analitis, oven (incubator) dan pH meter.

### 3. Tata Kerja

#### a. Pembuatan larutan SBF adalah sebagai berikut :

Timbang dengan neraca analitis :

- NaCl	: 6,547 gram .	- MgCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	: 0.305 gram
- NaHCO <sub>3</sub>	: 2,268 gram.	- CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	: 0.368 gram
- KCl	: 0,373 gram.	- Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: 0.071 gram
- Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	: 0,178 gram.	- (CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> CnH <sub>2</sub>	: 6.051 gram.

kemudian dilarutkan dengan aquadest steril hingga volume 1 liter, pH larutan ditepatkan dengan larutan HCl 0,1 N menjadi 7,40.

#### b. Uji in-vitro graf tulang didalam larutan SBF :

Sembilan buah botol yang telah disterilkan terlebih dahulu diisi dengan 25 ml larutan SBF, Kedalam botol yang telah berisi larutan SBF tersebut dimasukan graf tulang yang telah diketahui beratnya, masing-masing 1 graf untuk setiap botol dan digoyang-goyang agar graf tulang tenggelam. Botol yang berisi graf tulang di inkubasi pada oven bersuhu 37<sup>0</sup> C selama 1 minggu. Tiap 24 jam pH larutan diukur dengan pH meter. Setelah di inkubasi selama 7 hari, graf tulang yang masih tersisa dimasing-masing botol diangkat dan dibilas dengan aquadest steril, dan dikeringkan pada oven bersuhu 60<sup>0</sup> C selama 1 x 24 jam. Graf tulang yang telah dikeringkan disimpan pada alat desikator selama lebih kurang 1 jam, lalu beratnya ditimbang. Sampel dipanaskan kembali dalam oven bersuhu 60<sup>0</sup> C selama 3 jam dan dipindahkan kedalam desikator dan ditimbang kembali. Pekerjaan diatas dilakukan ber-ulang-ulang sampai didapatkan bobot tetap.



Persentase sampel yang terserap oleh larutan SBF dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% T = \frac{W_o - W_s}{W_o} \times 100 \%$$

dimana : % T = persentase sampel terserap

W<sub>o</sub> = berat sampel (awal).

W<sub>s</sub> = berat sisa

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari percobaan ini didapatkan data hasil persentase sampel terserap atau terdegradasi oleh larutan SBF. disajikan dalam Tabel 1.

**Tabel 1.** Data hasil percobaan absorpsi Bone xenograf Cub dalam larutan SBF.

<u>No. kode (sampel)</u>	<u>Berat sample Awal (gram)</u>	<u>Berat sample Sisa (gram)</u>	<u>Berat sample terserap (gram)</u>	<u>%sampel terdegradasi</u>	<u>% rata-rata sampel terdegradasi</u>
01-01	0,2185	0,1027	0,1158	52,99	
01-02	0,2170	0,1011	0,1159	53,41	52,95
01-03	0,2198	0,1045	0,1153	52,46	
02-01	0,2514	0,1432	0,1082	43,04	
02-02	0,2505	0,1296	0,1209	48,26	46,48
02-03	0,2484	0,1288	0,1196	48,14	
03-01	0,2290	0,1189	0,1101	48,07	
03-02	0,2265	0,1170	0,1095	48,34	47,10
03-03	0,2250	0,1240	0,1010	44,88	

Dari tiga sampel yang diuji, didapat rata-rata absorpsi tulang xenograf berbentuk kubus sebagai berikut: 52,97%, 46,48% dan 47,10%. Percobaan ini dilakukan selama satu minggu, dengan demikian daya absorpsi larutan SBF per harinya berkisar antara 6,6 % - 7,5%. Dari hasil pengamatan diperkirakan tulang akan terdegradasi semua selama 13-

15 hari. Perbedaan kelarutan tulang dalam SBF kemungkinan disebabkan oleh kerapatan pori dari setiap tulang, karena kerapatan pori tulang di masing-masing tempat berbeda, misalnya pori tulang paha akan berbeda dengan pori tulang panggul dalam satu ekor sapi.

**Tabel 2.** Data hasil pengukuran pH larutan selama 1 minggu percobaan.

No.kode sampel	pH awal larutan	Kondisi pH larutan selama masa inkubasi 1 minggu.				
		Hari ke 1	Hari ke 2	Hari ke 5	Hari ke 6	Hari ke 7
01-01	7,40	7,48	7,56	7,56	7,74	7,76
01-02	7,40	7,48	7,56	7,58	7,76	7,77
01-03	7,40	7,48	7,56	7,59	7,77	7,78
02-01	7,40	7,48	7,56	7,57	7,75	7,75
02-02	7,40	7,48	7,56	7,60	7,79	7,80
02-03	7,40	7,48	7,56	7,58	7,77	7,78
03-01	7,40	7,48	7,56	7,57	7,76	7,76
03-02	7,40	7,48	7,56	7,55	7,74	7,75
03-03	7,40	7,48	7,56	7,56	7,75	7,75

**Tabel 3.** pH rata-rata masing-masing sampel menurut kelompok nomor.

No.kode sampel	pH awal larutan	Kondisi pH larutan selama masa inkubasi 1 minggu.				
		Hari ke 1	Hari ke 2	Hari ke 5	Hari ke 6	Hari ke 7
01	7,40	7,48	7,56	7,58	7,76	7,77
02	7,40	7,48	7,56	7,58	7,76	7,77
03	7,40	7,48	7,56	7,59	7,77	7,78

Tabel 2 dan Tabel 3 adalah pH larutan SBF yang telah diisi graf tulang dan diinkubasi selama satu minggu. Dari Tabel tersebut terlihat bahwa sampai hari ke 6 terjadi



---

kenaikan pH yang tinggi, akan tetapi pH larutan pada hari ke 6 dan ke 7 tidak ada perbedaan. Pada hari ke 6 dan 7 tersebut terjadi kejenuhan dari senyawa yang melarut dalam larutan SBF.

### **KESIMPULAN**

Dari hasil percobaan ini dapat disimpulkan bahwa:

- Degradasi tulang xenograf selama satu minggu inkubasi dalam SBF adalah 48,84 %.
- Selama proses degradasi terjadi kenaikan pH larutan SBF dari 7,4 – 7,8

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

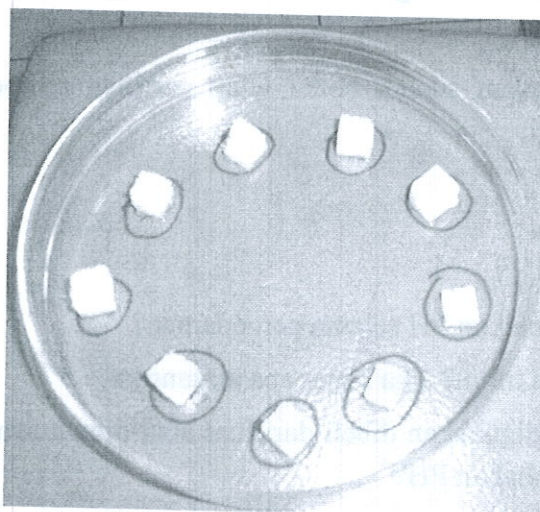
Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Bapak Ir.Basril Abbas yang telah membantu penulisan makalah ini

### **DAFTAR PUSTAKA.**

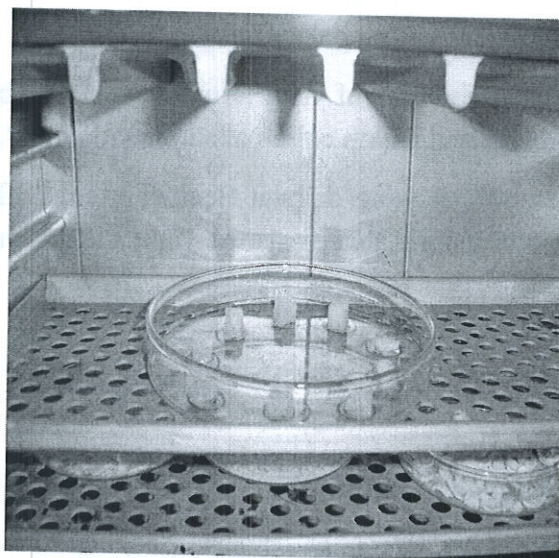
1. HILMY, N. Sterilisasi Radiasi Produk Biomaterial (allograf dan xenograf), Dibawakan pada "The 1<sup>st</sup> Indonesian Tissue Bank Scientific Meeting and Workshop on Biomaterial Application" Surabaya 22-23 September 2001.
2. HILMY, N. FEBRIDA, A., BASRIL, A. Validation of Radiation Sterization Dose for Lyophilized Amnion and Bone Grafts. *Cell and Tissue Banking* (2000) (1):143-148.
3. URIST, MF, LIETZE, A, and MAZUTANI, H.A Bovine Low Molecular Weight Bone Morphogenic Protein (BMP) Fraction. *Clin Orthop* (1982) 162:319-232.
4. AATB (American Association of Tissue Banks) Standards for Tissue Banking. Mclean, Virginia (2002).
5. EATB (European Association of Tissue Banks). General Standards for Tissue Banking. OBIG Transplant, Vienna (1994)



**Gambar 1.** Inkubasi xenograf dalam larutan SBF



**Gambar 2.** Xenograf setelah pencucian dari larutan SBF



**Gambar.3.** Pengeringan xenograf setelah perendaman



## DISKUSI

SRI SETIYAWATI

1. Kenapa pemantauannya hanya 1 minggu?
2. Berapa bobot tetap yang diharapkan atau ditetapkan?

NANI SURYANI

1. Sebenarnya penetapan dilakukan hingga semua graf terurai tetapi data yang paling baik adalah data pada saat degradasi selama 1 minggu juga karena larutan SBF agak mahal.
2. Bobot yang diharapkan adalah bobot tetap artinya sampel tersebut sudah tidak mengandung air lagi.

DEWI SEKAR

1. Mengapa terjadi kenaikan PH selama perendaman?
2. Mungkinkah PHnya turun? Jika benar apa alasannya/
3. Apakah SBF yang digunakan dibeli dari luar atau dibuat sendiri? Apakah jenis SBF mempengaruhi perubahan PH?

NANI SURYANI

1. Karena bahan graf ada yang terurai dalam larutan SBF
2. PH tidak mungkin turun karena graf yang terurai terdiri dari bahan mineral terutama Ca dan Fosfor yang bisa larut dalam cairan akan menaikkan PH.
3. SBF yang digunakan adalah yang di buat Sendiri . jenis SBF bisa mempengaruhi perubahan PH tergantung graf atau senyawa yang dilarutkan di dalamnya apakah bersifat asam atau basa.

TJAHYONO

1. Darimana diperoleh Allograft tersebut?
2. Apakah ada pendonor untuk kegiatan tersebut?



NANI SURYANI

1. Diperoleh dari Rumah sakit yang ada Orthopedinya misalnya Rumah sakit Siaga, Rumah sakit siaga, RS Mitra dan lain-lain.
2. Donor hidup sudah ada, tapi donor yang mendonorkan untuk jenajah belum ada.

SANTO

Ibu Nani, tadikan ditampilkan data tentang kenaikan PH pada saat pengamatan, apakah ada pengaruhnya terhadap kualitas sampel yang dihasilkan karena tadi Ibu bilang ada sebagian sampel yang larut?

NANI SURYANI

Yang diharapkan memang sampel terurai semuanya, karena sebagai bahan implan harus terurai semuanya agar tidak menjadi benda asing didalam tubuh.

TAVIP SS.AMD

Setelah pencucian tulang dengan Aquadest dilakukan pengeringan dengan suhu 60 C selama 24 jam. Bagaimana jika waktu pengeringan lebih atau kurang dari 24 jam. Apa yang terjadi terhadap tulang? Dan apakah menurut saudara dari hasil uji dikatakan berhasil?

NANI SURYANI

Pengeringan sampai didapatkan sampai bobot tetap artinya selama bahan tersebut belum bobot tetap berarti masih ada air yang belum menguap, artinya pengeringan dilakukan secara berulang.

SRI HARTINI

1. Apakah nilai manfaat dari PH ?
2. Dengan persentase terserap 46% itu menunjukkan baik atau tidak ?

Nani Suryani

---

NANI SURYANI

1. Nilai PH gunanya untuk melihat apakah ada graf yang terurai atau tidak, kalau tidak ada kenaikan PH berarti tidak ada senyawa yang larut, berarti tidak memenuhi syarat sebagai bahan implant.

2. Dikatakan baik karena bahan Terurai, tidak terlalu lama juga tidak terlalu cepat.

Dikatakan di dalam makalah bahwa graf akan terurai semua selama 3-4 minggu. Dengan waktu 3 minggu pertumbuhan tulang harus pada pasien sudah terjadi, jadi 46% amat baik..

1. UnOKO SUSANTO

Apakah selain pembuatan/modifikasi untuk renograf apakah PRPN dapat melakukan modifikasi untuk Gamma kamera karena alat ini sangat diperlukan di Rumah Sakit yang mempunyai pasilitas kedokteran Nuklir.

2. SRI HASTINI

Judul dan presentasi tidak sesuai, mohon penjelasan.

3. NANI SURYANI

Alasan pemulihan spi sebagai aman.

Jawaban:

NANI SURYANI

Digunakan tulang sapi karena produknya di Indonesia banyak dan Halal.