

Sintesis Karbonat Hidroksiapatit dari Kerang Batik (*Paphia undulata*) Menggunakan Metode Presipitasi

Rosita Wati¹, Yusril Yusuf²

¹Institut Teknologi Sains Nahdlatul Ulama Lampung

²Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

 rositaawati@gmail.com

Absrak

CHAp merupakan penggabungan ion karbonat ke dalam struktur HAp. CHAp dilaporkan dapat menurunkan kristalinitas, meningkatkan laju solubilitas dan juga bioaktivitas. Material CHAp yang dipanaskan pada suhu tertentu dapat respon biologi semakin baik. CHAp yang telah dipanaskan merupakan material yang menarik karena mempunyai respon biologi yang lebih baik. CHAp dari cangkang kerang batik dihasilkan menggunakan metode presipitasi. Penelitian ini bertujuan untuk menginvestigasi efek suhu *sintering* terhadap komposisi dan karakteristik kristal CHAp. Bubuk CHAp dipanaskan pada suhu 800°C. Sampel CHAp dianalisis menggunakan Energy Dispersive Spectrometry (EDS), Fourier Transform Infrared (FT-IR), and X-ray Diffractometer (XRD). Analisis EDS menunjukkan rasio Ca/P CHAp 1,70 (sesuai dengan rasio Ca/P Hap).

Kata Kunci: karbonat hidroksiapatit, kerang batik, *Paphia undulata*, metode presipitasi.

Pendahuluan

Biomaterial kalsium fosfat telah banyak digunakan untuk perbaikan tulang dan regenerasi karena kalsium fosfat merupakan komponen inorganik dalam tulang alami. Salah satu kalsium fosfat adalah hidroksiapatit (Hap) yang mempunyai rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. HAp secara luas digunakan sebagai pengganti tulang standar untuk jaringan keras [1] karena HAp memiliki kesamaan komponen mineral komposisi dengan mineral tulang alami. HAp telah berhasil disintesis menggunakan bahan biogenik dari cangkang kerang jagoan [2], cangkang kepiting Indonesia [3], dan cangkang kerang hijau [4]. HAp mempunyai biokompatibilitas, bioaktivitas, dan osteokondutivitas yang baik [5]. Pada aplikasinya, hasil sintering dari bentuk padatan dan berpori telah digunakan. HAp yang telah melalui pemanasan, 1000°C dapat meningkatkan kristalinitas dan menurunkan solubilitas dalam larutan asam. Sebagai hasilnya, HAp sintering tidak dapat diserap ketika diimplantasi dan konsekuensinya HAp sintering secara umum tidak dapat diserap ketika diimplantasikan selama beberapa tahun. Sehingga HAp bisa digunakan untuk aplikasi permanen, seperti pengganti akar gigi [6].

Modifikasi HAp dapat meningkatkan laju disolusi dan osteoinduktifitas yaitu dengan penambahan ion karbonat. Penggabungan ion karbonat berpengaruh pada sifat fisikokimia dan proses mineralisasi, demineralisasi, dan remineralisasi. Adanya ion karbonat dalam struktur HAp, dikenal sebagai karbonat hidroksiapatit (CHAp),

akan meningkatkan laju disolusi dan osteointegrasi [7]. Komposisi kimia CHAp lebih mirip dengan mineral tulang alami dibandingkan HAp. Kandungan karbonat dalam mineral tulang bervariasi sekitar 2-8 wt% bergantung pada usia individu. Secara umum, substitusi ion karbonat (CO_3^{2-}) dapat menggantikan ion hidroksil (OH^-) atau fosfat (PO_4^{3-}) dalam struktur HAp sebagai CHAp tipe A dan tipe B. Ketika ion karbonat menggantikan gugus fosfat dan hidroksil secara bersamaan dinamakan CHAp tipe AB [8]. CHAp menjadi material yang dipertimbangkan sebagai substitusi untuk tulang. CHAp tipe B banyak ditemukan pada mineral karbonat apatit tulang alami. CHAp tipe B dilaporkan dapat menurunkan kristalinitas dan meningkatkan laju solubilitas [9] yang mengakibatkan kepada ukuran kristal yang diukur relative terhadap HAp. Sehingga CHAp tipe B dapat meningkatkan bioaktivitas dan apoptosis tulang [1]. Dalam apatit biogenik, ion CO_3^{2-} menggantikan lebih banyak gugus PO_4^{3-} sehingga menghasilkan laju parameter a lebih kecil dan c lebih besar dibandingkan stoikiometri HAp. CHAp tipe B ditunjukkan oleh adanya penurunan laju parameter a dan kenaikan laju parameter c [10].

CHAp tipe B dapat disintesis melalui beberapa metode, salah satunya metode presipitasi. Metode presipitasi merupakan metode yang paling umum digunakan karena prosesnya yang sederhana dan dapat dikombinasikan dengan menggunakan suhu reaksi rendah [11]. CHAp yang disintesis menggunakan metode presipitasi pada suhu rendah dapat digunakan sebagai material mineral tulang karena dapat menghasilkan kristal berukuran nano dan kristalinitas rendah [12]. Beberapa bahan biogenik dapat dihasilkan dari koral, kerang laut, dan cangkang telur. Dari beberapa contoh bahan biogenik tersebut dapat memproduksi kalsium karbonat. Kandungan kalsium karbonat dalam biogenik kerang laut, khususnya pada cangkangnya, memiliki persentase yang cukup besar (sekitar 95-99%) sehingga material cangkang biogenik merupakan sumber kalsium yang baik untuk sintesis CHAp. Cangkang kerang batik (*Paphia undulata*) merupakan salah satu kerang yang banyak dikonsumsi dagingnya sehingga cangkangnya yang sudah diambil dagingnya akan dibuang dan menjadi limbah. Penggunaan cangkang kerang batik sebagai sumber kalsium pada sintesis CHAp akan bermanfaat pada lingkungan melalui daur ulang sampah menjadi material yang bermanfaat [13].

Eksperimen

Bahan. Bahan-bahan untuk pembuatan sintesis karbonat hidroksiapatit menggunakan CaO dari kerang batik (*Paphia undulata*) sebagai sumber kalsium alami, diamonium hidrogen fosfat $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ sebagai sumber fosfat, dan ammonium bikarbonat sebagai sumber karbonat, ammonium hidroksida (NH_4OH) 25% sebagai pengatur pH untuk larutan fosfat ($\text{pH} \geq 10$), dan air sebagai pelarut.

Persiapan CaO. Kerang batik dibersihkan secara manual untuk menghilangkan kotoran dalam cangkang, kemudian direndam dengan aseton selama 2x24 jam dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 100°C selama 4 jam. Selanjutnya dihancurkan menggunakan ball mill selama 10 menit dan disaring sehingga diperoleh bubuk CaCO_3 kerang batik. Bubuk CaCO_3 dikalsinasi di dalam furnace pada suhu 1000°C selama 4 jam dan dihasilkan CaO sebagai sumber kalsium alami untuk sintesis CHAp.

Sintesis CHAp. CHAp diproduksi menggunakan metode presipitasi. Pertama, menyiapkan $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 8,554 gram dan 5,119 gram NH_4HCO_3 , kemudian mencampurkan masing-masing dengan 70 ml and 35 ml air. Bubuk CaO dari

cangkang kerang batik sebesar 6,048 gram dilarutkan dalam 70 ml air dan diaduk menggunakan magnetic stirrer di atas *hot plate stirrer* sehingga membentuk larutan Ca(OH)_2 . Sintesis CHAp dimulai dengan mencampurkan larutan NH_4HCO_3 dengan cara diteteskan ke dalam larutan $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ untuk membentuk larutan karbonat fosfat, kemudian direaksikan dengan larutan Ca(OH)_2 pada suhu ruang dan menjaga laju tetesan 1 ml/menit sampai selesai. Larutan campuran CHAp diaduk pada suhu 60°C selama 1 jam dilanjutkan pengadukan selama semalam. Hasil produk ini selanjutnya difilter menggunakan kertas Whatman 42 dan disentrifugasi sebanyak dua kali menggunakan air (4000 rpm, 10 min) untuk membuang ion-ion yang tidak diinginkan. Hasil ini kemudian dikeringkan pada suhu 90°C semalaman lalu digiling menggunakan mortar dan disaring 170 mesh. Proses akhir yaitu dipanaskan dalam *furnace* pada suhu 800°C selama 2 jam.

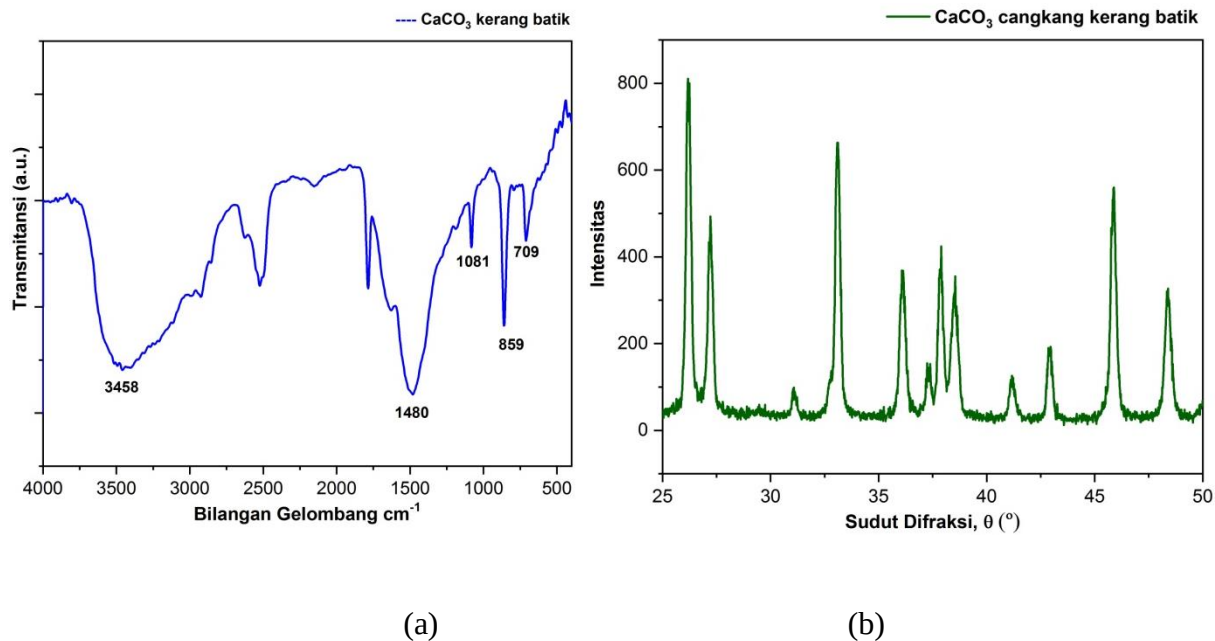
Karakterisasi. Komposisi elemen dari bubuk CHAp, yaitu kandungan Kalsium (Ca), Fosfor (P) and Karbonat (CO_3) dianalisis menggunakan Spektroskop *Energy Dispersive X-Ray* (EDX) (JSM-6510LA). Sampel bubuk ditempelkan pada *sample holder* menggunakan *semi-conductive copper tape* dan dicoating dengan platina selama 120 detik. Hasil data ini digunakan untuk menentukan rasio Ca/P dan kandungan karbonat dalam sampel bubuk CHAp. Gugus fungsi bubuk CHAp diidentifikasi menggunakan Spektrometer *Fourier transform-infrared* (FT-IR) (Thermo Nicolet iS10) dalam pellet sampel dengan mencampurkan sampel pada perbandingan massa 1:100 dengan KBr yang digiling bersama secara manual menggunakan mortar dan pestel. Spektrum dikumpulkan pada scanning 4000 sampai 400 cm^{-1} pada mode transmitansi menggunakan 32 scan. Karakteristik kristal sampel CHAp diuji menggunakan *X-ray diffraction* (XRD). Difraksi diambil menggunakan X-ray diffractometer (PANalytical X'pert PRO) dengan sudut difraksi $10\text{--}60^\circ$. Identifikasi fasa bubuk dibandingkan dengan difraksi bubuk HAp standar pada file *International Center for Diffraction Data* (ICDD). Data difraksi ini digunakan untuk menentukan parameter latis, ukuran kristal, dan mikrostrain pada bubuk CHAp. Ukuran kristal (s) dari partikel HAp ditentukan menggunakan persamaan Scherrer berikut:

$$s = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta}$$

dengan λ panjang gelombang dari $\text{CuK}\alpha$, k konstanta Scherrer, β *full width at half maximum* (FWHM) dari CHAp and θ sudut difraksi.

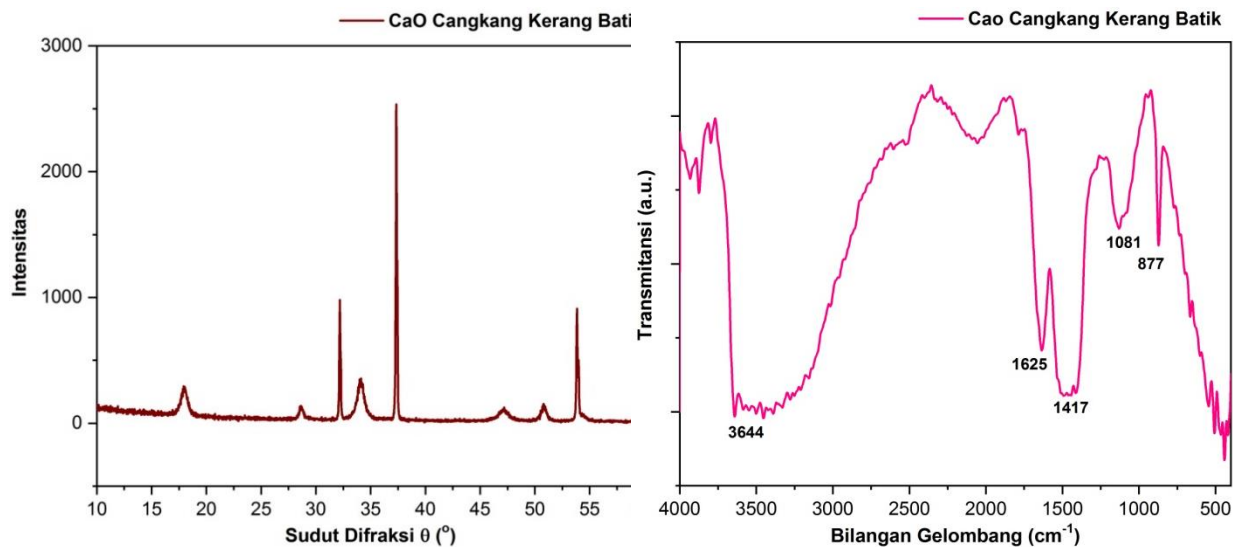
Hasil dan Diskusi

Karakteristik dari bubuk cangkang kerang batik (CaCO_3). Spektra FTIR dari bubuk cangkang kerang batik menunjukkan 4 puncak utama, yang menunjukkan vibrasi dari karakteristik struktur aragonite kristal CaCO_3 (Gambar 1.a). karakteristik dari struktur aragonite ditunjukkan oleh mode vibrasi ν_1 (*in-plane symmetric stretching*) pada bilangan gelombang 1081 cm^{-1} . Karakteristik dari struktur kalsit diindikasikan oleh tiga pita transmitansi utama yaitu 1459 cm^{-1} (*vibration mode ν_3 , asymmetric stretch*), 859 cm^{-1} (*vibration mode ν_2 , out of plane bend*) and 709 cm^{-1} (*vibration mode ν_4 , in-plane bend*). Identifikasi fasa dari sampel bubuk cangkang kerang batik pada Gambar 1.b menghasilkan struktur heksagonal yang berkorespondensi dengan struktur kalsit (CaCO_3). Puncak-puncak difraksi diidentifikasi menggunakan file *International Center for Diffraction Data* (ICDD) no. 41-1475. Terdapat tiga puncak utama dengan intensitas tertinggi pada sudut $26,11^\circ$; $33,03^\circ$; dan $45,78^\circ$, yang bersesuaian dengan fasa CaCO_3 .



Gambar 1. Spektra FTIR (a) dan pola difraksi (b) bubuk cangkang kerang batik

Karakteristik dari CaO bubuk cangkang kerang batik. Hasil XRD bubuk CaO cangkang kerang batik diidentifikasi dengan melihat puncak-puncak difraksi dan dikomparasikan dengan JCPDS nomor 37-1479. Fasa CaO yang terbentuk pada masing-masing bahan biogenik dapat dilihat melalui pola difraksi pada Gambar 2(a). Tiga puncak utama dengan intensitas tertinggi dari sampel berkorespondensi dengan bidang (111), (200), dan (220) yang merupakan fasa dari CaO. Namun, di sampel CaO dari cangkang kerang batik terdapat fasa lain dengan puncak intensitas rendah yaitu $\text{Ca}(\text{OH})_2$. CaO bertransformasi menjadi $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ketika kedapatan di atmosfer udara. CaO mengikat H_2O pada udara terbuka sehingga menghasilkan $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Pembentukan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ selama proses kalsinasi merupakan kejadian yang sangat biasa dan sering dialami oleh beberapa peneliti selama sintesis CaO. Keadaan ekstrim higroskopik alami pada CaO dapat berakhir dengan pembentukan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ secara keseluruhan [14]. Spektra FTIR sampel CaO dari ketiga jenis cangkang kerang diberikan pada Gambar 2(b). Hasil analisis FTIR mendukung hasil data XRD sebelumnya. Sampel CaO memiliki ikatan kuat dengan puncak yang tajam pada bilangan gelombang 3644 cm^{-1} berkorespondensi dengan ikatan O-H dari hidroksida dan juga pita serapan pada 1625 cm^{-1} merupakan serapan H_2O (*water adsorbed*). Puncak-puncak transmitansi yang terbentuk pada bilangan gelombang 1417 cm^{-1} berhubungan dengan ikatan C-O. Ikatan C-O juga terdeteksi pada lokasi bilangan gelombang 877 cm^{-1} . Terdapat puncak pada bilangan gelombang 1081 cm^{-1} dengan intensitas yang rendah yang merupakan ikatan fosfat. Terbentuknya puncak ikatan fosfat dengan intensitas rendah menandakan kandungan fosfat yang terdapat pada sampel CaO juga rendah.



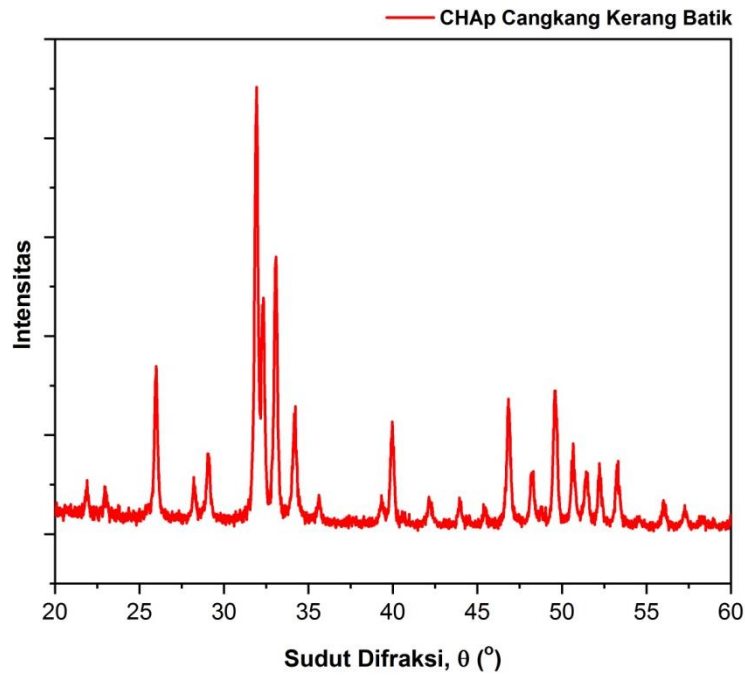
Gambar 2. Pola difraksi (a) dan Spektra FTIR (b) bubuk CaO cangkang kerang batik

Komposisi. Komposisi elemen sampel CHAp ditentukan melalui EDS yang ditunjukkan pada Tabel 1. Kandungan karbonat sampel CHAp saat dipanaskan pada suhu 800°C yaitu 2,98% sedangkan perbandingan mol Ca/P yakni 1,70. CHAp tipe B adalah substitusi karbonat yang menggantikan posisi ion fosfat dalam struktur HAp. Adanya kandungan karbonat pada sampel menyebabkan rasio mol Ca/P menurun sehingga mendekati stoikiometri HAp.

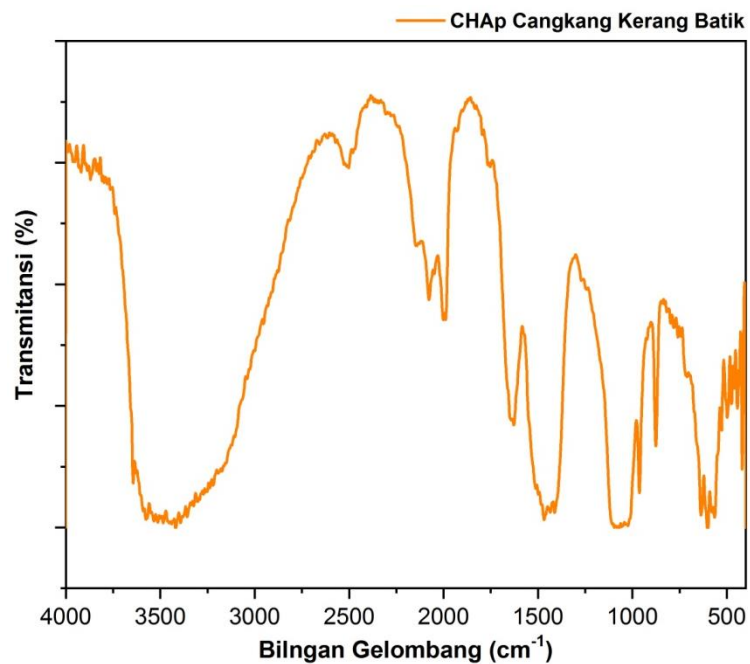
Tabel 1. Analisis Elemen (nilai fraksi berat karbonat; rasio mol Ca/P)

Suhu sintering	CO ₃ wt%	Ca/P
800°C	2,98	1,70

Karakteristik Kristal. Kristalisasi dan komposisi fasa-fasa sampel CHAp dari cangkang kerang batik dikarakterisasi menggunakan XRD. Gambar 3 menunjukkan spektra XRD dari bubuk CHAp yang dipanaskan pada suhu 800°C. Sampel bubuk CHAp menghasilkan karakteristik fasa kristalin apatit. Posisi-posisi sudut dari masing-masing sampel berada pada 2θ di sekitar 26°, 31,9°, 32°, 33°, dan 34° yang berkorespondensi dengan bidang difraksi (002), (211), (112), (300), dan (202) menunjukkan fasa struktur apatit. Tidak ada fase kristalin lain yang terbentuk dalam pola XRD semua sampel CHAp. Ketidakhadiran fasa kristalin lain mengindikasikan bahwa perlakuan pencucian yang dilakukan cukup untuk menghilangkan senyawa residu dan ion-ion yang tidak diinginkan. Puncak difraksi sampel CHAp dari cangkang kerang batik mengalami *overlapping* di sekitar sudut $2\theta \approx 32-34^\circ$ yang berkorespondensi dengan bidang difraksi (211), (112), dan (300). Landi dkk. [15] menyebutkan bahwa terbentuknya *overlapping* pada puncak (211) dan (112) merupakan karakteristik dari CHAp yang mengindikasikan adanya substitusi CO₃²⁻ ke dalam struktur apatit.



Gambar 3. Pola difraksi sampel CHAp cangkang kerang batik



Gambar 4. Spektra FTIR sampel CHAp cangkang kerang batik

Analisis FTIR sampel CHAp dari kerang batik ditunjukkan pada Gambar 4, yang menampilkan gugus-gugus fungsi dari PO_4^{3-} , CO_3^{2-} dan OH^- . Karakteristik gugus fosfat (PO_4^{3-}) ditandai dengan adanya pita serapan di sampel pada bilangan gelombang *stretching vibrations* 1029-1106 (ν_3) dan 962-964 (ν_1), *bending vibrations* 601-603 (ν_4), 568-570 (ν_4), dan 468 cm^{-1} (ν_2). Substitusi CO_3^{2-} tipe-B dikonfirmasi dengan adanya pita transmitansi *stretching vibrations* dari ion CO_3^{2-} pada bilangan gelombang

873-875 (ν_2), 1417-1419 (ν_3), dan 1454-1461 cm^{-1} (ν_3). Ketiga pita transmitansi tersebut merupakan karakteristik dari substitusi tipe-B dalam struktur apatit yang umumnya banyak ditemukan pada jaringan muda dan lebih banyak memiliki kesaamaan dengan tulang secara biologis dibandingkan dengan substitusi jenis lainnya [15]. Pada spektra FTIR sampel CHAp dari cangkang kerang batik dengan variasi suhu *sintering* tidak memperlihatkan adanya puncak karakteristik dari substitusi CO_3^{2-} tipe-A maupun tipe-AB yang berada di sekitar bilangan gelombang 878-880 cm^{-1} [5].

Parameter latis CHAp dikalkulasi dari data difraksi. Parameter latis a dan c berturut-turut diperoleh sekitar 9,373 Å dan 6,855 Å sehingga diperoleh rasio c/a sebesar 0,7314. Sedangkan ukuran kristal yang ditentukan melalui persamaan Scherer yaitu 50,903 nm. Sedangkan pengukuran microstrain dihasilkan sebesar 0,00316.

Rangkuman

Penelitian ini melaporkan bahwa telah dilakukan sintesis CHAp dari cangkang kerang batik (*Paphia undulata*). Sampe CHAp dipanaskan pada suhu 800°C sehingga diperoleh rasio mol Ca/P sebesar 1,70 yang mendekati stoikiometrik HAp. Sedangkan kandungan karbonat yang terdapa dalamsampel CHAp sebesar 2,98wt%. Pola difraksi diidentifikasi bahwa CHAp tipe B dalam sampel CHAp dan didukung data FTIR yang ditunjukkan dengan adanya gugus fungsi dari PO_4^{3-} , OH^- , and CO_3^{2-} .

Reference

- [1] I. Ezekiel, S.R. Kasim, Y.M.B. Ismail and A.F.M. Noor, Nanoemulsion synthesis of carbonated hydroxyapatite nanopowders: effect of variant $\text{CO}_3^{2-}/\text{PO}_4^{3-}$ molar ratios on phase, morphology, and bioactivity, *Ceram. Int.* 2018.
- [2] Y. Rizkayanti and Y. Yusuf, Effect of temperature on syntesis of hydroxyapatite from cockle shells (*Anadara granosa*), *IJNeaM.* 11 (2018) 43-50.
- [3] Y. Rizkayanti and Y. Yusuf, Optimization of the temperature synthesis of hydroxyapatite from Indonesian Crab shells, *IJNeaM.* 12 (2019) 85-92.
- [4] M. Sari and Y. Yusuf, Synthesis and characterization of hydroxyapatite based on green mussel shells (*Perna viridis*) with the variation of stirring time using the precipitation method, *IOP Conf Ser. Mater. Sci. Eng.* 432 (2018) 012046.
- [5] C.C. Kee, H. Ismail and A.F.M. Noor, Effect of synthesis technique and carbonate content on the crystallinity and morphology of carbonated hydroxyapatite, *J. Mater. Sci. Technol.* 29 (2013) 761-764.
- [6] Y. Doi, Sintered carbonate apatite, *Cell and Mater.* 7 (1993) 111-122.
- [7] J.P. Lafon, E. Champion and D. Bernache-Assollant, Processing of AB-type carbonated hydroxyapatite $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_{2-x-2y}(\text{CO}_3)_y$ ceramics with controlled composition, *J. Eur. Ceram. Soc.* 28 (2008) 139-147.
- [8] M. Okada and T. Matsumoto, Synthesis and modification of apatite nanoparticles for use in dental and medical applications, *Jpn. Dent. Sci. Rev.* 51 (2015) 85-95.
- [9] R. Jayasree, K. Madhumathi, D. Rana, M. Ramalingam, R.P. Nankar, M. Doble and T.S.S. Kumar, Development of egg shell derived carbonated apatite nanocarrier system for drug delivery, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 18 (2018) 2318-2324.
- [10] O.F. Kamenetskaya, A. Kol'tsov, M. Kuz'mina, M. Zorina and L. Poritskaya, Ion substitutions and non-stoichiometry of carbonated apatite-(CaOH) synthesized by

precipitated and hydrothermal method, J. Mol. Struct. 992 (2011) 9-18.

- [11] S. Cox, Synthesis method of hydroxyapatite, Ceram, University of Birmingham, 2014.
- [12] M. Fleet, Carbonated Hydroxyapatite: Materials, Synthesis and Application, Pans Stanford Publishing, United States, 2015.
- [13] T. Laonapakul, Synthesis of hydroxyapatite from biogenic waste, KKU Eng. J. 42 (2015) 269-275.
- [14] L.G. Ellies, G.A. Nelson and J.D.B. Featherstone, crystallographic structure and surface morphology of sintered carbonated apatite, J. Biomed. Mater. Res. 22 (1988) 541-553.
- [15] E. Landi, A. Tampieri, G. Celotti, L. Vichi and M. Sandri, Influence of synthesis and sintering parameters on the characteristics of carbonate apatite, Biomaterials, 25 (2004) 1763-1770.