

Uji *In-Vitro* Hidroksiapatit Berpori Menggunakan Larutan *Simulated Body Fluid* (SBF) dengan Variasi Penambahan Pati Kentang

¹⁾Deska, ²⁾Ahmad Fadli, ³⁾Zultiniar

¹⁾Mahasiswa Program Studi Teknik Kimia ²⁾Dosen Jurusan Teknik Kimia

³⁾Dosen Jurusan Teknik Kimia

Fakultas Teknik Universitas Riau

Kampus Binawidya Jl. HR. Subrantas Km 12,5 Pekanbaru 28293

deska2704@student.unri.ac.id

ABSTRACT

One method of biological hydroxyapatite testing is in vitro, which is testing material outside the system or not directly on living things. Some ways include using cell culture media, test tubes or Simulated Body Fluid (SBF) solutions. The purpose of this study was to test in-vitro porous hydroxyapatite with variations in potato starch using a Simulated Body Fluid (SBF) solution. This research was conducted by mixing 4 and 6 grams of potato starch with 12 grams of HA, 35 mL aquadest. The slurry is stirred at 150 rpm for 3 hours. Then the slurry is put into a mold and dried in an oven at 80°C for 24 hours and 120°C for 8 hours. The dried green bodies are burned at 600°C and the sintering process at 1250°C. Furthermore porous hydroxyapatite was soaked using the SBF solution for 28 days. Samples were analyzed using XRD analysis and SEM analysis. Based on SEM analysis apatite layers were formed in all samples. Samples had an average pore diameter of 96.66 μm and 105.8 μm . Where the crystallinity value of the samples obtained by 73.75% and 77.19%. The addition of potato starch to the sample can enlarge pore diameter, facilitate ion exchange and increase sample resistance during the immersion process using SBF solution.

Keywords: *potato starch, hydroxyapatite, Simulated Body Fluid, in-vitro test*

1. Pendahuluan

Meningkatnya angka kecelakaan yang terjadi setiap tahunnya, baik itu ringan ataupun berat dapat menyebabkan kerusakan tulang. Kebutuhan masyarakat untuk memperbaiki jaringan tulang dan gigi cukup besar sehingga berbagai upaya dikembangkan untuk bahan alternatif, terjangkau oleh masyarakat serta dapat menggantikan struktur jaringan yang hilang tanpa menimbulkan efek negatif [Muntamah, 2011]. Salah satu metode implan tulang yang dikembangkan adalah metode *alloplast* yang menggunakan biomaterial sintetik sebagai implan [Reynold *et al*, 2010]. Biomaterial sintetik tersebut adalah hidroksiapatit [Dumitrescu, 2011].

Hidroksiapatit (selanjutnya disebut HA) merupakan senyawa apatit yang

memiliki rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. HA merupakan komponen anorganik utama pada jaringan keras biologis seperti tulang dan gigi [Qi *et al*, 2012]. HA memiliki sifat biokompatibilitas, osteokonduktivitas, dan afinitas kimia dan biologi yang sangat baik dengan jaringan tulang [Zhang *et al*, 2012]. Sifat tersebut menjadikan HA ideal digunakan sebagai komponen implan untuk tulang dan gigi [Maheshwari *et al*, 2014]. Hidroksiapatit juga banyak digunakan untuk memperbaiki dan merekonstruksi bagian tulang manusia yang rusak terutama sebagai tulang pengganti [Sadat-Shojai *et al*, 2012].

HA kemudian dibentuk menyerupai tulang berpori karena tulang yang berpori (*scaffold*) lebih *resorbable* dan lebih osteokonduktif dibandingkan HA *dense*. Selain itu, *scaffold* HA berpori memiliki luas

area permukaan yang besar. Pori–pori tersebut bermanfaat untuk adhesi sel jaringan biologis dan pertumbuhan fase tulang baru [Swain *et al*, 2015]. Keberadaan pori – pori pada *scaffold* HA diperlukan untuk pembentukan jaringan tulang untuk migrasi dan proliferasi osteoblas dan vaskularisasi. Selain itu, permukaan berpori dapat meningkatkan daya ikat mekanik antara implan dengan tulang sehingga memberikan stabilitas mekanik yang lebih besar [Swain *et al*, 2015].

Salah satu metode pengujian hidroksiapatit secara biologi adalah *in-vitro*, yaitu pengujian material diluar sistem atau bukan secara langsung terhadap makhluk hidup. Beberapa cara diantaranya dengan menggunakan hewan, sel manusia dan media SBF (*Simulated Body Fluid*). SBF telah banyak digunakan dalam pengaplikasian. Salah satunya, SBF telah digunakan secara luas untuk studi *in-vitro* bioaktifitas jaringan-jaringan keras buatan dari tubuh manusia (seperti tulang, gigi, *enamel* dan *dentin*) melalui pengujian kemampuan pembentukan apatit didalam fluida [Cziko, 2013].

2. Metodologi Penelitian

2.1 Bahan yang Digunakan

Bahan baku yang digunakan untuk pembentukan HA berpori meliputi bubuk HA (Lianyungang Kede Chemical Industry co. Ltd, China) , pati kentang (PT. Wadah Pangan Makmur) sebagai pembentuk pori, minyak goreng, dan akuades (Brataco id) sebagai pelarut.

Bahan baku yang digunakan dalam proses sintesis SBF (*Simulated Body Fluid*) adalah NaCl (Merck, Jerman), NaHCO₃ (Merck, Jerman), KCl (*potassium chloride*) (Merck, Jerman), K₂HPO₄·3H₂O (*di-potassium hydrogen phosphate trihydrate*) (Merck, Jerman), MgCl₂·6H₂O (*magnesium chloride hexahydrate*) (Merck, Jerman), CaCl₂ (*calcium chloride*) (Merck, Jerman), Na₂SO₄ (*sodium sulfate*) (Merck, Jerman), (HOCH₂)₃CNH₂ (*Tris-hydroxymethyl aminomethane*) (Merck, Jerman), 1 M HCl (Merck, Jerman) dan *steril water*.

2.2 Peralatan Utama dan Penunjang

Alat utama yang digunakan adalah oven, *furnace*, timbangan analitik, gelas piala, gelas ukur, *magnetic stirrer*, *vessel hydrothermal*, *stainless steel mold*, termometer, pH meter, dan *hot plate*. Sedangkan peralatan penunjang batang pengaduk, pipet tetes, corong, jangka sorong, mistar, pinset, aluminium foil, kertas saring, plastik wrap dan botol kaca.

2.3 Variabel Penelitian

Variabel yang dilakukan dalam penelitian ini terbagi atas variabel tetap dan variabel berubah. Variabel tetap meliputi kecepatan pengaduk 150 rpm, *Aquadest* sebanyak 35 mL. Hidroksiapatit sebanyak 12 gram sedangkan variabel berubah meliputi penambahan *starch* dari pati kentang sebanyak 4 dan 6 gram serta lama waktu perendaman menggunakan larutan SBF 7, 14, 21 dan 28 hari.

2.4 Prosedur Penelitian

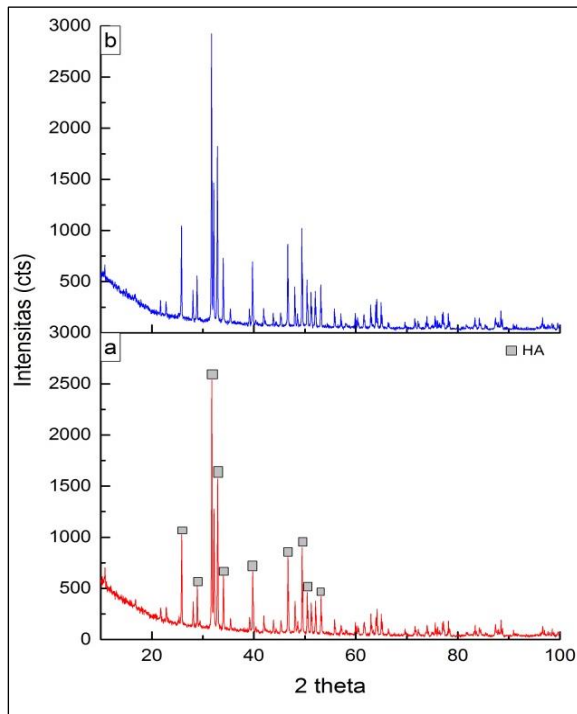
Prosedur penelitian ini dimulai pada tahap persiapan *slurry* dengan mencampurkan 12 gram HA, 35 ml akuades dan variasi pati (4, dan 6 gram). Selanjutnya diaduk dengan kecepatan 150 rpm selama 3 jam. Kemudian campuran dimasukkan ke dalam *mould* dikeringkan pada suhu 100°C selama 30 menit. Setelah itu *green bodies* dilepas dari *mould* dan dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam dan dilanjutkan pada suhu 120°C selama 8 jam. Sampel yang telah kering kemudian dibakar menggunakan *furnace* dengan suhu *burning* 600°C selama 1 jam dan diakhiri proses *sintering* pada suhu 1250°C selama 1 jam dengan laju kenaikan suhu 2°C/menit.

Larutan SBF dibuat berdasarkan standar pembuatan larutan SBF ISO/FDIS 23317 yang mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh kokubo [1991].

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Analisa XRD

Analisa XRD dilakukan pada sampel HA berpori 4 dan 6 gram sebelum dan setelah perendaman 28 hari.



Gambar 1. Pola difraksi HA berpori (a) 4 gram, (b) 6 gram setelah perendaman 28 hari

Gambar 1 menunjukkan tinggi puncak yang dihasilkan semakin meningkat dari 2538,45 cts menjadi 2925,50 cts sering dengan penambahan massa pati yang digunakan. Nilai puncak-puncak yang didapat pada sudut 2θ pada hkl (002), (211), (300) dan (202) untuk variasi penambahan pati kentang 4 gram

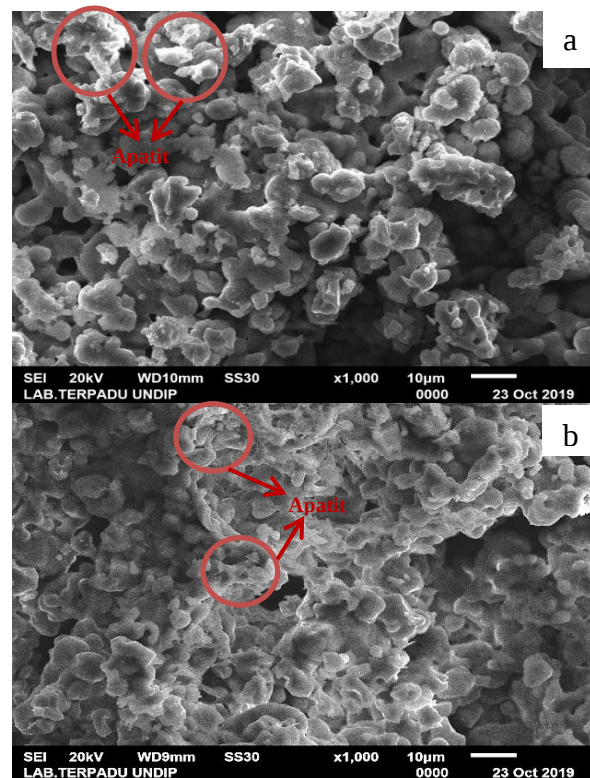
adalah $25,84^\circ$, $31,86^\circ$, $32,86^\circ$ dan $34,03^\circ$. Sedangkan penambahan 6 gram pati kentang adalah $25,79^\circ$, $31,66^\circ$, $32,84^\circ$ dan $34,02^\circ$. Kedua pola difraksi memiliki pola yang sama dengan data ICDD (*International Centre for Diffraction Data*) No. 01-072-1432 pada nilai hkl yang sama.

Nilai derajat kristanilitas kedua sampel adalah 73,75% dan 77,19%. Derajat kritasnilitas kedua sampel naik setelah dilakukan perendaman selama 28 hari. Hal ini dikarenakan perendaman dalam larutan SBF yang kaya akan ion-ion inorganik

seperti pada kandungan cairan tubuh menyebabkan lingkungan HA berpori akan kaya kalsium dan meningkatkan pembentukan inti apatit. Perendaman dengan larutan SBF juga menyebabkan susunan atom dalam sampel semakin teratur sehingga semakin banyak fasa kristal yang terbentuk [Ainunnisa, 2013].

3.2 Analisa SEM

SEM (*Scanning Electron Microscopy*) bertujuan untuk melihat morfologi sampel serta apatit yang terbentuk setelah sampel HA berpori diperendaman 28 hari.



Gambar 2. Analisa SEM dengan penambahan pati kentang (a) 4 gram dan (b) 6 gram setelah perendaman 28 hari

Hasil karakteristik morfologi sampel HA berpori yang dihasilkan pada penelitian ini memiliki ukuran diameter pori rata-rata berkisar 30-300 μm . Diameter rata-rata pada HA berpori pada penambahan pati kentang 4 gram sebesar 96,66 μm , sedangkan pada penambahan pati kentang 6 gram sebesar 105,8 μm . Berdasarkan data dapat disimpulkan bahwa semakin banyak pati kentang yang digunakan maka akan

memperbesar diameter pori dan memperbanyak pori pada sampel. Hal ini dikarenakan pada saat *burning* dan *sintering* pati kentang terbakar dan menghasilkan gas CO₂ dan H₂O. Sehingga pati meninggalkan jejak yang yaitu pori pada sampel.

Besarnya diameter pori yang dihasilkan juga dapat mempengaruhi pertumbuhan kristal apatit. Dimana semakin besar pori pada sampel maka akan mempermudah pertukaran ion Ca²⁺ dan PO₄³⁻ antara sampel dengan larutan SBF. Karena pertumbuhan kristal apatit membutuhkan ion Ca²⁺ dan PO₄³⁻ [Oudadesse *et al*, 2011].

4. Kesimpulan

Penambahan pati kentang pada sampel dapat memperbesar diameter pori, mempermudah pertukaran ion serta meningkatkan kistinitas sampel pada saat proses perendaman menggunakan larutan SBF. Dimana nilai kristinitas sampel diperoleh sebesar 73,75% dan 77,19% serta diameter rata-rata pori sebesar 96,66 µm dan 105,8 µm.

Daftar Pustaka

- Dumitrescu, A. L. (2011). Bone grafts and bone graft substitutes in periodontal therapy. *Chemicals in surgical periodontal therapy*, 73-144.
- Muntamah. (2011). *Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Limbah Kulit Kerang Darah (Anadaragranosa,sp)*, Tesis, Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Cziko, M., Bogya, E. S., Barabás, R., Bizo, L., & Stefan, R. (2013). Erratum to: "In vitro biological activity comparison of some hydroxyapatite-based composite materials using simulated body fluid". *Open Chemistry*, 11(11), 1874-1874.
- Reynolds, M. A., Aichelmann-Reidy, M. E., & Branch-Mays, G. L. (2010). Regeneration of periodontal tissue: bone replacement grafts. *Dental Clinics*, 54(1), 55-71.
- Qi, C., Zhu, Y. J., Lu, B. Q., Zhao, X. Y., Zhao, J., & Chen, F. (2012). Hydroxyapatite nanosheet-assembled porous hollow microspheres: DNA-templated hydrothermal synthesis, drug delivery and protein adsorption. *Journal of Materials Chemistry*, 22(42), 22642-22650.
- Zhang, J., Liu, G., Wu, Q., Zuo, J., Qin, Y., & Wang, J. (2012). Novel mesoporous hydroxyapatite/chitosan composite for bone repair. *Journal of Bionic Engineering*, 9(2), 243-251.
- Maheshwari, S. U., Samuel, V. K., & Nagiah, N. (2014). Fabrication and evaluation of (PVA/HAp/PCL) bilayer composites as potential scaffolds for bone tissue regeneration application. *Ceramics International*, 40(6), 8469-8477.
- Swain, S. K., Bhattacharyya, S., & Sarkar, D. (2015). Fabrication of porous hydroxyapatite scaffold via polyethylene glycol-polyvinyl alcohol hydrogel state. *Materials Research Bulletin*, 64, 257-261.
- Kokubo, T. (1991). Bioactive glass ceramics: properties and applications. *Biomaterials*, 12(2), 155-163.
- Ainunnisa, R. R. (2013). Variasi Waktu Perendaman Dalam Simulated Body Fluid Pada Komposisi Hidroksiapatit-Gelatin Sebagai Kandidat Bone Graft. Skripsi. Universitas Airlangga: Surabaya.
- Oudadesse H, Mostafa A, Bui X.V, Foad E, Kamal G, Legal Y, Cathelineau G. 2011. Physico-chemical assessment of biomimetic nano-hydroxyapatite/polymer matrix for use in bony surgery. *International Journal of Biology and Biomedical Engineering* 5:3.