

PENGARUH KONSENTRASI Ca^{2+} DAN $(PO_4)^{3-}$ PADA PEMBENTUKAN HIDROKSIAPATIT DI DALAM MATRIKS SELULOSA BAKTERIAL

Tri Windarti dan Yayuk Astuti
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro

ABSTRAK

Pembentukan hidroksiapatit $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ dalam matriks selulosa bakterial dilakukan dengan cara merendam selulosa bakterial dalam larutan $CaCl_2$ selama 18 jam, dilanjutkan dengan merendam dalam larutan KH_2PO_4 selama 18 jam pada pH 9. Perendaman tersebut dilakukan dengan berbagai variasi konsentrasi Ca^{2+} dan PO_4^{2-} . Kadar kalsium yang terdeposit dalam selulosa bakterial dianalisis dengan AAS. Kadar fosfat dianalisis dengan Stannous Chloride metode dan untuk mengetahui apakah kalsium fosfat yang terdeposit membentuk struktur hidroksiapatit, dilakukan analisis dengan difraksi sinar X. Difraktogram sinar X menunjukkan telah terbentuk struktur hidroksiapatit dalam matriks selulosa bakterial dan rasio ideal C/P hidroksiapatit sebesar 1,676 terjadi pada perbandingan $Ca^{2+} : PO_4^{3-} = 125 : 25$.

Kata kunci: hidroksiapatit, selulosa bakterial

THE INFLUENT OF Ca^{2+} AND $(PO_4)^{3-}$ CONCENTRATION TO THE BUILDING OF HYDROXYAPATITE IN BACTERIAL CELLULOSE MATRIX

ABSTRACT

Building of hydroxyapatite $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ in bacterial cellulose matrix was done by immersing bacterial cellulose in $CaCl_2$ solution for 18 hours, and continued by immersing in KH_2PO_4 solution for 18 hours in pH 9. The processes were done by variation of Ca^{2+} and PO_4^{2-} concentrations. Calcium contents that deposited in cellulose bacterial were analyzed by AAS. Phosphate contents were analyzed by Stannous Chloride method and X ray diffraction was conducted to know that calcium phosphate has build hydroxyapatite structure. Diffractogram showed that hydroxyapatite structure has been build in cellulose matrix and the ideal ratio of C/P hydroxyapatite as 1,676 get from $Ca^{2+} : PO_4^{3-} = 125 : 25$.

Keywords: hydroxyapatite, bacterial cellulose

PENDAHULUAN

Mineral Hidroksiapatit $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ sebagai komponen utama tulang merupakan kalsium fosfat yang paling stabil di bawah kondisi fisiologi normal (Sopyan, dkk, 2002). Material ini baik untuk transplantasi tulang karena dapat berikatan dengan tulang dan biokompatibel serta *osteoinductive*. Namun jika digunakan sendiri, hidroksiapatit tidak memiliki kekuatan mekanik (*mechanical strength*) dan tidak tahan terhadap tekanan (Hutchens, dkk, 2004). Untuk itu perlu dibuat suatu material yang mengandung hidroksiapatit dengan kekuatan mekanik setara

dengan kekuatan mekanik tulang serta tahan terhadap tekanan.

Material yang paling memungkinkan untuk memenuhi kriteria tersebut adalah suatu komposit. Material komposit ini harus tetap stabil pada saat kontak dengan cairan tubuh dan larutan berair lainnya (Ratner, 2003). Komposit adalah suatu material yang tersusun dari suatu matriks polimer yang di dalamnya tertanam komponen kedua (Ward, 2004).

Selulosa bakterial memiliki aktivitas permukaan yang tinggi karena terdiri atas serat-serat fibril, sehingga selulosa bakterial merupakan material

yang baik untuk matriks suatu komposit (Yamane dkk, 2004). Selulosa bakterial seperti dilaporkan oleh Yamanaka *et al*, 1989 modulus youngnya dapat mencapai 16-18 GPa bahkan dapat ditingkatkan sampai 30 GPa dengan pemurnian lebih lanjut. Dengan demikian selulosa bakterial memenuhi kriteria sebagai matriks hidroksiapatit karena modulus young tulang manusia biasanya ada pada rentang 12–24 GPa. Menurut Brown, 1983, porositas polimer selulosa bakterial memungkinkan untuk menjadi *template* bagi pembentukan komposit. Selulosa bakterial mengandung 99,3% air yang terhidrat secara alami yang memungkinkan baik molekul besar maupun kecil untuk masuk kedalam matriks tersebut. Polimer ini memiliki toksisitas yang rendah dan biokompatibel serta dapat dibentuk sesuai dengan bentuk dan ukuran yang diinginkan (Hutchens, 2004).

Metoda yang telah dikembangkan oleh Wojciech dan Yoshimura (1998) untuk pembuatan serbuk biokeramik hidroksiapatit adalah dengan metode pengendapan. Reaksi pengendapan ini dilakukan pada suhu tidak lebih dari 100°C, dan kontrol pH agar selalu lebih besar dari 9 karena jika kurang maka pada tahap akhir proses pembentukan hidroksiapatit akan terbentuk struktur apatit yang mengalami defisiensi kalsium dan pada tahap sintering suhu tinggi akan mengalami dekomposisi sehingga berubah menjadi trikalsiumfosfat.

Dengan mendepositkan Ca^{2+} dan $(PO_4)^{3-}$ pada pH 9 ke dalam matriks selulosa bakterial diharapkan akan terbentuk struktur hidroksiapatit yang semakin meningkat jumlahnya dengan meningkatnya konsentrasi Ca^{2+} dan $(PO_4)^{3-}$.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap, yaitu preparasi bahan, pemurnian selulosa bakterial, pengendapan hidroksiapatit, dan analisis hasil

Preparasi Bahan

Selulosa bakterial yang digunakan berasal dari nata de coco yang diperdagangkan dalam kemasan. Karena biasanya produk tersebut masih mengandung gula, maka dilakukan perendaman dalam akuades selama 2 hari untuk menghilangkan gula. Akuades diganti setiap 5 jam sekali. Ukuran selulosa bakterial dibuat seragam yaitu 1 cm³.

Pemurnian selulosa bakterial

Pemurnian selulosa bakterial dilakukan dengan merendam *nata de coco* dalam larutan NaOH 1M selama 2 jam yang diikuti dengan netralisasi dengan asam asetat. Selanjutnya direndam dalam akuades untuk menghilangkan garam yang terbentuk. Selulosa bakterial kemudian disimpan dalam etanol 20%.

Pengendapan hidroksiapatit

Pengendapan kalsium fosfat ke dalam selulosa bakterial dilakukan dengan cara merendam selulosa bakterial dalam larutan $CaCl_2$ selama 18 jam. Hasilnya kemudian direndam dalam larutan KH_2PO_4 selama 18 jam pada pH 9. Proses perendaman dilakukan pada temperatur tidak lebih dari 100°C. Perendaman tersebut dilakukan dengan berbagai variasi konsentrasi Ca^{2+} dan PO_4^{2-} .

Analisis hasil

Kadar kalsium di dalam selulosa dianalisis dengan AAS. Kadar fosfat dianalisis dengan

Stannous Chloride metode dan untuk mengetahui apakah kalsium fosfat yang terdeposit membentuk struktur hidroksiapatit, dilakukan analisis dengan difraksi sinar X.

HASIL DAN PEMBAHASAN

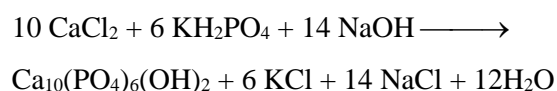
Salah satu sifat unik selulosa bakterial adalah membrannya sangat kuat dan dapat mengikat air sampai lebih dari 100 kali berat dirinya sendiri. Analisis dengan mikroskop elektron menunjukkan selulosa tersusun atas mikrofibril yang bergabung membentuk pita-pita. Masing-masing pita ini berukuran 1,6 x 5,8 nm yang terdiri atas sekitar 46 mikrofibril (Brown, 1983).

Bilmeyer (1984) menyatakan, *tensile strength* dan modulus polimer serat dapat ditingkatkan dengan meningkatkan derajat kristalinitasnya. Merserisasi (perendaman) selulosa bakterial dengan NaOH 1M selama 2 jam diharapkan dapat menghasilkan selulosa dengan dengan struktur yang makin rapat dan kekuatan tarik yang meningkat. Menurut Nishi *dkk* (1990), ada tiga faktor yang menentukan elastisitas lembaran selulosa, yaitu: (1) modulus elastisitas serat. Untuk lembaran yang tersusun dari serat yang panjang dan lurus, modulus lembaran secara eksperimen memiliki order 1/3 dari modulus seratnya. (2) derajat ikatan. Makin banyak derajat ikatan antar fibril akan meningkatkan modulus, (3) adanya lengkungan, kekusutan atau kerut dapat menurunkan modulus lembaran.

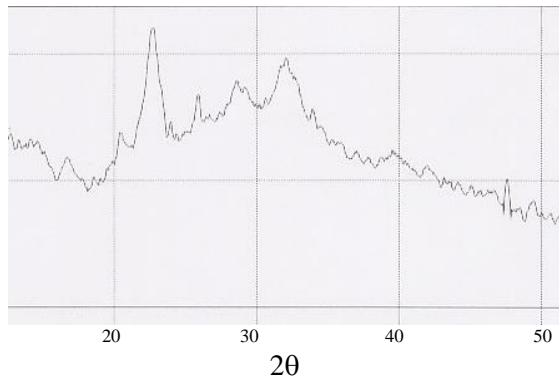
Larutan NaOH diperkirakan dapat mengusir komponen non selulosa dari dalam selulosa bakterial seperti protein dan asam nukleat (Nishi *dkk*, 1990). Hilangnya komponen non selulosa tersebut akan berakibat meningkatnya kontak langsung antar fibril selulosa sehingga

menghasilkan pembentukan ikatan hidrogen yang kuat baik inter maupun intra fibrilar. Perubahan ikatan molekul ini menyebabkan meningkatnya kekuatan mekanik selulosa bakterial.

Biokeramik hidroksiapatit adalah keramik berbasis kalsium fosfat dengan rumus kimia Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, yang merupakan paduan dua senyawa garam trikalsium fosfat dan kalsium hidroksida (Narasaraju, 1996). Dalam penelitian ini pendepositan hidroksiapatit dalam matrik selulosa bakterial dilakukan dengan cara merendam selulosa bakterial dalam larutan CaCl₂ selama 18 jam dan dilanjutkan dengan merendam selulosa bakterial tersebut dalam larutan KH₂PO₄ selama 18 jam pada pH 9 yang dibuat dengan menambahkan NaOH ke dalam larutan. Dengan variasi konsentrasi ion Ca²⁺ dan (PO₄)³⁻ diharapkan akan diketahui pembentukan hidroksiapatit di dalam matrik selulosa bakterial. Reaksi yang diharapkan terjadi adalah



Hasil deposit hidroksiapatit dalam matriks selulosa bakterial dianalisis dengan difraksi sinar X dan diperoleh difraktogram yang menyatakan bahwa telah terbentuk hidroksiapatit dalam matriks selulosa bakterial yang ditunjukkan dengan munculnya puncak pada daerah $2\theta = 30-35^\circ$ (Aizawa, 1999).



Gambar 1. difraktogram komposit hidroksiapatit-selulosa bakterial

Tabel 1. Berat Ca^{2+} yang terdeposit dalam selulosa bakterial pada berbagai konsentrasi Ca^{2+} setelah 18 jam perendaman

Konsentrasi Ca^{2+} dalam larutan (mM)	Ca^{2+} dalam Selulosa Bakterial (mg)
125	0,1019
100	0,1169
75	0,1302
50	0,0984
25	0,1000

Dari tabel di atas terlihat bahwa berat Ca^{2+} yang terdeposit tidak signifikan dengan tingginya konsentrasi larutan $CaCl_2$. Pada konsentrasi Ca^{2+} sebesar 75 mM diperoleh Ca^{2+} terbanyak yaitu 0,1302 mg. Hal ini mungkin dikarenakan mobilitas ion Ca^{2+} memasuki daerah antar fibril selulosa bakterial tidak hanya ditentukan oleh konsentrasi Ca^{2+} dalam larutan.

Tabel 2. Berat PO_4^{3-} yang terdeposit dalam selulosa bakterial setelah 18 jam perendaman

$Ca^{2+}: PO_4^{3-}$ (mM)	PO_4^{3-} dalam Selulosa Bakterial (mg)
125 : 25	0,1863
100 : 50	0,1969
75 : 75	9,2148
50 : 100	5,0306
25 : 125	7,2450

Banyaknya PO_4^{3-} yang terdeposit dalam selulosa bakterial dapat dilihat pada tabel di atas. Ternyata deposit PO_4^{3-} di dalam selulosa bakterial dipengaruhi oleh konsentrasi larutan

PO_4^{3-} yang digunakan untuk merendam selulosa bakterial. Pada perbandingan $Ca^{2+}:PO_4^{3-}$ sebesar 75:75 diperoleh berat PO_4^{3-} terbanyak yaitu 9,2148 mg.

Tabel 3. Perbandingan Ca/P

$Ca^{2+}: PO_4^{3-}$ (mM)	Ca (mg)	P(mg)	Ca/P
125 : 25	0,1019	0,0608	1,6760
100 : 50	0,1169	0,0642	1,8209
75 : 75	0,1302	3,0068	0,0433
50 : 100	0,0984	1,6415	0,0599
25 : 125	0,1000	2,3640	0,0423

Dengan persen berat ideal hidroksiapatit: 39,9% Ca, 18,5% P dan 3,38% OH, maka rasio ideal Ca/P hidroksiapatit adalah sebesar 1,67 (Chang, *et al*, 1992). Dari tabel perbandingan Ca/P yang terdeposit di dalam matriks selulosa bakterial terlihat bahwa pada perbandingan $Ca^{2+}:PO_4^{3-}$ sebesar 125:25 diperoleh rasio Ca/P sama dengan rasio ideal Ca/P hidroksiapatit. Rasio ini membesar pada perbandingan $Ca^{2+}:PO_4^{3-}$ sebesar 100:50 dan justru makin kecil pada konsentrasi Ca^{2+} yang makin kecil. Hal ini mungkin disebabkan karena terbentuk senyawaan fosfat lain selain hidroksiapatit.

KESIMPULAN

Telah terbentuk hidroksiapatit di dalam matriks selulosa bakterial. Rasio ideal C/P hidroksiapatit dalam matriks selulosa bakterial sebesar 1,676 terjadi pada perbandingan $Ca^{2+}: PO_4^{3-} = 125 : 25$.

DAFTAR PUSTAKA

- Aizawa, M., 1999, Characaterization of Hydroxyapatite Powders Prepared By Ultrasonic Spray-Pyrolysis Technique, *Journal of Material Science*, 34, p. 2865-2873.
- Bilmeyer, F. W., 1984, Textbook of Polymer Science, 3rd edition, John Wiley & sons, New York.

- Brown, Jr., 1983, Production of a Cellulose-Synthetic Polymer Composite Fiber, *United States Patent 4,378,431*, March 29
- Chang, R. W., Hansen, P., and Kraner, E. J., 1992, *Material Science and Technology (Comprehensive Treatment)*, 14.
- Hutchens, S. A., Woodward, J., Evans, B. R., and O'Neil, H. M., 2004, Composite material, *United States Patent 20040096509*, May 20
- Narasaraju, T. S. B., and Phebe, D. E, 1996, Some Physico-Chemical Aspect of Hidroksiapatite, *Journal of Material Science*, 31, p. 1-21.
- Nishi, Y, 1990, The Structure and Mechanical Properties of Sheets Prepared From Bacterial Cellulose, *Journal of Material Sciense* 25, p. 2997-3001.
- Ratner, M., Ratner, D., 2003, *Nanotechnology: a Gentle Introduction to the Next Big Idea*, Prentice hall PTR, New Jersey.
- Sopyan, I., Arianti, M., Alhamidi, A.A., 2002, Pengembangan Serbuk Hidroksiapatit untuk Aplikasi Medis: Karakterisasi Awal dengan FTIR dan XRD, *Prosiding Pertemuan Ilmiah IPTEK Bahan'02*, 22-23 Oktober 2002, Serpong.
- Ward, I. M., Sweeney, J., 2004, *An Introduction to the Mechanical Properties of Solid Polymers*, John Wiley and sons, England
- Wojciech, S and Yoshimura, M., 1998, Processing Properties of Hidroxyapatit Based- Biomaterials for Use as Hard Tissue Replacement Implants, *Journal of Material Science*, 13, p. 95-116
- Yamanaka, 1989, *J. Mat. Sci* 24, p. 3141-3145
- Yamane, C., Okajima, K., and Otsuka, M., 2004, Novel Cellulose-Type Material, *United States Patent 20040267006*, Desember 30