

PEMBUATAN MACROPOROUS MICROCARRIER BERBAHAN BAKU HYDROXYAPATITE MENGGUNAKAN KUNING TELUR SEBAGAI AGEN PEMBENTUK PORI

Dwi Yerlis Rahmi¹, Ahmad Fadli², Idral Amri²

¹Mahasiswa Jurusan Teknik Kimia, ²Dosen Jurusan Teknik Kimia
Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km 12,5 Pekanbaru 28293
dwiyerlisr@gmail.com

ABSTRACT

Porous hydroxyapatite is a crystalline molecule composed of calcium and phosphorus which can be used as a macroporous microcarrier. Macroporous microcarrier is one of tissue engineering technology that consist of support matrix and can be used as a cell culture medium in bioreactor. Protein foaming-starch consolidation method is choosed for manufacturing porous hydroxyapatite with egg yolk as a pore-forming agent. The purpose of this research is to study the influence of process variables i.e yolk addition (27 - 33 gr), sintering temperature (1200°C - 1300°C), and drying temperature (170°C - 190°C) toward porous hydroxyapatite properties such as compressive strenght, porosity and pore size made by protein foaming – starch consolidation methode. The experimental resulted porous hydroxyapatite with compressive strength in range of 4.55 - 11.05 MPa, porosity in rang of 25.95 - 58.74% and pore size in range of 15.08 - 33.56 μ m.

Keywords: compressive strength, pore size, porosity, porous ceramic

1. Pendahuluan

Pada tahun 2015 di Indonesia terdapat 30 juta kasus Hepatitis, 69 ribu kasus HIV, 123 kasus flu burung [Depkes, 2016]. Penyakit yang disebabkan virus dapat dicegah dengan pemberian vaksin. Vaksin diproduksi oleh PT Biofarma, yang juga satu – satunya produsen vaksin di Indonesia [Maharani, 2016]. Produksi vaksin yang membutuhkan waktu hingga 2 tahun menyebabkan kelangkaan vaksin.

Saat ini vaksin terdapat beberapa metode untuk memproduksi vaksin seperti vaksin menggunakan virus inaktif, vaksin subunit, vaksin DNA virus dan lain – lain. Namun untuk memproduksi vaksin dengan teknik tersebut diperlukan waktu yang lama serta medium yang banyak. Karena

itu mulai dikembangkanlah teknologi terbaru untuk memproduksi vaksin dengan mudah, sedikit medium, dan ekonomis yaitu microcarrier [Li dkk, 2015].

Microcarrier adalah matriks pendukung yang berfungsi sebagai media kulturisasi sel di dalam bioreaktor, pertama kali diperkenalkan oleh Van Wezel pada tahun 1967. Berdasarkan sumber materialnya *microcarrier* terbagi atas 2 kategori yaitu material sintetis dan biomaterial. Microcarrier berbahan biomaterial seperti hydroxyapatite bersifat bioactive, biocompatible dan mudah didapat sangat sesuai untuk perkembangan sel di dalam bioreaktor 1967 [Malda dan Frondoza, 2006].

Berdasarkan ukuran porinya microcarrier terbagi atas microporous dan macroporous. Macroporous microcarrier memiliki ukuran pori 30 – 400 μm yang sangat berperan penting dalam meningkatkan kapasitas pertumbuhan sel [GE Healthcare, 2013]. Pori – pori pada microcarrier dapat dibentuk dengan metode protein *foaming-starch consolidation* [Fadli dan Sopyan 2009].

Pada peneltian ini akan dipelajari pengaruh antar variabel proses yaitu penambahan kuning telur, temperatur drying dan temperatur sintering terhadap sifat fisik, kimia dan mekanik microcarrier berbahan baku hydroxyapatite menggunakan pengolahan data *Respon Surface Methodology* (RSM) serta karakteristik hydroxyapatite microcarrier yang dibandingkan dengan standar microcarrier komersil.

2. Metode Penelitian

2.1 Bahan Baku

Bahan baku penelitian meliputi bubuk hydroxyapatitr (Sigma Aldrich, Singapura), kuning telur yang telah diisolasi dari telur ayam lokal, Darvan 821A (Vanderbilt Company, USA), tepung sagu (*starch*) dan minyak goreng.

2.2 Peralatan yang digunakan

Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah *muffle furnace* (PPF-1300, Indonesia). Peralatan penunjang yang digunakan adalah *oven* (Cosmos CO 9919, Indonesia), *stirrer* (Heidolph, Jerman), *stainless steel mold*, jangka sorong, mistar dan gelas beker 250 ml.

2.3 Prosedur Penelitian

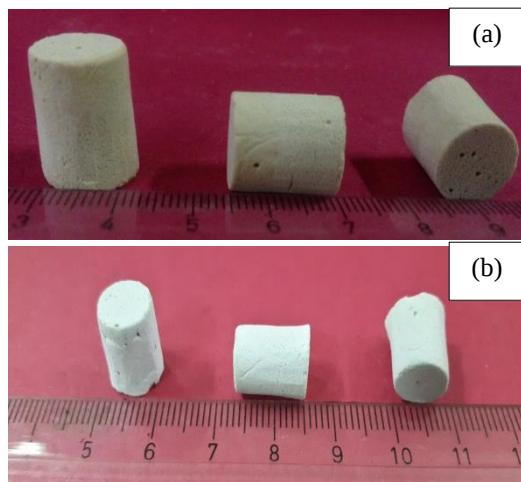
Penelitian ini dimulai dengan tahapan persiapan *slurry*. *Slurry* disiapkan dengan mencampur 24 gr bubuk hydroxyapatite, 27, 30 dan 33 gr kuning telur, 8 gr Darvan 821A dan 3 gr *starch* digelas beker. *Slurry* diaduk menggunakan *stirrer* pada kecepatan pengadukan 200 rpm selama 3 jam. Kemudian campuran tersebut dimasukkan kedalam cetakan dan dipanaskan di oven dengan suhu 170 °C, 180°C dan 190°C selama 1 jam untuk proses *foaming* dan *consolidation*. Sampel dilepas dari cetakan dan dibakar pada temperatur 600°C (laju pemanasan 10°C/menit) selama 2 jam untuk menghilangkan kuning telur sehingga terbentuk pori didalam *green bodies* dan diakhiri dengan *sintering* (laju pemansan 2°C/menit) pada suhu 1200°C, 1250°C dan 1300°C selama 2 jam.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Porous Bodies Properties

Pengaruh variabel proses seperti penambahan kuning telur, temperatur drying, temperatur sintering pada bodi keramik diamati pada tahap sebelum dan sesudah sintering. Sebelum sintering green bodies berwarna kuning hingga coklat, namun setelah tahap sintering berubah menjadi putih kebiruan.

Selain memperhatikan warna dan bentuk *porous bodies*, salah satu sifat fisik yang juga diukur adalah persentase penyusutan volume (% *shrinkage volume*). Penyusutan disebabkan karena terjadi pemadatan sampel pada tahap sintering sehingga volume *porous bodies* menurun. Penyusutan akan memperkecil ukuran pori sekaligus meningkatkan sifat mekanis dari *porous bodies* [Kang, 2005].



Gambar 1. *Porous Bodies* (a) sebelum dan (b) sesudah tahap sintering

Penyusutan volume yang terjadi pada sampel berikisar antara 60.95% - 71.04%. Penyusutan volume sampel terkecil terjadi pada penambahan *yolk* 27 gram, temperatur *drying* 190°C dan temperatur *sintering* 1200°C. Sedangkan penyusutan volume terbesar terjadi pada penambahan *yolk* 33 gram, temperatur *drying* 190°C dan temperatur *sintering* 1300°C. Penyusutan terjadi karena kuning telur hilang atau terlepas, dan partikel yang awalnya berikatan lemah saling berdekatan dan saling kontak. Pelepasan kuning telur akan membentuk pori pada dinding bodi keramik.

3.2 Desain dan Validasi Model

Pengolahan data pada penelitian ini menggunakan aplikasi *Design Expert v7.0*. Percobaan model orde dua digunakan pada penelitian ini untuk memperkirakan kelengkungan (*curvature*) dari respon. Tempuhan rancangan percobaan orde dua merupakan pengembangan model orde satu dengan penambahan tempuhan kuadratik masing-masing variabel dan interaksi antar variabel tersebut. Model

persamaan orde 2 dapat digunakan apabila, *p-value* pada uji kelengkungan berada dibawah tingkat probabilitas yang digunakan yaitu 5% atau 0.05 sehingga menunjukkan adanya kecendrungan variabel – variabel percobaan untuk membentuk kelengkungan.

Persamaan orde 2 yang akan digunakan dapat mengestimasi pengaruh kuadratik dari variabel percobaan. Kesesuaian orde 2 terhadap model dapat dilihat dari nilai koefisien determinasi (R^2) yang berada pada interval 0 hingga 1. Nilai R^2 mendekati 1 menunjukkan derajat korelasi yang tinggi antara hasil observasi terhadap model [Montgomery, 2013].

Selain itu penentuan tingkat kesesuaian data dengan model yang dihasilkan dapat dilakukan menggunakan nilai *lack of fit*. *P-value* dari *lack of fit* merupakan ukuran untuk ketidaktepatan model terhadap data observasi yang didapatkan pada probabilitas tertentu. Model akan dianggap tepat ketika nilai *p-value* dari *lack of fit* berada di atas tingkat probabilitas yang digunakan. *P-value* yang diinginkan dari sebuah hasil analisa statistika *lack of fit* adalah yang tidak signifikan. Rangkuman nilai R^2 , *adjusted R-square* dan *lack of fit* untuk setiap model dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai R^2 dan *lack of fit* untuk berbagai respon.

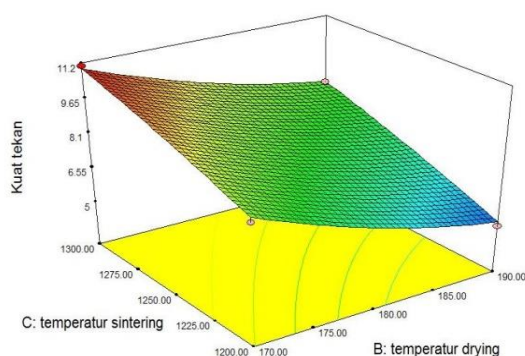
Respon	R^2	<i>p-value lack of fit</i>
Kuat tekan	0.9837	0.0956
Porositas	0.9902	0.0640
Ukuran pori	0.9810	0.0514

3.3 Pengaruh Kondisi Proses dan Interaksinya terhadap Nilai Respon

Pada penelitian ini terdapat tiga kondisi proses yang akan dipelajari yaitu penambahan kuning telur (x_1), temperatur drying (x_2) dan temperatur sintering (x_3). Berdasarkan persamaan kuadrat analisa multivariabel RSM (Pers. 1) variabel temperatur sintering memiliki pengaruh paling besar terhadap respon kuat tekan (Y_1), diikuti pengaruh temperatur drying dan komposisi yolk. Kondisi ini dapat dituliskan kedalam perbandingan $x_3 > x_2 > x_1$.

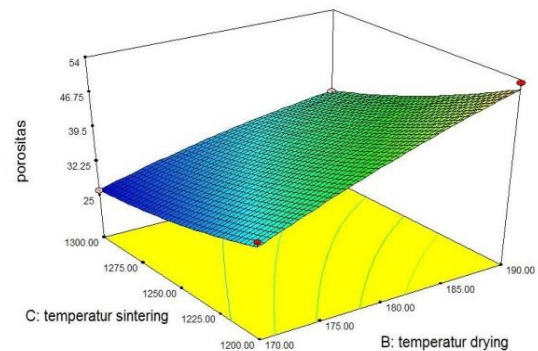
$$Y_1 = 7.21 - 0.85x_1 - 1.17x_2 + 1.18x_3 + 0.32x_1x_2 - 0.16x_1x_3 + 0.11x_2x_3 - 0.066x_{12} + 0.36x_{22} - 0.11x_{32}.....(1)$$

Kuat tekan terendah yang didapatkan pada komposisi yolk 27 gram dengan temperatur drying 190°C dan temperatur sintering 1200°C yaitu 5.09 MPa sedangkan kuat tekan tertinggi yang didapat adalah 11.05 MPa pada penambahan yolk 27 gram, temperatur drying 170°C dan temperatur sintering 1300°C.



Gambar 3. Grafik respon permukaan temperatur *sintering* dan temperatur drying terhadap respon nilai kuat tekan

Pemanasan pada temperatur tinggi akan menyebabkan jumlah butir partikel yang berikatan satu sama lain meningkat. Struktur kimia *polycrystalline solid* akan menjadi tidak stabil pada temperatur tinggi, sehingga menyebabkan terjadinya *boundary diffusion*. Hal ini menyebabkan permukaan butiran partikel akan menempel dan berikatan satu sama lain. Ikatan antar permukaan butir partikel tersebut akan menyebabkan kuat tekan dari keramik berpori yang dihasilkan meningkat [Kang, 2005]. Sementara kenaikan temperatur *drying* akan menurunkan kuat tekan keramik berpori yang dihasilkan. Temperatur *drying* yang terlalu rendah akan menurunkan kapasitas *foaming* dari kuning telur (*yolk*) sebagai pembentuk pori sehingga mengurangi pembentukan pori. Jumlah pori yang sedikit pada bodi keramik akan menurunkan porositas sehingga keramik yang dihasilkan memiliki kuat tekan yang tinggi [Fadli dan sopyan, 2009].



Gambar 4. Grafik respon permukaan temperatur *sintering* dan temperatur drying terhadap respon nilai porositas

Nilai porositas terendah yang didapatkan pada penelitian adalah 25.95% dengan komposisi yolk 27, temperatur drying 170°C dan temperatur *sintering*

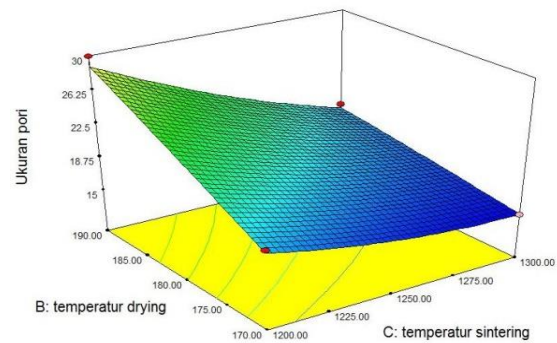
1300°C. Sedangkan porositas tertinggi yang didapat adalah 58.74% dengan komposisi *yolk* 33 gram, temperatur *drying* 190°C dan temperatur *sintering* 1200°C.

Pada proses *sintering* struktur partikel material akan tumbuh (*coarsening*) dan menyatu membentuk kesatuan massa (densifikasi). Laju densifikasi akan meningkat apabila temperatur semakin tinggi, tekanan semakin besar, ukuran partikel semakin kecil dan waktu *sintering* yang semakin lama. Peningkatan temperatur *sintering* akan menurunkan porositas karena material akan semakin padat. Material dengan nilai porositas yang rendah akan memiliki densitas yang lebih besar [Kang, 2005].

Temperatur *drying* akan mempengaruhi sifat fisik (porositas, densitas, kuat tekan dan penyusutan volume) dari keramik berpori. Suhu pengeringan yang rendah akan menurunkan kemampuan *foaming* dari *yolk* dan hanya berfungsi untuk menghilangkan komponen organik dari sampel. Sementara kenaikan temperatur *drying* akan meningkatkan kapasitas *foaming* dan memperbesar ukuran pori, meningkatkan persentase penyusutan volume dan porositas dari keramik berpori [Fadli dan Sopyan, 2009].

Selain itu proses *sintering* akan menyebabkan pori - pori yang merupakan sumber kekosongan (*void*) berpindah dari tengah ke luar permukaan pada saat proses *sintering* berlangsung, dan pada saat yang bersamaan partikel – partikel berpindah ke dalam bodi keramik. Kenaikan temperatur *sintering* akan menyebabkan penyusutan volume semakin meningkat karena partikel

semakin intensif berpindah. Tingginya penyusutan volume akan menyebabkan porositas menurun dan mengecilkan ukuran pori di bodi keramik [Sopyan dkk, 2012].



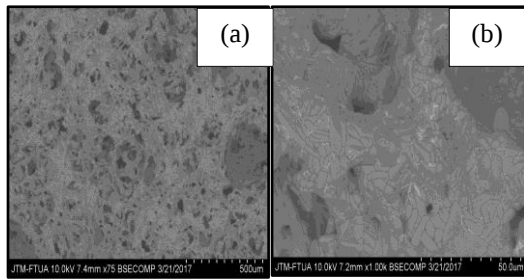
Gambar 5. Grafik respon permukaan temperatur *sintering* dan temperatur *drying* terhadap respon nilai ukuran pori

Ukuran pori terendah yang didapatkan adalah 15.08 μm pada komposisi *yolk* 27 gram, temperatur *drying* 170°C dan temperatur *sintering* 1300°C. Sedangkan ukuran pori tertinggi yang didapat adalah 33.56 μm pada penambahan *yolk* 33 gram, temperatur *drying* 190°C dan temperatur *sintering* 1200°C

3.4 Makrostruktur dan Mikrostruktur

Proses *sintering* akan merubah struktur makro dan mikro dari material. Variabel yang mempengaruhi makrostruktur dan mikrostruktur dari material pada proses *sintering* adalah temperatur, tekanan, waktu dan laju pemanasan. Kenaikan temperatur *sintering* akan meningkatkan densifikasi karena partikel keramik akan membentuk kesatuan massa yang lebih padat sehingga

membentuk ukuran pori yang semakin kecil seperti yang terlihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Makrostruktur (a) dan mikrostruktur (b) sampel.

4. Kesimpulan

Hydroxyapatite berpori sebagai *microcarrier* telah berhasil dibuat menggunakan metode *Protein Foaming-Starch Consolidation* dengan kondisi operasi komposisi *yolk* (27 – 33 gram), temperatur *drying* (170 – 190°C) dan temperatur *sintering* (1200 – 1300°C). Komposisi *yolk*, temperatur *drying* dan temperatur *sintering* masing-masing memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perubahan nilai respon seperti kuat tekan, porositas serta ukuran pori.

Peningkatan temperatur *sintering* akan memperbesar kuat tekan, mengecilkan derajat porositas dan ukuran pori. Sedangkan kenaikan temperatur *drying* dan penambahan kuning telur akan memperbesar ukuran pori dan porositas dan mempercil kuat tekan.

Daftar Pustaka

Departemen Kesehatan, 2016.

Fadli, A. dan Sopyan, I. (2009). Preparation of Porous Alumina for Biomedical Applications through Protein Foaming-Consolidation Method. *Material Research Innovation*. 13(3): 327-329.

Fadli, A. dan Sopyan I. (2011). Porous Ceramics with Controllable Properties Prepared by Protein Foaming-Consolidation Method. *Journal of Porous Material*. 18: 195 – 203.

GE Healthcare. (2013). Microcarrier Cell Culture Principles and Methods. Sweden : GE Healthcare Bio-Sciences.

Kang, S-J. L. (2005). Sintering: Densification, Grain Growth and Microstructure. Amsterdam: John Wiley and Sons.

Katritzky, A.R., Jain, R., Lomaka, A., Petrukhin, R., Maran, U. & Kalerson, M. (2001). Perspective on the Relationship between Melting Points and Chemical Structure. *Crystal Growth and Design*. 4: 261-265.

Li, B., Xin, W., Yu, W., Wenlong, G., Xueling, Y., Jiang, P., Quanyi, G., dan Shibi, L. (2015). Past, Present, and Future of Microcarrier Based Tissue Engineering. *Journal of Orthopedic Translation*. 3 :51 – 57.

Maharani, Dian. (2016). *Begini Alur Distribusi Vaksin Bio Farma ke Pemerintah dan Swasta*. Kompas, 17 Juli 2016.

Malda, J., dan Frondoza, C. G. (2006). Microcarriers in The Engineering of Cartilage and Bone. *Trends in Biotechnology*. 24: 299 – 304.

Montgomery, D.C. 1997. Design and Analysis of Experiments, 5rd Ed. New York: John Wiley and Sons

Pratama, T., Fadli, A. dan Helwani, Z. (2016). Pembuatan Keramik Berpori Berbahan Baku Tricalcium Phosphate dengan Metode Protein

- Foaming-Starch Consolidation.
Skripsi. Universitas Riau.
- Sopyan, I., Fadli, A. dan Mel, M. (2012).
Porous Alumina–Hydroxyapatite
Composites through Protein
Foaming–Consolidation Method.
*Journal of Mechanical Behaviour
Biomedical Material*. 8 : 86–98.