

EKSTRAKSI NANOKALSIUM TULANG IKAN TENGGIRI (*Scomberomorus sp.*) DENGAN ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION

Nanocalcium Extraction of Mackerel Bones (Scomberomorus Sp.) Using Ultrasound Assisted Extraction

Muhammad Usman Sihab, Dodyk Pranowo*, Imam Santoso

Departemen Teknologi Industri Pertanian – Fakultas Teknologi Pertanian –Universitas Brawijaya
Jl. Veteran – Malang 65145
Penulis Korespondensi, email : dodykpranowo@ub.ac.id

Disubmit : 1 Mei 2023

Direvisi : 10 Agustus 2023

Diterima : 25 Agustus 2023

ABSTRAK

Kalsium merupakan mineral esensial yang memiliki peranan penting di dalam tubuh untuk pembentukan tulang. Kalsium umumnya dikonsumsi dalam bentuk mikro kalsium yang menyebabkan penyerapan oleh tubuh hanya 50% sehingga sering menyebabkan defisiensi. Sumber kalsium yang aman digunakan umumnya dari tulang ikan, yang merupakan limbah tidak termanfaatkan, salah satunya adalah tulang ikan tenggiri. Pada penelitian ini digunakan *ultrasound-assisted extraction* (UAE) untuk mengekstrak nanokalsium. Kalsium berukuran nano lebih mudah diserap oleh tubuh dan dapat terasorpsi secara cepat dan sempurna. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis interaksi waktu eksitasi dan amplitudo terhadap karakteristik nanokalsium yang dihasilkan. Hasil penelitian menunjukkan solusi terbaik untuk memproduksi nanokalsium dengan waktu eksitasi 100,04 menit dan amplitudo 75,00% dengan prediksi nilai respons yakni rendemen 47,49%; derajat putih 85,47%; dan kadar kalsium 47,62%. Distribusi ukuran partikel nanokalsium dengan posisi pengukuran 4,65 mm dari dinding sel memiliki rata-rata ukuran 142,3 nm dan Pdl 0,226. Hasil analisis XRD menunjukkan puncak utama muncul pada sudut $2\theta = 31,73$. Selain itu, beberapa puncak muncul di 25,90; 28,99; 32,99; 34,18; 39,79; 43,97; 46,79; dan 49,62. Berdasarkan Persamaan Scherrer diperoleh ukuran rata-rata kristal 26,16 nm dan derajat kristalinitas 83,35%. Hasil analisis gugus fungsi yang terindikasi pada nanokalsium diantaranya adalah gugus fosfat (PO_4^{3-}), karbonat (CO_3^{2-}), dan gugus hidroksil (OH)

Kata kunci: Karakteristik Nanokalsium; Tulang Ikan Tenggiri; Nanokalsium; *Ultrasound Assisted Extraction*

ABSTRACT

Calcium is an essential mineral that has an important role in the body for bone formation. Calcium is generally consumed in the form of micro-calcium which causes only 50% absorption by the body, so it often causes deficiency. A natural source of calcium is generally from fish bones, which are unutilized waste such as mackerel fish bones. In this study, *ultrasound-assisted extraction* (UAE) was used to extract nanocalcium. Nano-sized calcium is more easily absorbed by the body and all its calcium can be absorbed quickly. The purpose of this study was to analyze the interaction of excitation time and amplitude on the characteristics of the resulting nanocalcium. The results showed the best solution for producing nanocalcium with an excitation time of 100.04 minutes and an amplitude of 75.00% with a predicted response value of 47.49%; white degree 85.47%; and calcium levels 47.62%. The size distribution of nanocalcium particles with a measurement position of 4.65mm from the cell wall has an average size of 142.3 nm and a Pdl of 0.226. The results of the XRD analysis show that the main peak appears at an angle of $2\theta = 31.73$. Apart from that, some tops emerge at 25.90; 28.99; 32.99; 34.18; 39.79; 43.97; 46.79; and

49.62. Based on the Scherrer equation, the average crystal size is 26.16 nm and the degree of crystallinity is 83.35%. The results of the analysis of functional groups indicated in nanocalcium including phosphate (PO_4^{3-}), carbonate (CO_3^{2-}), and hydroxyl (OH) groups.

Keywords : Characteristics of Nanocalcium; Mackerel Fish Bones; Nanocalcium; Ultrasound Assisted Extraction

PENDAHULUAN

Penelitian nanoteknologi saat ini telah berkembang terutama pada bidang industri pangan, seperti mengatasi keterbatasan efisiensi penyerapan komponen esensial tertentu. Kalsium merupakan mineral esensial yang umum dikonsumsi dalam bentuk mikro dan diserap tubuh secara tidak sempurna (biasanya hanya 50%) sehingga menyebabkan defisiensi (Aminingsih *et al*, 2018; Zulfadhillah *et al.*, 2018; Ranjan *et al*, 2019). Perkembangan teknologi pembentukan ukuran partikel mineral kalsium yang lebih kecil telah banyak dilakukan untuk meningkatkan persentase penyerapan kalsium dalam tubuh (Jirimali *et al.*, 2018; Mosaddegh dan Hassankhani, 2014; Ferraz *et al.*, 2018). *Ultrasound assisted extraction* (UAE) merupakan teknologi yang dapat mengekstrak nanokalsium. Metode ini efektif dan efisien tanpa menggunakan panas atau prinsip *non thermal* (Hartuti dan Supardan, 2013). Menurut Dey dan Rathod (2013), kelebihan UAE dalam pembuatan material nano adalah dapat menghasilkan ekstrak berkualitas tinggi dengan waktu relatif singkat. Tulang ikan merupakan limbah tidak termanfaatkan yang dapat menjadi potensi sumber kalsium yang aman untuk digunakan. Diantara tersebut, tulang ikan tenggiri berpotensi menjadi sumber kalsium karena kandungan mineral didalamnya mencapai 39%, fosfat 17%, karbonat 9,8% dan beberapa komponen anorganik lainnya (Rohmah *et al.*, 2019).

Indonesia sebagai negara maritim menempati peringkat kedua produsen hasil perikanan terbanyak setelah Republik Rakyat Tiongkok (RRT) dengan total produksi 14,8 juta ton ikan (FAO, 2020). Pada tahun 2022, Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) mengungkapkan bahwa potensi ikan tangkap Indonesia mencapai 12,01 juta ton berdasarkan kajian estimasi potensi sumber daya ikan. Potensi hasil perikanan tersebut memberikan peluang perkembangan industri pengolahan

perikanan dan menyisakan hasil samping (limbah) berupa tulang, kulit, sirip, kepala, sisik, jeroan, maupun cairan (Atma, 2016). Limbah tersebut diperkirakan memiliki proporsi sekitar 30-40% dari total berat ikan yang terdiri dari bagian kepala (12%), tulang (11,7%), sirip (3,4%), kulit (4%), duri (2%), dan isi perut/jeroan (4,8%) (Grasela *et al.*, 2022). Keberadaan limbah tulang dan kepala ikan menjadi potensi untuk dimanfaatkan sebagai sumber kalsium melalui ekstraksi.

Metode ekstraksi pada umumnya digunakan larutan basa seperti NaOH (Lakahena *et al.*, 2014; Sufiani *et al.*, 2022), larutan asam seperti HCL (Lakahena *et al.*, 2014) dan metode kalsinasi (Viyata dan Suptijah, 2018). Pemanfaatan nanokalsium dalam bidang pangan, pakan, dan kosmetik telah banyak berkembang sampai saat ini. Diantara penelitian tersebut adalah pemanfaatan nanokalsium tulang cakalang terhadap kualitas kerupuk cakalang (Hermain *et al.*, 2019), nanokalsium tulang nila sebagai bahan tambahan pada bubuk *flavor* rajungan (Wijayanti dan Dewi, 2020), tepung tulang sotong sebagai bahan tambahan pada ransum ayam pedaging (Widharto dan Marsudi, 2017), dan pemanfaatan tepung tulang sotong dalam pembuatan tabir surya (Lovianie, 2017). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik nanokalsium yang diekstraksi dengan *ultrasound-assisted extraction* dengan parameter waktu eksitasi dan amplitudo. Karakteristik nanokalsium yang dihasilkan dianalisa berdasarkan rendemen, derajat putih, kadar kalsium, proksimat, ukuran partikel. Selain itu, nanokalsium yang dihasilkan dilakukan uji morfologi dengan SEM-EDS, derajat kristal dan kristalinitas dengan XRD, dan gugus fungsi dengan FTIR.

METODE

Alat yang digunakan diantaranya adalah *ultrasonic homogenizer sonicator cell* model BSD-650W UCD-600, *cabinet dryer* MKS-FDH15, grinder MKS-ML200, oven Memmert UFE-400, *furnace* Lindberg/Blue M BF51732 C-1, neraca analitik ABJ 220-4NM, presto Maxim 4 liter, dan ayakan 100 mesh. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi nanokalsium adalah tulang ikan tenggiri (*Scomberomorus sp.*) yang diperoleh dari CV. Yamois Indoprima, natrium hidroksida (Merck), asam nitrat 65% (Merck), NH₄OH (Merck), asam klorida (Merck), phosphate-buffered saline, ammonium klorida (Merck), murexide, Na₂EDTA, ammonium molybdate (Merck), ammonium metavanadate (Merck), dan aquades.

Ekstraksi nanokalsium dari tulang ikan tenggiri dilakukan menggunakan metode *ultrasound-assisted extraction*. Untuk memperoleh hasil yang optimal dari hasil ekstraksi dioptimasi dengan metode *response surface methodology* (RSM) menggunakan software Design Expert 13. Kondisi ekstraksi yang diamati adalah variabel bebas waktu eksitasi dan amplitudo.

Tahapan Penelitian Pertama

Tahapan penelitian pertama dilakukan untuk memperoleh tepung tulang ikan. Tulang ikan tenggiri yang telah didapatkan dicuci dan direbus pada suhu 100 °C selama 30 menit. Selanjutnya tulang dibersihkan dari sisa daging yang menempel serta pengecilan ukuran untuk dibersihkan diantara ruas tulang. Tulang bersih kemudian di presto selama 2 jam untuk mengangkat lemak dan mendenaturasi protein yang terdapat didalamnya (Kusumaningrum dan Andi, 2017). Proses selanjutnya adalah tulang dicuci dan dilakukan pengeringan pada *cabinet dryer* pada suhu 80 °C selama 12 jam. Pada proses ini dilakukan analisa pengeringan dengan memastikan kadar air tulang sampai dengan dibawah 8%. Tulang yang telah kering kemudian dilakukan penepungan dengan mesin Grinder MKS-ML200 dengan kecepatan putaran 28.000 rpm. Hasil pada proses penepungan kemudian dilakukan pengayakan dengan ayakan ukuran 100 mesh. Tepung tulang ikan tenggiri dengan ukuran 100 mesh kemudian dilakukan analisa proksimat meliputi kadar air, abu, protein, dan lemak.

Tahapan Penelitian Kedua

Tahapan penelitian kedua merupakan proses ekstraksi nanokalsium dari tulang ikan tenggiri yang telah ditepungkan sebelumnya. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode *ultrasound-assisted extraction*. Sampel ditimbang 20 g dalam pelarut NaOH 1 mol 100 ml, dimasukkan dalam ruang ekstraksi dan diatur waktu eksitasi dan amplitudo. Selanjutnya, sampel didinginkan, difiltrasi, dan dinetralisasi menggunakan aquades hingga pH 7-8. Endapan dikeringkan pada oven pada suhu 50 °C selama 12 jam. Endapan yang telah dikeringkan dihaluskan menggunakan lumpang dan diayak menggunakan ayakan 200 mesh. Pengujian karakteristik penentuan hasil optimal meliputi rendemen, derajat putih diukur menggunakan *color reader* dan kadar kalsium menggunakan metode titrasi kompleksometri. Analisis proksimat meliputi kadar air, abu, protein, dan lemak. Ukuran partikel menggunakan *particle size analyzer* (Malvern Instrument Limited, 2015). Karakterisasi morfologi menggunakan SEM-EDS, derajat kristal, dan kristalinitas menggunakan XRD, dan gugus fungsi menggunakan FTIR pada area IR (4500-500 cm⁻¹), dengan resolusi 4 cm⁻¹.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Tepung Tulang

Tulang ikan tenggiri yang digunakan berasal dari ikan tenggiri segar dengan umur ikan ± 2 tahun yang dicirikan dengan panjang antara 70-100 cm. Kualitas tepung tulang tenggiri dilakukan pengujian proksimat yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Hasil Analisis Proksimat Tepung Tulang Ikan Tenggiri

Parameter	Kadar (%)	SNI 2014	Fianty <i>et al.</i> , 2021 (%)
Protein	13,63	<50,0	3,72
Lemak	3,34	>12,0	17,21
Air	3,52	>10,0	3,86
Abu	73,59	>35,0	69,84
Karbohidrat	5,92	>3,0	0,46

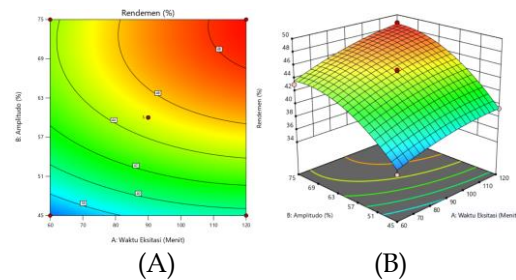
Protein merupakan salah satu senyawa organik yang penting sebagai zat pembangun dan pengatur bagi tubuh manusia. Kadar protein dalam tulang ikan tenggiri, tinggi atau rendahnya dipengaruhi oleh kandungan air yang hilang. Rendahnya kadar protein disebabkan karena pada proses pembuatan tepung tulang ikan dilakukan presto yang dapat mendenaturasi protein sehingga kadar protein menjadi rendah (Kusumaningrum dan Andi, 2017). Kadar protein pada tepung tulang ikan tenggiri hasil pengujian sebesar 13,63% lebih tinggi dari penelitian (Kusumaningrum dan Andi, 2017) sebesar 0,35% dan lebih rendah dari penelitian (Tangke *et al.*, 2020) 23,86%, dan penelitian (Rozi dan Ukhty, 2021) 15,11%. Hasil pengujian kadar lemak, sampel tepung tulang ikan tenggiri termasuk pada Mutu I. Hal tersebut sesuai dengan penelitian (Kusumaningrum dan Andi, 2017), bahwa proses perebusan dan pemrestoan dilakukan untuk mengangkat lemak yang terdapat pada tulang. Kadar lemak pada tepung tulang ikan tenggiri hasil pengujian sebesar 3,34% lebih tinggi dari penelitian (Kusumaningrum dan Andi, 2017), yaitu sebesar 0,63% dan lebih rendah dari penelitian (Tangke *et al.*, 2020) 0,96% dan penelitian (Rozi dan Ukhty, 2021) 9,32%.

Pada hasil pengujian kadar air, sampel tepung tulang ikan tenggiri telah sesuai dengan SNI dengan kadar air maksimal 10%. Proses pembuatan dan cara pengeringan tulang ikan tenggiri mempengaruhi tinggi rendahnya kadar air dalam bahan. Kadar air pada tepung tulang ikan tenggiri hasil pengujian sebesar 3,52% lebih tinggi dari penelitian (Kusumaningrum dan Andi, 2017) sebesar 2,91% dan lebih rendah dari penelitian (Tangke *et al.*, 2020) 11,34%, dan penelitian (Rozi dan Ukhty, 2021) 9,27%. Hasil pengujian kadar abu, sampel tepung tulang ikan tenggiri termasuk pada Mutu II. Jenis bahan baku tulang ikan yang digunakan mempengaruhi kadar abu yang terdapat didalamnya. Kadar abu pada tepung tulang ikan tenggiri hasil pengujian sebesar 73,59% lebih rendah dari penelitian (Kusumaningrum dan Andi, 2017) sebesar 86,40% dan lebih tinggi dari penelitian (Tangke *et al.*, 2020) 59,49% dan penelitian (Rozi dan Ukhty, 2021) 59,46%. Hasil pengujian kadar karbohidrat tepung tulang ikan tenggiri sebesar 5,92% lebih tinggi dari penelitian (Tangke *et al.*, 2020) 4,35% dan lebih

rendah dari penelitian (Rozi dan Ukhty, 2021) 10,63%.

Karakteristik Nanokalsium Hasil Ekstraksi Rendemen

Hasil analisis ragam (ANOVA) untuk respons rendemen disajikan pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2, desain model kuadratik menunjukkan sangat signifikan terhadap respons rendemen. Nilai $-p$ pada model menunjukkan kurang dari 0,05 (5%), yakni $<0,0001$ ($<0,01\%$). Nilai $-p$ yang kurang dari 0,05 dapat diartikan bahwa model ini telah sesuai dan dapat digunakan dalam pencarian nilai optimasi rendemen. Kesesuaian model yang signifikan didukung dengan ketidaksignifikan *lack of fit* di mana nilai *lack of fit* menunjukkan lebih besar dari 0,05 (5%), yakni 0,1031 (10,31%). Nilai ini dapat didefinisikan bahwa kekeliruan atau ketidaktepatan dalam model menunjukkan tidak signifikan. Berdasarkan kedua parameter, dapat diinterpretasikan bahwa model kuadratik terhadap kadar kalsium telah sesuai dengan seluruh nilai rancangan. Kontur plot dan kurva permukaan respons pada interaksi waktu eksitasi dan amplitudo disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kontur Plot (A) dan Kurva Permukaan Respons (B) Hubungan Waktu Eksitasi dan Amplitudo Terhadap Respons Rendemen

Berdasarkan kontur plot dan kurva permukaan respons (Gambar 1) dapat diketahui bahwa rendemen yang dihasilkan meningkat seiring dengan peningkatan waktu eksitasi dan amplitudo. Dapat diketahui bahwa dalam kontur terbentuk garis oval yang menandakan adanya hasil respons yang maksimal. Hal ini dikuatkan dengan adanya area berwarna kuning kemerahan yang menandakan nilai respons

yang maksimal. Kontur plot (A) menggambarkan bahwa nilai tengah dalam interaksi waktu eksitasi dan amplitudo berada di nilai 44,655 dimana nilai tersebut bukan nilai tertinggi dalam optimasi. Nilai rendemen tertinggi (48,67) berada pada kondisi waktu eksitasi 120 menit dan

amplitudo 75%. Kurva permukaan respons (B) juga memperlihatkan kurva yang membentuk parabola. Dapat dilihat bahwa terdapat kenaikan respons rendemen seiring peningkatan waktu eksitasi dan amplitudo.

Tabel 2. Analisis *Lack of Fit* Rendemen

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Mean Kuadrat	F-Hitung	Nilai P	
Model	209,14	5	41,83	127,52	<0,0001	<i>significant</i>
<i>Lack of Fit</i>	1,73	3	0,5776	4,10	0,1031	<i>not significant</i>

Tabel 3. Analisis *Lack of Fit* Derajat Putih

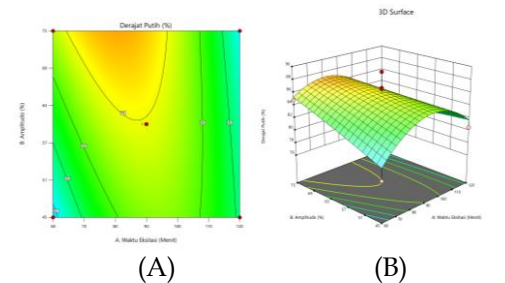
Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Mean Kuadrat	F-Hitung	Nilai P	
Model	143,23	5	28,65	5,68	0,0208	<i>significant</i>
<i>Lack of Fit</i>	10,41	3	3,47	0,5576	0,6705	<i>not significant</i>

Tabel 4. Analisis *Lack of Fit* Kadar Kalsium

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Mean Kuadrat	F-Hitung	Nilai P	
Model	48,56	5	9,71	4,04	0,0481	<i>significant</i>
<i>Lack of Fit</i>	13,44	3	4,48	5,28	0,0709	<i>not significant</i>

Derajat Putih

Hasil analisis ragam (ANOVA) untuk respons derajat putih disajikan pada Tabel 3. Berdasarkan Tabel 3, desain model kuadratik yang diterapkan sangat signifikan atau berpengaruh nyata terhadap respons derajat putih. Hal ini ditunjukkan pada nilai *-p* kurang dari 0,05 (5%), yakni 0,0208 (2,08%). Nilai *-p* yang kurang dari 0,05 menandakan bahwa model ini dapat digunakan dalam pencarian nilai optimasi derajat putih. Kesesuaian model yang signifikan didukung dengan ketidaksignifikan *lack of fit* di mana nilai *lack of fit* menunjukkan lebih besar dari 0,05 (5%), yakni 0,6705 (67,05%). Nilai ini dapat dijabarkan bahwa tidak ada kekeliruan atau ketidaktepatan dalam model. Berdasarkan kedua parameter, dapat diinterpretasikan bahwa model kuadratik terhadap respons derajat putih telah sesuai dengan seluruh nilai rancangan. Kontur plot dan kurva permukaan respons pada interaksi waktu eksitasi dan amplitudo disajikan pada Gambar 2.

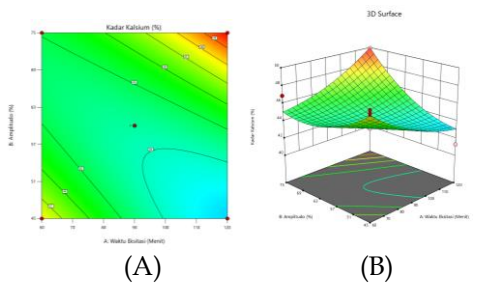


Gambar 2. Kontur Plot (A) dan Kurva Permukaan Respons (B) Hubungan Waktu Eksitasi dan Amplitudo Terhadap Respons Derajat Putih

Kadar Kalsium

Hasil analisis ragam (ANOVA) untuk respons kadar kalsium disajikan pada Tabel 4. Nilai *-p* pada model menunjukkan kurang dari 0,05 (5%), yakni 0,0481 (4,81%). Nilai *-p* yang kurang dari 0,05 dapat didefinisikan bahwa model ini dapat digunakan dalam pencarian nilai optimasi kadar kalsium. Kesesuaian model yang signifikan didukung dengan ketidaksignifikan *lack of fit* di mana nilai *lack of fit* menunjukkan lebih besar dari 0,05 (5%), yakni 0,0709 (7,09%). Nilai ini dapat didefinisikan bahwa tidak

ada kekeliruan atau ketidaktepatan dalam model. Berdasarkan kedua parameter, dapat diinterpretasikan bahwa model kuadratik terhadap kadar kalsium telah sesuai dengan seluruh nilai rancangan. Kontur plot dan kurva permukaan respons pada interaksi waktu eksitasi dan amplitudo disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kontur Plot (A) dan Kurva Permukaan Respons (B) Hubungan Waktu Eksitasi dan Amplitudo Terhadap Respons Kadar Kalsium

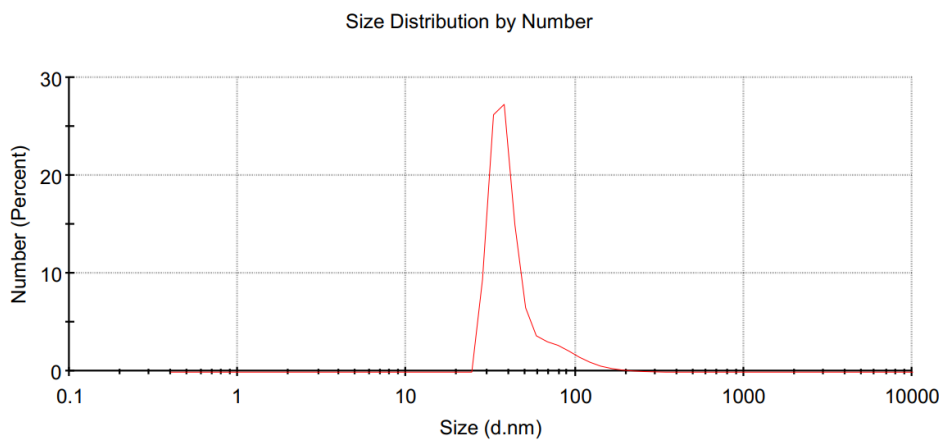
Pemilihan Perlakuan Terbaik

Data yang telah didapatkan melalui ANOVA dan nilai persamaan dari ketiga respons selanjutnya diolah agar mendapatkan kondisi optimal. Berdasarkan pengaturan *constraint* terhadap variabel dan respons, didapatkan nilai solusi terbaik, yakni waktu eksitasi 100,04 dan amplitudo 75,00 dengan prediksi nilai respons yakni rendemen 47,49%; derajat putih 85,47%; dan kadar kalsium 47,62%. Untuk melihat solusi

yang terbaik, diperlukan mempertimbangkan nilai *desirability*. *Desirability* merupakan parameter yang menentukan seberapa baik solusi optimal yang diberikan atau ketepatannya menghasilkan respon yang sesuai. Nilai *desirability* memiliki nilai batas antara 0 hingga 1 di mana semakin nilai *desirability* mendekati nilai 1, maka solusi mengindikasikan *the perfect case*, sedangkan nilai yang mendekati 0 meingindikasikan solusi harus dibuang. Nilai *desirability* pada solusi yang ditawarkan adalah 0,775 atau 77,5%. Nilai *desirability* tersebut relative tinggi sehingga sesuai dari yang diharapkan.

Analisis Ukuran Partikel Nanokalsium

Distribusi ukuran partikel ditentukan menggunakan Malven Zetasizer ZS DLS dengan hasil sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4. Rata-rata ukuran partikel nanokalsium merupakan nilai metode komulan ukuran terdispersi berdasarkan intensitasnya. Analisis komulan hanya memberikan dua nilai yaitu nilai rata-rata untuk ukuran dan parameter lebar yang dikenal sebagai Indeks Polidispersitas (PDI). Distribusi ukuran partikel nanokalsium dengan posisi pengukuran 4,65 mm dari dinding sel memiliki rata-rata ukuran 142,3 nm dan PDI 0,226.



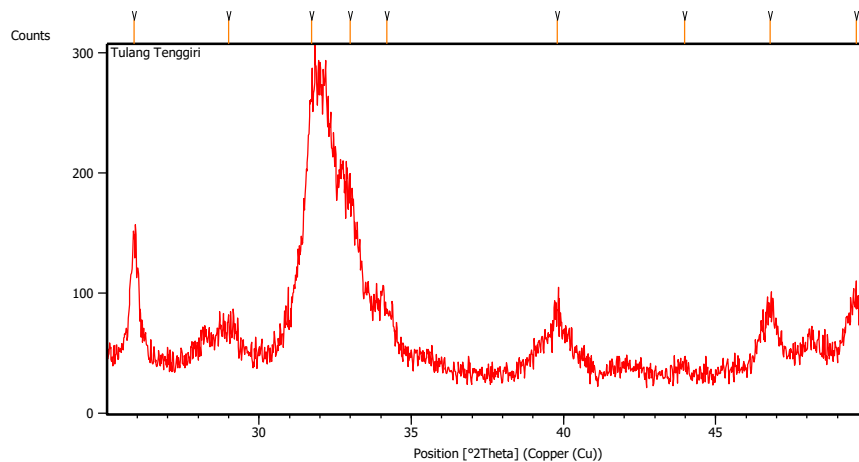
Gambar 4. Distribusi Ukuran Partikel Nanokalsium Tulang Ikan Tenggiri

Analisis Derajat Kristal dan Kristalinitas Nanokalsium

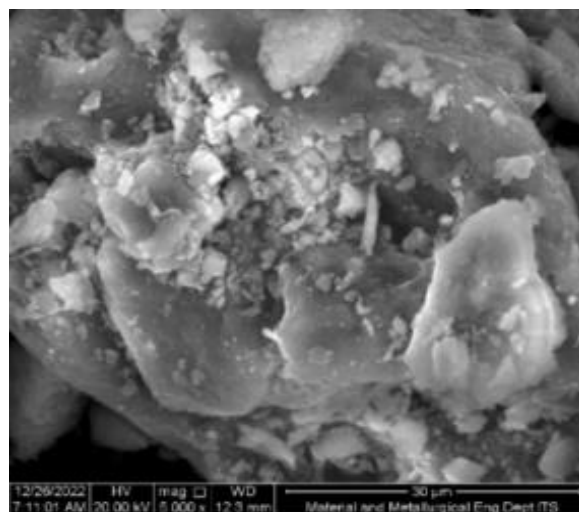
Data hasil analisa XRD merupakan grafik yang menghubungkan antara perubahan intensitas dari puncak-puncak difraktogram (sudut difraksi 2θ). Hasil analisis XRD nanokalsium ditunjukkan pada Gambar 5. Puncak utama muncul pada $2\theta = 31,73$. Selain itu, beberapa puncak muncul di 25,90; 28,99; 32,99; 34,18; 39,79; 43,97; 46,79; dan 49,62. Sebaran pucak kristal pada difraktogram hasil XRD menunjukkan bahwa nanokalsium yang dihasilkan memiliki struktur polikristalin (Habte *et al*, 2019; Khan *et al*, 2018).

Hasil analisa XRD sampel nanokalsium dapat menunjukkan ukuran

suatu sampel. Oleh karena itu, nanokalsium yang dihasilkan dapat ditentukan ukuran kristalnya menggunakan persamaan *Debyrscherrer* (Sumadiyasa dan Manuba, 2018; Masruroh *et al.*, 2013) dengan nilai panjang gelombang, intensitas, 2θ , dan *Full Width at Half Maximum* (FWHM) yang dihasilkan dari uji XRD. Berdasarkan persamaan *Scherrer* diperoleh ukuran rata-rata kristal 26,16 nm. Derajat kristalinitas nanokalsium tulang ikan tenggiri sebesar 83,35%. Menurut Sumadiyasa dan Manuba (2018); Logeswari *et al.*, 2013), penggunaan persamaan *Scherrer* memberikan ukuran kristal yang lebih akurat.



Gambar 5. Difraksi Nanokalsium Tulang Ikan Tenggiri



Gambar 6. Morfologi SEM Nanokalsium Tulang Ikan Tenggiri Perbesaran 5000X

Analisis Morfologi Nanokalsium

Hasil analisis morfologi permukaan sampel pada Gambar 6. Berdasarkan Gambar 6, menunjukkan permukaan nanokalsium tulang ikan tenggiri yang dihasilkan memiliki morfologi dan ukuran kristal yang tidak seragam yang berbentuk bongkahan. Morfologi nanokalsium yang dihasilkan menunjukkan perbedaan dengan nanokalsium penelitian Sunardi *et al.* (2020). Nanokalsium yang dihasilkan dengan proses sintesis menunjukkan morfologi permukaan yang berbentuk speris dengan ukuran kurang dari 20 nm (Jeong *et al.*, 2013). Hasil tersebut menunjukkan bahwa proses sintesis dapat menghasilkan struktur nanokalsium lebih baik dan lebih teratur (Abidi dan Murtaza, 2014; Prayitno *et al.*, 2020). Penggumpalan partikel-partikel nanokalsium seperti yang terlihat pada hasil morfologi permukaan sampel menunjukkan karakteristik polikristalin dari nanokalsium yang dihasilkan. Hasil tersebut juga didukung oleh hasil penelitian Mirghasi *et al.* (2014) yang mengungkapkan bahwa bentuk partikel nanokalsium oksida (CaO) adalah bulat. Selain itu, hasil analisis menggunakan XRD juga menguatkan hasil penelitian dengan nilai derajat kristalinitas tinggi (83,35%) dan ukuran kristal 26,16 nm. Berdasarkan data hasil uji SEM, dapat ditentukan distribusi ukuran partikel menggunakan software Image-J dengan pendekatan kurva Gauss sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Data Hasil Analisa Gauss

Parameter	Value	Standard Error
Y ₀	1,59	0,6424
X _c	80,55	0,4525
W	0,74	0,01319
A	220122,37	2521,48
Sigma	89,83	
Adj. R-Square		0,99972

Hasil analisis EDS nanokalsium oksida dari tulang ikan tenggiri ditunjukkan pada Gambar 7 dan Tabel 6. Gambar 7 menunjukkan puncak-puncak dengan intensitas tinggi keberadaan unsur Ca, P, O, dan unsur C. Kuantitas dalam Wt% masing-masing unsur ditunjukkan pada Tabel 3

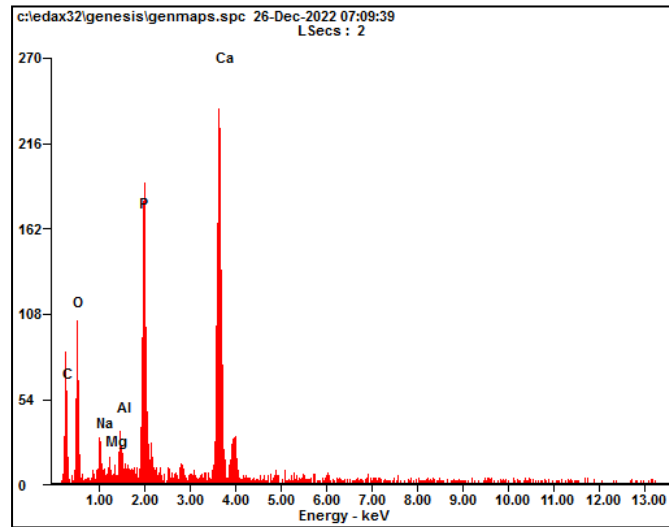
dengan dominasi unsur Ca (30,01%), P (13,84%), O (34,26%), dan C (15,96%).

Tabel 6. Hasil Uji Kandungan Unsur pada Nanokalsium Tulang Ikan Tenggiri

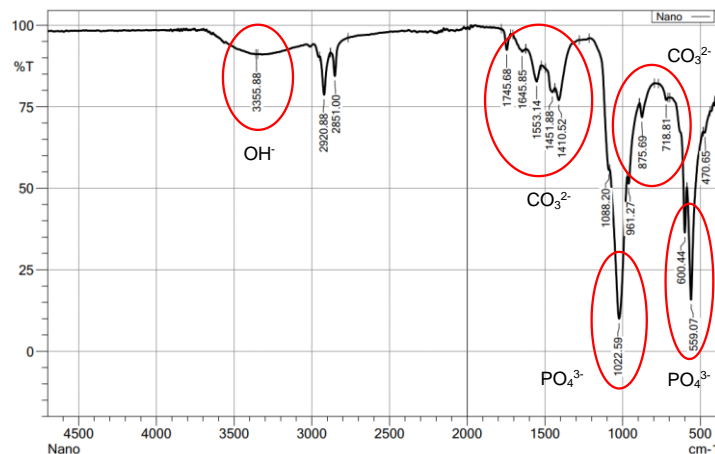
Unsur	Series	Wt%	At%
Ca	K-Series	30,01	15,26
P	K-Series	13,84	09,11
O	K-Series	34,26	43,65
C	K-Series	15,96	27,09

Analisis Spektrofotometri FTIR Nanokalsium

Gambar 8 menunjukkan spektrum FTIR dari CaO nanopartikel. Karakterisasi menggunakan FTIR dilakukan untuk mengidentifikasi kemungkinan biomolekul dan gugus fungsi yang terlibat dalam pembentukan sampel. Hasil analisa FTIR nanokalsium yang dihasilkan menunjukkan adanya indikasi gugus fosfat (PO₄³⁻), karbonat (CO₃²⁻) dan gugus hidroksil (OH). Apatit karbonat merupakan komponen anorganik dalam tulang dan gigi dan terbagi menjadi 2 tipe berdasarkan lokasi substitusinya. Karbonat yang menggantikan posisi gugus hidroksil (OH) disebut apatit karbonat tipe A (AKA). Karbonat yang menggantikan posisi gugus fosfat (PO₄³⁻) disebut karbonat tipe B (AKB) (Viyata dan Suptijah, 2018). Spektra pita absorpsi fosfat (PO₄³⁻) vibrasi simetris *stretching* terdapat pada bilangan gelombang 961,27 cm⁻¹, pita vibrasi simetris *bending* terdapat pada bilangan gelombang 470,65 cm⁻¹, adsorpsi fosfat vibrasi asimetris *stretching* tampak pada gelombang 1088,20 cm⁻¹ dan pita absorpsi fosfat vibrasi asimetris *bending* ditunjukkan pada bilangan gelombang 600,44 cm⁻¹ yang menunjukkan kehadiran kristal hidroksiapatit (HAp). Kehadiran pita absorpsi fosfat vibrasi asimetris *stretching* menunjukkan bahwa kalsium fosfat pada tulang ikan tenggiri hadir dalam bentuk campuran fasa amorfus dan fasa kristalin atau derajat kristalinitas kalsium fosfat (Viyata dan Suptijah, 2018). Apatit karbinat tipe B (AKB) terlihat pada intensitas pita absorpsi 875,69, 1410,52, dan 1451,88 cm⁻¹. Berdasarkan hasil analisis gugus hidroksil (OH-) ditunjukkan dengan pita absorpsi lebar di daerah sekitar 2851-2920 cm⁻¹ dan pada bilangan gelombang 3355,88 cm⁻¹.



Gambar 7. Spektrum EDS Nanokalsium Tulang Ikan Tenggiri



Gambar 8. Spektrum FTIR Nanokalsium Tulang Ikan Tenggiri

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa perlakuan waktu eksitasi dan amplitudo berpengaruh nyata terhadap rendemen, derajat putih dan kadar kalsium. Dapat diketahui melalui metode RSM dengan desain CCD berdasarkan pengaturan *constraint* terhadap variable dan respons, didapatkan nilai solusi terbaik, yakni waktu eksitasi 100,04 dan amplitudo 75,00 dengan prediksi nilai respons yakni rendemen 47,49%; derajat putih 85,47%; dan kadar kalsium 47,62%. Distribusi ukuran partikel nanokalsium dengan posisi

pengukuran 4,65 mm dari dinding sel memiliki rata-rata ukuran 142,3 nm dan PdI 0,226. Hasil analisis XRD menunjukkan puncak utama muncul pada sudut $2\theta = 31,73$. Selain itu, beberapa puncak muncul di 25,90; 28,99; 32,99; 34,18; 39,79; 43,97; 46,79; dan 49,62. Berdasarkan Persamaan *Scherrer* diperoleh ukuran rata-rata kristal 26,16 nm dan derajat kristalinitas 83,35%. Hasil analisis gugus fungsi yang terindikasi pada nanokalsium diantaranya adalah gugus fosfat (PO_4^{3-}), karbonat (CO_3^{2-}) dan gugus hidroksil (OH).

DAFTAR PUSTAKA

- Abidi, S, S, -A., Murtaza, -Q., 2014. Synthesis and characterization of nano-hydroxyapatite powder using wet chemical precipitation reaction. *Journal of Materials Science and Technology.* 30(4), 307-10. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2013.10.011>
- Aminingsih, -T., Rahayu, S, -Y., Yulianita, -Y., 2018. Formulation of instant granule containing nano calcium from the shell of freshwater mussels (*Anodonta woodiana*) for autism children. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology.* 1(1), 49-56. <https://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/article/view/16125>
- Atma, -Y., 2016. Pemanfaatan limbah ikan sebagai sumber alternatif produksi gelatin dan peptida bioaktif. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi.* Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Jakarta, Jakarta, pp. 1-6. <https://jurnal.umj.ac.id/index.php/semnastek/article/view/710/655>
- Dey, -S., Rathod, V, -K., 2013. Ultrasound Assisted Extraction of b-carotene from *Spirulina platensis*. *Ultrasonics-Sonochemistry.* 20(1), 271-276. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.05.010>
- Ferraz, -E., Gamelas, J, -A., Coroado, -J., Monteiro -C., Rocha, F., 2018. Eggshell waste to produce building lime: Calcium oxide reactivity, industrial, environmental and economic implications. *Material and Structures.* 51(115), 1-14. <https://doi.org/10.1617/s11527-018-1243-7>
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture: Capture Fisheries Production. Diakses tanggal 15 Juni 2023. <https://www.fao.org/3/ca9229en/ca9229en.pdf>
- Grasela, J, S, -A., Wanri, -S., Mery, K, K, -P., 2022. Potensi pemanfaatan limbah ikan untuk pembuatan pakan ikan lele. *Jurnal Aquatik.* 5(2), 10-15. <https://ejurnal.undana.ac.id/index.php/jaqu/article/view/8449/4225>
- Habte, -L., Shiferaw, -N., Mulatu, -D., Thenepalli, -T., Chilakala, -R., Ahn, J, -W., 2019. Synthesis of nano-calcium oxide from waste eggshell by sol-gel method. *Journal of Sustainability.* 11(11), 1-10. <https://doi.org/10.3390/su11113196>
- Hartuti, -S., Supardan, M, -D., 2013. Optimasi ekstraksi gelombang ultrasonik untuk produksi oleoresin jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) menggunakan response surface methodology (RSM). *Agritech.* 33(4), 415-423. <https://doi.org/10.22146/agritech.9537>
- Hermain, R, -M., Dali, F, -A., Husain, R., 2019. Physical analyze and hedonic quality of ilabulo cracker skipjack (*Katsuwonus pelamis*) fortified nano calcium bone. *IOP Coference Series: Earth and Environmental Science.* 278, 1-5. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/278/1/012031>
- Jeong, M, -S., Cho, H, -S., Park, S, -J., Song, K, -S., Ahn, K, -S., Cho, M, -H., Kim, J, -S., 2013. Physico-chemical characterization-based safety evaluation of nanocalcium. *Food and Chemical Toxicology.* 62, 308-317. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.08.024>
- Jirimali, H, -D., Chaudari, B, -C., Khanderay, J, -C., Joshi, S, -A., Singh, -V., Patil, A, -M., Gite, V, -V., 2018. Waste eggshell-derived calcium oxide and nanohydroxyapatite biomaterials for the preparation of LLDPE polymer nanocomposite and their thermomechanical study. *Polymer Plastics Technology and Engineering.* 57(8), 804-811. <https://doi.org/10.1080/03602559.2017.1354221>

- Khan, M, -D., Ahn, J, -W., Nam, -G., 2018. Environmental benign synthesis, characterization and mechanism studies of green calcium hydroxide nano-plates derived from waste oyster shells. *Journal of Environmental Management*. 223, 947-951. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.011>
- Kusumaningrum, -I., Andi, N, -A., 2017. Pengaruh lama pemrestoan dan frekuensi perebusan terhadap komposisi kimia tepung tulang ikan belida (*Chitala sp.*). *Prosiding Seminar Nasional ke-1 Tahun 2017 Hasil Riset dan Pengembangan Industri*. Balai Riset dan Standarisasi Industri Samarinda, Samarinda, pp. 180-187. <https://repository.unmul.ac.id/handle/123456789/3443>
- Lakahena, -V., Nur, F, -D., Syarief, R., Peranginangin, R., 2014. Karakterisasi fisikokimia nanokalsium hasil ekstraksi tulang ikan nila menggunakan larutan basa dan asam. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 25(1), 57-64. <https://doi.org/10.6066/jtip.2014.25.1.57>
- Logeswari, -P., Silambarasan, -S., Abraham, -J., 2013. Ecofriendly synthesis of silver nanoparticles from commercially available plant powders and their antibacterial properties. *Journal of Scientia Iranica*. 20(3), 1049-1054. <https://doi.org/10.1016/j.scient.2013.05.016>
- Lovianie, M, -M., 2017. Pembuatan lotion tabir surya tepung tulang sotong (*Sepia officinalis*) dengan perbandingan emulgator. *Jurnal Borneo Cendekia*. 1(2), 262-268. <http://dx.doi.org/10.54411/jbc.v1i2.169>
- Masruroh, Manggara, A, -B, Papilaka, -T, Tjahjanto, R, -T. 2013. Penentuan ukuran kristal (*crystallite size*) lapisan tipis PZT dengan metode XRD melalui pendekatan persamaan Deyve Scherrer. *Erudio Journal of Educational Innovation*. 1(2), 24-29. <http://dx.doi.org/10.18551/erudio.1-2.4>
- Mirghiasi, -Z., Bakhtiari, -F., Darezereshki, -E., Esmaeilzadeh, -E., 2014. Preparation and characterization of CaO nanoparticles from Ca(OH)₂ by direct thermal decomposition method. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 21(1), 113-117. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.jiec.2013.04.018>
- Mosaddegh, -E., Hassankhani, -A., 2014. Preparation and characterization of nano-cao based of eggshell waste: Novel and green catalytic approach to highly efficient synthesis of pyrano[4,3-b] pyrans. *Chinese Journal of Catalysis*. 35(3), 351-356. [https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(12\)60755-4](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(12)60755-4)
- Prayitno, A, -H., Prasetyo, -B., Sutirtoadi, -A., 2020. Synthesis and characteristics of nano calcium oxide from duck eggshells by precipitation method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 411, 1-6. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/411/1/012033>
- Ranjan, -R., Sawal, R, -K., Ranjan, -A., Patil, N, -V., 2019. Comparison of calcium absorption from nano-and micro-sized calcium salts using everted gut sac technique. *Indian Journal of Animal Science*. 89(3), 337-339. <https://doi.org/10.56093/ijans.v89i3.88101>
- Rohmah, -S., Darmanto, Y, -S., Rianingsih, -L., 2019. Penambahan nanokalsium dari jenis tulang ikan yang berbeda terhadap karakteristik beras analog dari tepung umbi garut (*Maranta arundinacea*) dan tepung *Glacilaria verrecosa*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*. 1(2), 1-11. <https://doi.org/10.14710/jitpi.2019.6741>
- Rozi, -A., Ukhty, -N., 2021. Karakteristik tepung tulang ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) sebagai sumber kalsium dengan perlakuan suhu pengeringan yang berbeda. *Jurnal Fishtech*. 10(1), 25-34. <http://ejournal.unsri.ac.id/index.php/fishtech>

- Sufiani, N, -L., Retno, A, -K., Slamet, -S., 2022. Pengaruh lama ekstraksi menggunakan NaOH terhadap karakteristik nanokalsium dari tulang sotong (*Sepia sp.*). *Journal of Fisheries and Marine Research*. 6(1), 130-141. <https://doi.org/10.21776/ub.jfmr.2022.006.01.15>
- Sumadiyasa, -M., Manuba, I, B, -S., 2018. Determining crystallite size using scherrer formula, williamson-hull plot, and particle size with SEM. *Journal of Buletin Fisika*. 19(1), 28-34. <http://dx.doi.org/10.24843/BF.2018.v19.i01.p06>
- Tangke, -U., Bafagih, -A., Daeng, R, -A., 2020. Teknik pembuatan tepung tulang ikan tuna pada kegiatan pengabdian PPUPIK rumah ikan. *Jurnal Dedikasi*. 22(1), 90-93. <https://doi.org/10.26858/dedikasi.v22i1.13829>
- Viyata, P, -W., Suptijah, -P., 2018. Karakteristik sifat fisikokimia nanokalsium ekstrak tulang ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(3), 385-395. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v21i3.24708>
- Widharto, -D., Marsudi, -W., 2017. Pengaruh penambahan tepung tulang sotong (*Cuttelfish bone*) dalam ransum terhadap konsumsi pakan, penambahan bobot badan, dan karkas ayam pedaging. *Agrisaintifika*. 1(2), 132-139. <https://doi.org/10.32585/ags.v1i2.49>
- Wijayanti, -I., Dewi, E, -N., 2020. The characteristics of nanocalcium flavor powder made from waste stewed water of swimming crab *Portunus pelagicus L.* *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 530, 1-8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/530/1/012013>
- Zulfadhillah, -S., Thaib, -A., Handayani, -L., 2018. Efektivitas penambahan nano CaO cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) ke dalam pakan komersial terhadap pertumbuhan dan frekuensi molting udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*). *Acta Aquatica: Sciences Journal*. 5(2), 69-74. <https://ojs.unimal.ac.id/index.php/acta-aquatica/article/view/811>