

PREPARASI NANOKRISTALIN HIDROKSIAPATIT UNTUK SCAFFOLD REKAYASA JARINGAN TULANG

Decky J. Indrani¹ dan Wisnu Ari Adi²

¹ Departemen Ilmu Material Kedokteran Gigi, FKG-UI
Jl. Salemba Raya No. 4, Jakarta Pusat

² Pusat Teknologi Bahan Industri Nuklir (PTBIN)-BATAN
Kawasan Puspiptek, Serpong 15314, Tangerang Selatan
e-mail: decky@ui.ac.id

Diterima: 16 Mei 2012

Diperbaiki: 17 September 2012

Disetujui: 4 Oktober 2012

ABSTRAK

PREPARASI NANOKRISTALIN HIDROKSIAPATIT UNTUK SCAFFOLD REKAYASA JARINGAN TULANG. Telah dilakukan sintesis dan karakterisasi nanopartikel Hidroksiapatit (HA) menggunakan metode presipitasi. Hasil pencampuran serbuk $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dan cairan H_3PO_4 dengan perbandingan mol sebesar 10 : 6 selanjutnya dikalsinasi pada suhu bervariasi sampai dengan 900 °C masing-masing selama 3 jam. Hasil *refinement* pola difraksi sinar-X menunjukkan bahwa hidroksiapatit hasil sintesis dengan berbagai suhu kalsinasi merupakan fasa tunggal $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ yang memiliki struktur heksagonal (P63/m). Berdasarkan hasil *refinement* diperoleh bahwa seiring dengan semakin rendahnya suhu kalsinasi HA maka diperoleh volume, kerapatan atomik dan derajat kristalinitas yang semakin menurun dan ukuran kristalit yang semakin kecil. Disimpulkan bahwa pada suhu kalsinasi HA hasil sintesis terendah, maka diperoleh volume, kerapatan atomik dan derajat kristalinitas paling rendah dengan ukuran kristalit paling kecil.

Kata kunci: Sintesis, Hidroksiapatit, Struktur kristal, Derajat kristalinitas, Ukuran kristalit

ABSTRACT

PREPARATION OF HYDROXYAPATITE NANOCRYSTALLINE FOR SCAFFOLD BONE TISSUE ENGINEERING. The synthesis and characterization of hydroxyapatite nanoparticles by using precipitation method have been carried out. Hydroxyapatite samples were prepared by mixing $\text{Ca}(\text{OH})_2$ powder and H_3PO_4 liquid with a mole ratio of 10 : 6. The samples were calcined at temperatures varying from 100 - 900 °C, each for 3 hours. The refinement results of X-Ray Diffraction patterns showed that all samples are single phase of $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. The $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ has a hexagonal structure (P63/m). Based on the refinement results, increasing the calcination temperatures of HA from 100 to 900 °C, HA exists in higher volume, atomic density and crystallinity, as well as smaller of crystallites diameter. It is concluded that at the lowest calcination temperature of HA, the lowest volume, atomic density and crystallinity and the diameter of crystallites as well.

Keywords: Synthesis, Hydroxyapatite, Crystal structure, Crystallinity, Crystallite size

PENDAHULUAN

Paska pencabutan gigi, infeksi ataupun tumor rahang merupakan defek yang paling sering dijumpai di rahang. Penyembuhan defek tulang dengan transplantasi sel tulang menggunakan metode *tissue engineering* (rekayasa jaringan) telah dikembangkan sebagai alternatif untuk perawatan penyembuhan defek secara konvensional. Metode rekayasa jaringan tulang memerlukan *scaffold* sebagai tempat sel merangkak dan bertumbuh menjadi jaringan tulang [1].

Berbagai penelitian Hidroksiapatit (HA) banyak dilakukan untuk memperoleh material pengganti tulang

dalam bidang ortopaedi. Untuk memperoleh material kristalin dengan sifat mekanik tinggi maka dalam sintesis dilakukan kalsinasi suhu tinggi [2]. Oleh sebab itu, HA kristalin stabil sehingga tidak mudah larut (degradasi), sifat degradasi merupakan kemampuan yang diperlukan oleh material *scaffold* [1]. Oleh karenanya, karakteristik material *scaffold* perlu sesuai dengan karakteristik dengan sel tulang yang akan ditumbuhkan.

Komponen material *scaffold* rekayasa jaringan tulang harus sesuai dengan komponen penyusun tulang. Tulang tersusun terutama dari kalsium (Ca) dan fosfor

(P) yang mengalami biomineralisasi dan membentuk senyawa kalsium fosfat. Material biokeramik berbasis kalsium fosfat yang sesuai dengan senyawa kalsium fosfat di dalam tulang dirumuskan dengan $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, disebut hidroksiapatit (HA). HA merupakan senyawa kalsium fosfat yang paling banyak dipelajari karena menunjukkan kristalografi paling sesuai dengan kristalografi hidroksiapatit biologik. Tulang memiliki kristal mineral skala nano, area permukaan sangat luas dan ikatan sesama kristal tulang tidak kuat.

Dalam aplikasi rekayasa jaringan tulang, *scaffold* HA telah memperlihatkan pertumbuhan sel. Namun, masih ditemukannya sisa HA di sekitar lokasi defek walaupun implantasi *scaffold* telah lama dilakukan [3]. Hal ini diperkirakan karena kelarutan material yang rendah sebagai akibat dari tingginya derajat kristalinitas [4,5]. Dari peneliti sebelumnya dijelaskan bahwa tingginya derajat kristalinitas HA terjadi seiring dengan meningkatnya suhu perlakuan panas material [5]. Dari berbagai studi sintesis hidroksiapatit dapat diketahui bahwa sintesis HA selalu disertai dengan perlakuan panas sampai dengan 1300 °C [6,7].

Usaha untuk memperoleh HA *amorf* telah dilakukan dengan mengatur komposisi kimiawi, dengan melakukan sintesis kalsium fosfat bifasa. Dalam hal ini, HA dikombinasi dengan biokeramik berbasis kalsium fosfat lainnya yang memiliki derajat kristalinitas lebih rendah, seperti trikalsium fosfat atau tetra kalsium fosfat [8]. Dari deteksi adanya ion-ion Ca atau P dalam larutan perendam diperoleh bahwa degradasi terjadi pada fasa trikalsium fosfat atau tetra kalsium fosfat, namun masih meninggalkan fasa HA yang kurang dapat mengalami degradasi [9]. Dari hasil ini, pengaturan komposisi kimiawi melalui sintesis struktur bifasa kurang dapat menghasilkan degradasi *scaffold* HA secara signifikan.

Usaha lain untuk memperoleh HA *amorf*, sintesis HA telah disertai dengan menurunkan suhu kalsinasi. Pada HA dengan kalsinasi suhu 1200 °C diperlihatkan terjadinya *grain growth* sedangkan dengan menurunkan suhu kalsinasi HA menjadi 1100 °C terlihat penurunan ukuran partikel dan peningkatan area muka [6]. Namun, studi sintesis HA dengan kalsinasi suhu lebih rendah dari 1000 °C belum banyak dilakukan. Disamping itu, karakteristik HA *amorf* pada suhu rendah juga belum banyak dipelajari. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah melakukan sintesis HA yang disertai dengan kalsinasi suhu rendah dan memahami karakteristik HA ditinjau dari struktur kristal, kristalinitas dan panjang ikatan Ca(2)-OH sebagai fungsi suhu kalsinasi.

METODE PERCOBAAN

Sintesis HA dilakukan menggunakan metode presipitasi [4]. Serbuk $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dan cairan H_3PO_4 dicampur dengan perbandingan mol sebesar 10 : 6. Serbuk $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dilarutkan di dalam 100 mL

aquademineral dengan menggunakan *magnetic stirrer* pada kecepatan $\pm 900 \text{ rpm}$ pada suhu kamar. Larutan H_3PO_4 diteteskan ke dalam suspensi $\text{Ca}(\text{OH})_2$, yang dihabiskan dalam waktu 1 jam, dengan pengadukan sampai 24 jam. Pada akhir pengadukan, dilakukan kontrol pH dengan penambahan larutan H_3PO_4 sampai diperoleh pH=7. Setelah dilakukan *ageing* (penuaan) selama 24 jam, larutan HA dibuang dan presipitat basah yang terbentuk di dasar gelas disaring dengan kertas hisap yang diletakkan pada corong Büchner selama 12 jam. Padatan (serbuk) HA yang diperoleh dicuci dengan aquademineral dan dilanjutkan dengan pengeringan kembali pada suhu kamar selama 12 jam dan dilanjutkan dengan pengeringan di dalam *oven* 100 °C selama 12 jam. Serbuk HA kemudian *disinter* pada rentang suhu bervariasi, yaitu 100 °C, 200 °C, 400 °C, 600 °C, 800 °C dan 900 °C dengan laju pemanasan 5 °C/menit selama 3 jam.

Analisis kualitas dan kuantitas fasa-fasa yang ada di dalam sampel diukur menggunakan alat *X-Ray Diffractometer (XRD)* Philip PW1710, USA). Pengukuran pola difraksi sampel dilakukan dengan berkas sinar-X dari *tube* anoda Cu (*copper*) dengan panjang gelombang, $(\lambda) = 1,5406 \text{ \AA}$, *mode* = *continuous-scan*, *step size* = 0,02°, dan *time per step* = 0,5 detik. Profil difraksi sinar-X dianalisis dengan *Rietveld Analysis* menggunakan perangkat lunak *General Structure Analysis System (GSAS)* [10]. Karakterisasi ini dilakukan di laboratorium Pusat Teknologi Bahan Industri Nuklir, Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN). Volume sel dan kerapatan atomik sampel diperoleh dari hasil *refinement* pola difraksi sinar-X, derajat kristalinitas dikalkulasi dengan formula seperti Persamaan (1) [11]:

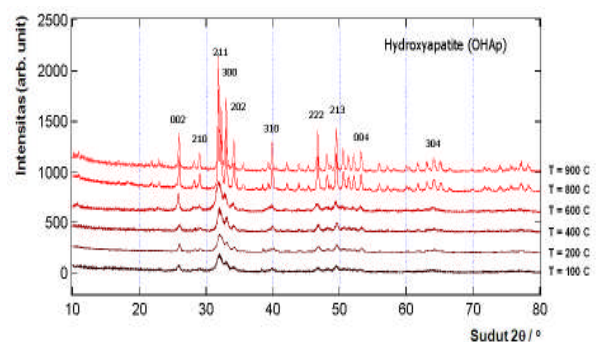
$$W_{c,x} = \frac{I_c}{I_c + K_x I_a} \dots\dots\dots (1)$$

Dimana:

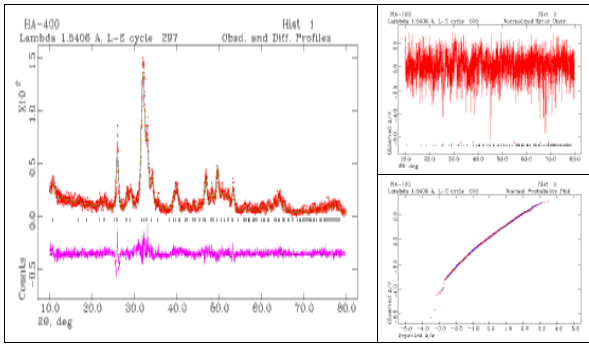
- I_c = Luasan intensitas fasa kristalin
- I_a = Luasan intensitas fasa *amorf*
- K_x = Konstanta (0,95)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pencampuran serbuk $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dan cairan H_3PO_4 dengan perbandingan mol sebesar 10 : 6 menghasilkan



Gambar 1. Pola difraksi sinar-X sampel HA yang dikalsinasi dengan variasi suhu pemanasan.



Gambar 2. Refinement pola difraksi sinar-x sampel HA dengan suhu kalsinasi 100 °C.

serbuk HA dan digunakan sebagai sampel. Hasil pengukuran pola difraksi sinar-X dari sampel tanpa ataupun dengan perlakuan panas dengan suhu dari 100 °C hingga 900 °C ditunjukkan pada Gambar 1. Dari Gambar 1 terlihat bentuk pola difraksi sinar-X yang memiliki fasa yang seragam dari sampel tanpa dan dengan perlakuan panas.

Berdasarkan hasil identifikasi dengan menggunakan Tabel Hanawalt, puncak-puncak indeks Miller dari sampel berimpit dengan fasa $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ dari ICDD 09-0432 [12].

Dari Gambar 2 dapat diamati hasil refinement sampel yang diberi kalsinasi suhu 100 °C. Hasil refinement ini menunjukkan bahwa pada sampel terbentuk puncak difraksi Bragg dan memperlihatkan terbentuknya single phase (fasa tunggal) dari $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, yaitu HA.

Hasil refinement pola difraksi sinar-X dari sampel menunjukkan bahwa kurva observasi (kurva hasil pengukuran) dan kurva kalkulasi (kurva hasil perhitungan) dengan menggunakan hasil percobaan dari referensi terlihat sangat berimpit. Dari selisih kedua kurva tampak bahwa kurva normalized error distribution hanya meninggalkan puncak-puncak background. Kualitas fitting tampak mendekati garis lurus yang idealnya merupakan garis lurus dengan tingkat kesesuaian lebih dari 95 % [13]. Sedangkan, faktor R yang merupakan criteria of fit dan faktor χ^2 yang merupakan goodness of fit tersusun pada Tabel 1.

Hasil refinement pola difraksi sinar-X menunjukkan bahwa semua sampel memiliki struktur heksagonal (P63/m) dengan parameter kisi $a = b = 9,4209(3) \text{ \AA}$ dan $c = 6,8821(2) \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = 90^\circ$ dan $\gamma = 120^\circ$, $V = 528,97(4) \text{ \AA}^3$ dan $\rho = 3,113 \text{ g.cm}^{-3}$.

Tabel 1. Parameter struktur, criteria factor (R) dan goodness of fit (χ^2) dari hasil refinement pola difraksi sinar-X sampel HA dengan suhu kalsinasi 100 °C.

Fasa $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	
Grup ruang (space group) : P 63/m (176)	
Sistem kristal : Heksagonal	
Parameter kisi :	
$a = b = 9,405(3) \text{ \AA}$ dan $c = 6,888(2) \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = 90^\circ$ dan $\gamma = 120^\circ$	
$V = 527,7(4) \text{ \AA}^3$ dan $\rho = 3,113 \text{ gr.cm}^{-3}$	
Factor R	$\frac{wRp}{Rp} = \frac{19,56}{14,65}$ χ^2 (chi-squared) = 1.190

Tabel 2. Parameter struktur hasil refinement pola difraksi sinar-X sampel dengan suhu kalsinasi 100 °C hingga 900 °C.

No	Sampel	a = b (Å)	c (Å)	V (Å ³)	ρ (gr.cm ⁻³)
1.	HA T = 100 °C	9.405(3)	6.888(2)	527.7(4)	3.113
2.	HA T = 200 °C	9.411(1)	6.889(1)	527.8(2)	3.112
3.	HA T = 400 °C	9.421(2)	6.889(1)	529.0(3)	3.103
4.	HA T = 600 °C	9.421(2)	6.889(1)	528.8(3)	3.106
5.	HA T = 800 °C	9.4207(3)	6.8875(2)	529.15(4)	3.108
6.	HA T = 900 °C	9.4209(3)	6.8820(2)	528.97(4)	3.109

Hasil refinement sampel dengan suhu kalsinasi 100 °C hingga 900 °C tersusun pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2, pola difraksi sinar-X untuk sampel dengan suhu kalsinasi 100 °C hingga 400 °C mengalami peningkatan kristalisasi pada strukturnya. Sebagai akibatnya, kisi-kisi kristal mengalami keteraturan yang pada akhirnya sebagian fasa amorf berubah menjadi fasa kristal.

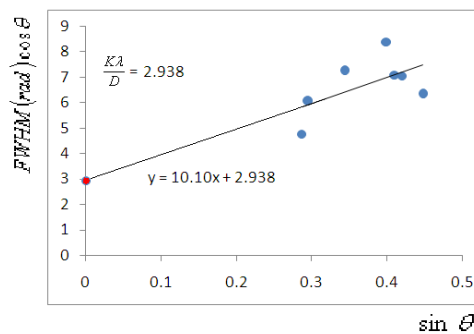
Perubahan dari fasa amorf ke fasa kristalin ditunjukkan dengan adanya perubahan volume dan kerapatan atomik pada masing-masing sampel dengan kalsinasi pada suhu berbeda-beda. Pada HA dengan kalsinasi suhu 100 °C struktur sampel belum sempurna sehingga hasil refinement menunjukkan volume unit sel rendah ($527,7 \text{ \AA}^3$) dengan kerapatan atomik tinggi ($3,113 \text{ g.cm}^{-3}$). Setelah suhu pemanasan dinaikkan hingga 400 °C, volume unit sel meningkat menjadi $528,8 \text{ \AA}^3$, dan walaupun suhu dinaikkan hingga 900 °C volume ini relatif tidak berubah ($528,97 \text{ \AA}^3$).

Demikian halnya dengan volume, kerapatan atomik menurun dari $3,113 \text{ g.cm}^{-3}$ menjadi $3,109 \text{ g.cm}^{-3}$ seiring dengan suhu kalsinasi dari 100 °C hingga 900 °C dan nilai tertinggi, sebesar $3,106 \text{ g.cm}^{-3}$, terjadi pada suhu kalsinasi 400 °C. Keadaan demikian menunjukkan bahwa suhu kalsinasi 400 °C ini merupakan titik kulminasi struktur kristal dari HA.

Kerapatan atomik memberi arti bahwa keteraturan kristal dari sampel semakin membaik. Hal ini menunjukkan

Tabel 3. Derajat kristalinitas sampel HA dengan suhu kalsinasi 100 °C hingga 900 °C.

Suhu kalsinasi	Derajat kristalinitas (%)
100 °C	46,97
200 °C	49,46
400 °C	57,17
600 °C	61,77
800 °C	69,53
900 °C	71,99



Gambar 3. Ukuran partikel dan ukuran kristalit dari sampel HA 400 °C.

telah terjadi kristalisasi yang ditandai juga dengan meningkatnya intensitas dari profil difraksi sinar-X. Asumsi ini didukung dengan adanya hasil hasil pengukuran derajat kristalinitas sampel pada suhu kalsinasi yang berbeda-beda, seperti yang tersusun pada Tabel 3.

Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa derajat kristalinitas sampel meningkat dari 46,97% menjadi 71,99% seiring dengan meningkatnya suhu kalsinasi HA dari 100 °C hingga 900 °C.

Hasil *refinement* juga diperoleh ukuran kristalit sampel HA. Ukuran kristalit ini dihitung berdasarkan analisis metode *Williamson Hull* dari pola difraksi sinar-X, sesuai Persamaan (2):

$$\text{FWHM}(\text{rad}) \cos \theta = \frac{K\lambda}{D} + 4\varepsilon \sin \theta \quad \dots\dots\dots (2)$$

Dimana:

- FWHM= Lebar setengah puncak
- K = Konstanta Scherrer
- λ = Panjang gelombang sinar-X
- D = Diameter kristalit
- ε = Regangan kisi

Hasil perhitungan ukuran kristalit menunjukkan sebuah kurva *Williamson Hull* seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. Berdasarkan perhitungan diperoleh bahwa ukuran kristalit sampel HA dengan suhu kalsinasi dari 100 °C hingga 900 °C meningkat dari 40 nm hingga 150 nm. Dengan makin meningkatnya suhu kalsinasi HA terjadi difusi dari kristalit HA. Dengan demikian ukuran kristalit HA pada suhu kalsinasi relatif lebih tinggi menghasilkan ukuran kristalit lebih besar pula.

Pada HA hasil sintesis, seiring dengan makin rendahnya suhu kalsinasi, maka diperoleh volume, kerapatan atomik semakin rendah dan derajat kristalinitas dan ukuran kristalit semakin kecil. Pada suhu rendah lebih rendah, dimungkinkan bahwa HA mudah mengalami degradasi jika dibandingkan dengan HA dengan kalsinasi suhu lebih tinggi yang mana diperoleh karakteristik HA yang sebaliknya. Oleh karena itu, HA dengan kalsinasi suhu lebih rendah diperkirakan dapat digunakan sebagai kandidat material *scaffold* rekayasa jaringan tulang.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini telah berhasil dilakukan sintesis dan karakterisasi struktural dan mikrostruktur

nanokristalin hidroksiapatit menggunakan metode presipitasi. Hasil *refinement* pola difraksi sinar-X menunjukkan bahwa semua sampel merupakan fasa tunggal dari $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ yang memiliki struktur hexagonal (P63/m). Pada suhu kalsinasi rendah, dapat diperoleh HA dengan volume, kerapatan atomik dan derajat kristalinitas rendah dan ukuran kristalit kecil.

DAFTAR ACUAN

- [1]. VACANTIC A., BONNASSAR L. J., VACANTI J. P., Structural Tissue Engineering. In : LANZAR. P., LANGER R., VACAN J. P., Editors, *Principles of Tissue Engineering*, San Diego Academic Press, 671-682, (2000)
- [2]. PRAMANIK S., AGARWAL A. K., RAI K. N., *Trends Biomater Artif Organs*, **19** (1) (2005) 46-51
- [3]. DUDA M., PAJA F., *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska*, **59** (2004) 269-277
- [4]. INDRANID. J., SOEGIJONO B., *Indonesia Journal of Materials Science*, **12** (2) (2010) 137-140
- [5]. WANG Q., WANG J., ZHANG X., YU X., WAN C., *Materials Research*, **12** (4) (2009) 495-501
- [6]. NAZARPAK H. N., SOLATI-HASJIN, MOZTARZADEH, *J. of Ceramica Processing Research*, **10** (1) (2009) 54-57
- [7]. PATTANAYAK D.K., DIVYA P., UPADHYAY., PRASAD R.C., RAO B.T., MOHAN T.R.R., *Trends Biomater Artif Organ*, **8** (2) (2005)
- [8]. KOMLEV VS, MASTROGIANCOMO M, PERCEIR RC, PEYRIN F, RUSTICHELLI F, CANCEDDAR, *European Cells and Materials*, **19** (2010) 136-146l
- [9]. KONG Y-M, KIM H-E, KIM H-W, *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*, **84B** (2008) 334-339
- [10]. F. IZUMI, "A Rietveld-Refinement Program RIETAN-94 for Angle-Dispersive X-Ray and Neutron Powder Diffraction", National Institute for Research in Inorganic Materials 1-1 Namiki, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan, (1996)
- [11]. J. SONG, M. REN, Q. CHEN, S. WANG, Q. ZHAO, H. ZHANG, Z. MO, *Chinese Journal of Polymer Science*, **22** (2004) 491-496
- [12]. BRIAN H. TOBY, EXPGUI, *Journal of Applied Crystallography*, (2000)
- [13]. LEE Y. J., STEPHENS P. W., TANG Y., LI W., PHILLIPS B. L., PARISE J. B., REEDER R. J., *American Mineralogist*, **94** (2009) 666-675