

LAPORAN PENELITIAN
PENELITIAN HIBAH BERSAING



Potensi Limbah *Dental Gypsum*
Sebagai Bahan Baku Material Pengganti Tulang

Tahun ke-1 dari rencana 2 tahun

TIM PENGUSUL

drg. Hengky B. Ardhiyanto, MDSc (0005057904)

drg. Amiyatun Naini, M.Kes (0026127101)

drg. Yenny Yustisia, M.Biotech (0025037902)

UNIVERSITAS JEMBER

NOVEMBER, 2015

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Potensi Limbah Dental Gypsum Sebagai Bahan Baku Material Pengganti Tulang

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : drg. HENGKY BOWO ARDHIYANTO MDSc
Perguruan Tinggi : Universitas Jember
NIDN : 0005057904
Jabatan Fungsional : Lektor
Program Studi : Dokter Gigi
Nomor HP : 082330522332
Alamat surel (e-mail) : hengky_ardhiyanto@yahoo.com

Anggota (1)
Nama Lengkap : drg. AMIYATUN NAINI M.Kes.
NIDN : 0026127101
Perguruan Tinggi : Universitas Jember

Anggota (2)
Nama Lengkap : drg. YENNY YUSTISIA M.Biotech
NIDN : 0025037902
Perguruan Tinggi : Universitas Jember

Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 63.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 142.800.000,00



Mengetahui,
Ketua Fakultas Kedokteran Gigi

(Prof. Dr. Haryan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost.)
NIP/NIK 196901121996011001

Jember, 10 - 11 - 2015
Ketua,

(drg. HENGKY BOWO ARDHIYANTO
MDSc)
NIP/NIK 197905052005011005

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian

(Prof. Dr. Achmad Subagio, M.Agr., Ph.D)
NIP/NIK 196905171992011001

RINGKASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan sumber alternatif bahan pengganti tulang Hidroksiapatit [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] dari limbah *dental gypsum*. Mengingat tingkat kebutuhan yang tinggi akan bahan pengganti tulang, maka target penelitian ini adalah untuk menghasilkan material yang diolah dari limbah *dental gypsum* sehingga dapat menggantikan produk import dengan harga yang lebih murah, mudah didapat dan ramah lingkungan. Hidroksiapatit dibuat dari serbuk *dental gypsum* ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) yang direaksikan dengan diamonium hidrogen fosfat $[(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4]$ dengan metode hidrotermal menggunakan *microwave*, kemudian dilakukan karakterisasi dengan pengujian FTIR (*Fourier Transform-Infra Red spectroscopy*), XRD (*X-Ray Diffraction*) dan SEM (*Scanning Electro Microscope*). Biokompatibilitas material diukur melalui uji sitotoksisitas dengan parameter viabilitas sel yang dipapar oleh material hidroksiapatit *dental gypsum* dan HAp200 Jepang sebagai pembanding.

Tahapan yang telah dilakukan adalah mensintesa hidroksiapatit kemudian dilakukan karakterisasi dengan pengujian FTIR (*Fourier Transform-Infra Red spectroscopy*), XRD (*X-Ray Diffraction*) dan SEM (*Scanning Electro Microscope*). Selanjutnya akan dilanjutkan dengan uji toksisitas pada Rat's Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells (Rat's BM-MSCs). Pengujian toksisitas akan dilakukan menggunakan metode MTT assay.

Hasil karakterisasi menunjukkan hidroksiapatit hasil sintesis limbah dental gypsum memiliki karakteristik yang serupa dengan HA komersial. Kematian sel yang dipapar dalam uji toksisitas juga menunjukkan dibawah 30%.

PRAKATA

Puji Syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas limpah karunia-Nya kami dapat melaksanakan penelitian “Potensi Limbah Dental Gypsum sebagai Bahan Baku Pengganti Tulang” dengan lancar. Hingga saat ini kami telah menyelesaikan tahapan pertama dari rencana penelitian tahun pertama dan menghasilkan serbuk hidroksiapatit dengan karakterisasi yang serupa dengan hidroksiapatit komersial. Adanya hambatan dan kegagalan yang kami alami selama melaksanakan penelitian kami jadikan pembelajaran untuk dapat bekerja lebih baik dan lebih cermat agar dapat berhasil dikemudian hari.

Tahapan berikutnya yang akan kami lakukan adalah uji toksisitas hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gipsum pada kultur Rat’s Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells. Besar harapan kami agar penelitian tersebut nantinya dapat berjalan lancar dan memberikan hasil yang baik. Oleh karena itu, kami menerima semua saran dan kritik yang bersifat membangun agar kami dapat bekerja lebih baik dan dapat menyempurnakan penelitian kami.

Wassalam,

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

Halaman Sampul	1
Halaman Pengesahan	2
Ringkasan	3
Prakata	4
Daftar Isi	5
Daftar Gambar	6
Daftar Lampiran	6
BAB 1. Pendahuluan	9
BAB 2. Tinjauan Pustaka	11
BAB 3. Tujuan dan Manfaat Penelitian	15
BAB 4. Metode Penelitian	16
BAB 5. Hasil yang Dicapai	24
BAB 6. Rencana Tahapan Berikutn.....	43
BAB 7. Kesimpulan dan Saran	43
Daftar Pustaka	44
Lampiran-lampiran	
Lampiran 1. Foto Alat dan Bahan Penelitian	46
Lampiran 2. Foto Prosedur Penelitian	47
Lampiran 3. Foto Produk Penelitian tahap 1	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Dental model yang terbuat dari gipsum	12
Gambar 2. Serbuk Hidroksiapatit	13
Gambar 3a. Bone graft dari hidroksiapatit.	14
Gambar 3b. Scanning Electron Micrograph dari <i>scaffold</i> hidroksiap.....	14
Gambar 4. Spektra FTIR serbuk limbah dental gypsum.....	24
Gambar 5. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit HAP 200.....	25
Gambar 6. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 20 menit.....	25
Gambar 7. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 20 menit	26
Gambar 8. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 30 menit	26
Gambar 9. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 30 meni.....	27
Gambar 10. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 40 menit	28
Gambar 11. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 40 menit	29
Gambar 12. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 50 menit	29
Gambar 13. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa	

limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 50 menit	30
Gambar 14. Pola XRD serbuk imbah dental gypsum	31
Gambar 15. Pola XRD serbuk hidroksiapatit HAP 200	31
Gambar 16. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 20 menit	32
Gambar 17. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 20 menit	32
Gambar 18. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 30 menit	33
Gambar 19. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 30 menit	33
Gambar 20. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 40 menit	34
Gambar 21. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 40 menit	34
Gambar 22. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 50 menit	35
Gambar 23. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 50 menit	35
Gambar 25. Gambaran SEM serbuk limbah dental gypsum	36
Gambar 28. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit HAP 200	37
Gambar 28. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit hasil sintesa	

limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 20 menit	38
Gambar 28. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit hasil sintesa	
limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 20 menit	38
Gambar 28. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit hasil sintesa	
limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 30 menit	39
Gambar 28. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit hasil sintesa	
limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 30 menit	40
Gambar 28. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit hasil sintesa	
limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 40 menit	41
Gambar 28. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit hasil sintesa	
limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 30 menit	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Alat dan Bahan	46
Lampiran 2. Foto Prosedur Penelitian	47
Lampiran 3. Foto Produk Penelitian Tahap 1	48

BAB I. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tulang adalah jaringan ikat khusus yang membentuk sebagian besar kerangka tubuh pada vertebrata. Selain memiliki fungsi secara fisik dan mekanik, tulang juga berfungsi memproduksi darah dan menyimpan mineral tubuh (Othsuki, 2009). Dalam kondisi tertentu, tulang dapat mengalami kerusakan dan memerlukan tindakan untuk merekonstruksinya.

Indonesia memiliki jumlah kasus operasi bedah tulang yang cukup signifikan. Salah seorang praktisi kedokteran di FK UNAIR/ RSU dr Soetomo di Surabaya menyebut kisaran angka sebesar 300 - 400 kasus operasi bedah tulang per bulan. Jumlah kasus operasi bedah tulang dapat meningkat secara signifikan dengan semakin meningkatnya jumlah manusia usia lanjut, tingginya angka kecelakaan lalu lintas, bencana alam seperti tsunami dan gempa bumi serta penyakit. Peningkatan tersebut dibarengi dengan meningkatnya pula kebutuhan akan bahan pengganti tulang untuk dapat merestorasi defek tulang yang timbul.

Tingginya tingkat kebutuhan bahan pengganti tulang (*bone graft*) menyebabkan para peneliti dan ahli bedah terus mengembangkan material sintesis sebagai alternatif *bone graft*, salah satunya adalah biokeramik (Rimondini dkk, 2004). Salah satu bahan biokeramik yang sering digunakan dalam aplikasi biomedis adalah hidroksiapatit [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$]. Susunan kristal hidroksiapatit yang memiliki gambaran identik dengan tulang membuat hidroksiapatit sangat populer digunakan sebagai material pengganti tulang. Material ini bersifat biokompatibel, osteokonduktif, serta dapat menyatu dengan tulang sehingga dapat meningkatkan proses regenerasi tulang (Bronzino, 2006).

Hidroksiapatit dapat disintesis dari banyak sumber termasuk gipsum (kalsium sulfat dihidrat) (Herliansyah, 2012). Sedyono dan Tontowi (2008) mensintesa Hidroksiapatit dari serbuk gipsum alam yang direaksikan dengan diamonium hidrogen fosfat [$(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$] dengan metode hidrotermal menggunakan *microwave*. Furuta dkk. (1998) mensintesa hidroksiapatit dari gipsum *mold waste* dengan cara *hydrothermal treatment (conventional-hydrothermal)*. Hasilnya menunjukkan karakteristik hidroksiapatit yang menyerupai hidroksiapatit komersial.

Di lain pihak, gipsum merupakan salah satu limbah yang dihasilkan oleh fasilitas pelayanan kesehatan gigi. Model gipsum banyak dibuat dalam pelayanan kesehatan gigi

sebagai model study dan model kerja yang umumnya akan terbuang setelah perawatan selesai. Meskipun tidak berbahaya jika dibuang langsung ke alam, namun limbah gipsum kedokteran gigi akan meningkatkan jumlah sampah yang perlu diatasi. Model gipsum sendiri merupakan kalsium sulfat dihidrat sebagai hasil reaksi dari gypsum kedokteran gigi (kalsium sulfat hemihidrat) yang dicampur dengan air dan mengalami proses pengerasan (Anusavice, 2003). Oleh karena itu, limbah *dental gypsum* juga memiliki potensi sebagai sumber hidroksiapatit yang ramah lingkungan.

Sebagai material yang nantinya akan diimplantasikan dalam tubuh, hidroksiapatit hasil sintesis limbah gipsum juga harus memiliki biokompatibilitas yang baik. Sitotoksitas sebagai salah satu komponen uji biokompatibilitas pada tingkat sel dapat ditunjukkan dengan prosentasi kematian sel yang dipapar oleh material uji. Sebagai bahan pengganti tulang (*bone graft*), material juga harus dapat berfungsi sebagai *scaffold* yang menjadi media bagi sel-sel punca dan osteoblas untuk melekat, hidup dan berkembang dengan baik di dalam defek tulang (Lieberman dan Friedlaender, 2005) sehingga memfasilitasi pembentukan tulang baru. Oleh karena itu diperlukan analisa dan karakterisasi material terutama hidroksiapatit yang disintesa dari limbah *dental gypsum* serta potensinya sebagai *bone graft* dalam proses perbaikan tulang.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

Dental Gypsum

Gypsum merupakan mineral yang ditambang di berbagai belahan dunia. Gypsum juga merupakan produk sampingan dari berbagai proses kimia. Secara kimiawi, gypsum yang dihasilkan untuk tujuan kedokteran gigi adalah kalsium sulfat dihidrat ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) murni (Anusavice, 2003).

Gypsum biasanya berwarna putih susu kekuningan dan biasa ditemukan dalam bentuk senyawa di alam. Mineral gypsum mempunyai nilai komersial yang penting sebagai *plester of Paris*. Nama plester of Paris diberikan pada produk ini karena produk ini diperoleh dari pembakaran gyp-sum yang ditambang di dekat Paris, Perancis. Namun saat ini gypsum dapat ditambang di berbagai belahan dunia (Craig, 2002).

Secara komersial, gypsum dihaluskan dan dipapar dengan temperatur 110 –120°C untuk mengeluarkan bagian air dari kristalisasi. Ini sesuai dengan tahap pertama dalam reaksi: $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (*Dental gypsum*) \rightarrow $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ (plester atau stone). Begitu temperature semakin ditingkatkan, sisa air dari kristalisasi dikeluarkan dan terbentuk produk seperti yang diinginkan (Anusavice, 2003). Selama proses pemanasan, gypsum kehilangan 1,5 g mol dari 2 g mol air dan berubah menjadi kalsium sulfat hemihidrat (Craig, 2002).

Berbeda dengan reaksi pembentukan plester dan stone, reaksi pengerasan gypsum berkebalikan dengan reaksi pembentukan plester dan stone. Ketika kalsium sulfat hemihidrat dicampur dengan air maka akan terbentuk kalsium sulfat dihidrat dan energi. Reaksi kimianya sebagai berikut: $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ (Plester) + $1 1/2 \text{H}_2\text{O}$ (air) \rightarrow $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (*dental gypsum*) + 3900 cal/g mol. Reaksi tersebut adalah reaksi eksotermis. Hal ini karena ketika 1 g mol kalsium sulfat hemihidrat direaksikan dengan 1,5 g mol air akan terbentuk 1 g mol kalsium sulfat dihidrat dan energi kalor (panas) sebesar 3900 cal/ g mol (Craig, 2002)

Di bidang kedokteran gigi, gypsum digunakan sebagai model studi dari rongga mulut serta struktur maksilofasial dan sebagai piranti penting untuk pekerjaan laboratorium kedokteran gigi yang melibatkan pembuatan protesa gigi (Anusavice, 2003: 155).

Gypsum kedokteran gigi terdiri atas beberapa tipe. Menurut Spesifikasi ADA No.25 gypsum kedokteran gigi terdiri atas lima tipe. Gypsum kedokteran gigi tipe I disebut Plaster of Paris, tipe II disebut Plaster model, tipe III disebut Dental stone, tipe IV disebut Dental

stone high strength, tipe V disebut Dental stone high strength high ekspansif (Anusavice, 2003).



Gambar 1. Dental model yang terbuat dari gipsum

Pembuatan Hidroksiapatit dari Bahan Gipsum

Furuta dkk. (1998) mensintesa hidroksiapatit dari reaksi antara gipsum *mold waste* 5 x 10 x 20 mm dengan 40 ml 0,5 M larutan diamonium hidrogen fosfat dengan cara *hydrothermal treatment (conventional-hydrothermal)* pada suhu 50 – 100oC dan dipelajari sifat-sifatnya. Di sini dia mengembangkan proses untuk mempersiapkan HAp monolith langsung dari gipsum *waste* dengan kristalisasi *in situ* dengan menggunakan reaksi kimia berikut: $10\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 6(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 6(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + 4\text{H}_2\text{SO}_4 + 18\text{H}_2\text{O}$. Diperoleh konversi gipsum ke HAp (100%) pada suhu 50oC dalam waktu 15 hari dan 100oC dalam 2 hari.

Katsuki dkk. (1999) mensintesa Hap dengan *microwave*. Sintesa HAp diperoleh dari reaksi antara serbuk gipsum (0,5 gr) dan 40 ml 0,5 M larutan diamonium hidrogen fosfat pada suhu 100oC selama 0,5 – 120 menit dalam Teflon menggunakan sebuah *microwave digestion system*. Kemudian hasilnya dicuci dengan air murni, lalu dikeringkan pada suhu di bawah 50oC. Untuk mengetahui pengaruh *microwave*, juga dilakukan reaksi yang sama dengan cara *conventional-hydrothermal*. Dengan cara *microwave* diperoleh konversi gipsum ke Hap (100%) dalam waktu 5 menit, sedangkan dengan *conventional-hydrothermal* membutuhkan waktu 8 hari

Hidroksiapatit

Hidroksiapatit (HA) dengan formula kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ adalah satu keramik yang memiliki sifat biokompatibilitas yang baik karena secara kimia dan fisika kandungan mineralnya sama dengan tulang dan gigi pada manusia (gambar 2). Hidroksiapatit adalah keramik bioaktif yang sudah luas penggunaannya dalam aplikasi medis antara lain untuk reparasi tulang yang mengalami kerusakan, pelapisan logam prostesa (implan) untuk meningkatkan sifat biologi dan mekanik dan juga sebagai media penghantaran obat (*drug delivery*). Secara termodinamik hidroksiapatit sangat stabil pada pH, temperatur dan komposisi fisiologi fluida. (Peroos, 2006).

Kristal hidroksiapatit mempunyai ukuran yang sama dengan kristal hidroksi apatit tulang, yaitu berkisar 20 – 50 nm (Rocha, 2005). Secara stokiometri Ca/P hidroksiapatit memiliki ratio 1,67 dan secara kimia sama dengan mineral tulang manusia. Hidroksiapatit adalah komponen anorganik utama penyusun jaringan tulang. Adanya kesamaan struktur kimia dengan mineral jaringan tulang manusia, maka hidroksiapatit sintetik menunjukkan daya afinitasnya dengan baik yaitu dapat berikatan secara kimiawi dengan tulang (Rocha, 2005).



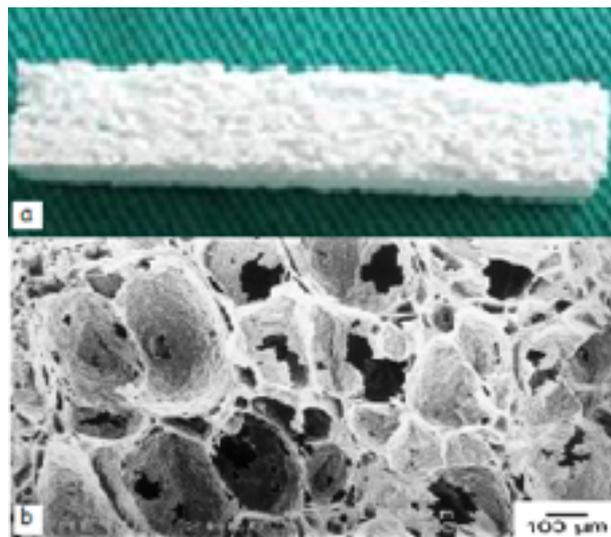
Gambar 2. Serbuk Hidroksiapatit (Peroos, 2006)

Hidroksiapatit sebagai bahan pengganti tulang (*bone graft*)

Bone graft adalah material yang berfungsi membantu rekonstruksi, menstabilkan struktur dan ikatan pada tulang serta menstimulasi proses osteogenesis dan penyembuhan

tulang pada defek yang besar (van Gaalen, 2008). Menurut Rimondini dkk, (2008), *bone graft* harus bisa berintegrasi dengan tulang, yaitu mampu untuk berikatan secara kimiawi pada permukaan tulang tanpa dihalangi oleh lapisan jaringan fibrosa. Lieberman dan Friedlaender, (2005) mengatakan *bone graft* harus memenuhi tiga sifat dasar yaitu osteogenesis, osteoinduksi dan osteokonduksi. Selain itu sifat mekanis *bone graft* yang bagus harus biokompatibel dan mudah dimanipulasi (Rimondini dkk., 2008).

Hidroksiapatit merupakan salah satu material yang diklasifikasikan sebagai material bioaktif dan memiliki sifat osseointegrasi, osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis, ketika digunakan sebagai *bone graft* (gambar 3). Sifat-sifat inilah yang harus dipenuhi oleh suatu *bone graft* yang ideal. Hidroksiapatit bersifat osteokonduksi karena mampu menginduksi dan menstimulasi sel-sel punca dan osteoblas untuk berproliferasi dan diferensiasi dalam pembentukan tulang baru (yang dipengaruhi juga oleh beberapa *growth factor*) (Suzuki dkk., 2005).



Gambar 3. a. Bone graft dari hidroksiapatit. b. Scanning Electron Micrograph dari *scaffold* hidroksiapatit (Zhu dkk, 2009)

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan Penelitian

Tujuan yang akan dicapai adalah:

- 1) Mensintesis hidroksiapatit dari limbah *dental gypsum*
- 2) Menghasilkan hidroksiapatit yang memiliki karakter serupa dengan hidroksiapatit komersial serta memiliki biokompatibilitas yang baik
- 3) Memproduksi *scaffold* dari hidroksiapatit *dental gypsum* sebagai *bone graft*
- 4) Menghasilkan *bone graft* dari hidroksiapatit yang disintesa dari limbah *dental gypsum* yang memiliki kemampuan regenerasi jaringan yang baik

Manfaat Penelitian

Dengan bahan baku yang memanfaatkan limbah kedokteran gigi diharapkan untuk dapat dijadikan sebagai sumber alternatif pembuatan hidroksiapatit sehingga nantinya dapat dikembangkan sebagai bahan pengganti tulang dengan harga yang lebih murah, mudah didapat dan ramah lingkungan. Hidroksiapatit yang dihasilkan diharapkan dapat memenuhi kebutuhan material pengganti tulang di Indonesia yang selama ini masih banyak diimpor.

BAB 4. METODE PENELITIAN

Untuk pemecahan masalah dalam penelitian ini, dirancang 4 tahap penelitian yang dilakukan selama 2 tahun.

Penelitian Tahun I

Tahap I : Sintesis hidroksiapatit dari *dental gypsum*

Penelitian eksperimental ini bertujuan untuk mensintesis hidroksiapatit dari limbah *dental gypsum* dengan metode hidrotermal. Hidroksiapatit yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi dengan uji FTIR, XRD dan SEM.

penelitian terbagi menjadi 4 kelompok sintesis:

1. Kelompok sintesis limbah dental gipsum tipe II tanpa pemanasan dan dengan pemanasan dalam variasi waktu sintesis: 20, 30 dan 40 menit
2. Kelompok sintesis limbah dental gipsum dengan berbagai tipe: tipe II, III, dan IV
3. Kelompok sintesis limbah dental gipsum tipe III dengan variasi waktu penyimpanan: 1 tahun dan 3 tahun
4. Kelompok sintesis limbah dental gipsum tipe 2 non sintering, sintering 600⁰C dan sintering 900⁰C

Lokasi penelitian: Laboratorium Kedokteran Gigi Terpadu FKG Universitas Jember dan Jurusan Teknik Kimia Universitas Gadjah Mada, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prosedur Penelitian:

1. Mempersiapkan model gypsum:
 - a. Model gipsum tipe II
 - b. Model gipsum tipe III
 - c. Model gipsum tipe IV
 - d. Model gipsum tipe III yang berusia 1 tahun dan 3 tahun
2. Untuk membuat serbuk *dental gypsum* dilakukan tahapan sebagai berikut:

- a. Membersihkan dan memisahkan model gipsum berdasarkan kelompoknya
 - b. Model gipsum dihancurkan dengan hammer
 - c. Dihaluskan dengan menggunakan blender
 - d. *Sieving* halus dengan ayakan berukuran pori 55 μ m
3. Proses sintesis hidroksiapatit dengan variasi waktu sintesis:
- a. Sampel dental gypsum tipe II dibagi menjadi dua kelompok sampel: tanpa pemanasan dan dengan pemanasan. Kelompok dengan pemanasan: serbuk gipsum dipanaskan dalam furnace dalam suhu 120⁰ C selama 60 menit
 - b. Menimbang DHP dengan neraca digital untuk membuat larutan dengan konsentrasi 0,5M
 - c. Menimbang serbuk gipsum untuk dicampur dengan larutan tersebut, dengan perbandingan 500 mg serbuk dan 40 ml larutan DHP
 - d. Larutan tersebut lalu dimasukkan ke dalam *microwave* dan dipanaskan (proses hidrotermal) pada daya output 400W selama 20, 30, dan 40 menit
 - e. Larutan lalu dicuci dengan menggunakan 500 ml aquades sekaligus disaring dengan menggunakan kertas saring beberapa kali sampai pH netral
 - f. Kemudian serbuk dikeringkan dalam suhu 40⁰C selama 4 jam.

3. Karakterisasi serbuk Hidroksiapatit:

Untuk mengetahui apakah yang dihasilkan itu hidroksiapatit, maka dilakukan karakterisasi dengan menggunakan FTIR dan XRD, lalu membandingkannya dengan hasil FTIR dan XRD dari HAP 200 (Jepang). Untuk mengetahui morfologi dari serbuk hidroksiapatit yang dihasilkan dilakukan karakterisasi dengan menggunakan SEM.

Berdasarkan hasil karakterisasi, dilakukan proses sintesis pada kelompok gipsum berdasarkan tipe gipsum dan usia model gipsum dengan prosedur sebagai berikut:

- a. Sampel dental gypsum tipe II dibagi menjadi dua kelompok sampel: tanpa pemanasan dan dengan pemanasan. Kelompok dengan pemanasan: serbuk gipsum dipanaskan dalam furnace dalam suhu 120⁰ C selama 60 menit

- b. Menimbang DHP dengan neraca digital untuk membuat larutan dengan konsentrasi 0,5M
- c. Menimbang serbuk gipsum untuk dicampur dengan larutan tersebut, dengan perbandingan 500 mg serbuk dan 40 ml larutan DHP
- d. Larutan tersebut lalu dimasukkan ke dalam *microwave* dan dipanaskan (proses hidrotermal) pada daya output 400W selama 20 menit
- e. Larutan lalu dicuci dengan menggunakan 500 ml aquades sekaligus disaring dengan menggunakan kertas saring beberapa kali sampai pH netral
- f. Kemudian serbuk dikeringkan dalam suhu 40°C selama 4 jam.
- g. Pada kelompok sintering, hidroksiapatit hasil sintesis limbah gipsum tipe II selanjutnya disintering 600°C dan 900°C selama 1 jam
- h. Uji karakterisasi FTIR, XRD dan SEM

Tahap II : Uji Sitotoksitas

Penelitian eksperimental laboratoris ini bertujuan untuk melihat toksisitas hidroksiapatit hasil sintesis limbah dental gipsum pada Rat Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cells dengan menggunakan metode MTT assay.

Lokasi Penelitian: Laboratorium Stem Cell, Institute of Tropical Disease Universitas Airlangga

Prosedur penelitian:

1. Ethical clearance dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
2. Pengambilan tulang femur tikus
 - a. 3 ekor tikus wistar dibius menggunakan klorofom kemudian dilakukan disinfeksi pada daerah femur menggunakan alkohol.
 - b. Dilakukan penyayatan melintang pada daerah femur kanan dan kiri hingga tulang femur dapat diambil.
 - c. Tulang femur dibersihkan dan dicuci dengan akuades steril kemudian dimasukkan dalam medium transport dengan komposisi medium α MEM, FBS 20%, Penstrep Fungizon 1%.

- d. Biarkan terendam selama 1 jam.
3. Isolasi dan pembuatan Kultur sel Rat Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cells
 - a. Tulang femur dimasukkan dalam petridish yang berisi PBS
 - b. Kedua kondilus dipotong menggunakan knable tang kemudian bone marrow dikeluarkan menggunakan spuit ke dalam petridish yang berisi medium komplit
 - c. Bone marrow dihancurkan dalam medium hingga homogen dan dimasukkan dalam spuit.
 - d. Secara perlahan, suspensi bone marrow dimasukkan ke dalam tabung setrifuge yang berisi 5 cc ficoll melalui dinding tabung.
 - e. Disentrifugasi dengan kecepatan 1600 rpm selama 30 menit.
 - f. Lapisan buffy coat diambil secara perlahan menggunakan pipet 2-5 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisi medium komplit
 - g. Disentrifugasi 1600 rpm selama 10 menit
 - h. Supernatan dibuang kemudian di sel diresuspensi dengan medium komplit dan dipindahkan ke plate kultur dan diinkubasi dalam suhu 37⁰C dengan CO₂
 - i. setelah 24 jam, medium diganti dengan medium baru
 - j. setelah mencapai 80% konfluen dilakukan passage, sel yang digunakan adalah passage ke-5

2. Uji karakterisasi mesenchymal stem cell

Suspensi sel ditetaskan ke gelas obyek kemudian diinkubasi 24 jam. Setelah 24 jam preparat sel difiksasi dengan alkohol kemudian dicuci dengan aquades steril. Setelah dikeringkan, ditetesi dengan label CD 45 dan CD 105, dibiarkan selama 10 menit kemudian dicuci akuades steril dan dikeringkan. Preparat kemudian diamati dengan mikroskop fluorescence.

3. Uji sitotoksisitas MTT

- a. Serbuk hidroksiapatit hasil sintesis direndam dalam media kultur sel selama 24 jam dan tujuh hari. Hasil perendaman disentrifugasi 2000 rpm selama 10 menit untuk mengendapkan serbuk hidroksiapatit. Sampel yang digunakan adalah supernatan hasil sentrifugasi yang kemudian diencerkan menjadi 3 konsentrasi yang berbeda (1000

µg/ml, 100µg/ml, 10µg/ml). Ekstrak hidroksiapatit komersial digunakan sebagai pembanding.

- b. Dilakukan tripsinasi untuk melepas lapisan sel pada plate kultur. Setiap sumuran pada 96 sumuran microtiter tissue plate diisi suspensi sel dengan kepadatan sel 5×10^3 sel/100µL, media kultur sel kemudian diinkubasi selama 24 jam. Sumuran untuk kelompok perlakuan diberi medium rendaman hidroksiapatit, masing-masing dibuat 3 replikasi. Setelah inkubasi selama 24 jam, tiap sumuran diberi 15µL MTT, dibiarkan selama 4 jam, lalu diberi 100µL DMSO. Setelah itu nilai OD bisa diperoleh menggunakan ELISA plate reader pada panjang gelombang 595 nm. nilai OD digunakan untuk menghitung prosentase kematian sel dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{sel mati} = \frac{\text{OD perlakuan} - \text{OD medium}}{\text{OD kontrol sel} - \text{OD medium}} \times 100\%$$

Penelitian Tahun II

Tahap III: Pembuatan *Scaffold* Hidroksiapatit *dental gypsum*

Penelitian eksperimental ini bertujuan untuk membuat *bone graft* dalam bentuk *scaffold* yang berpori dengan menggunakan sukrosa sebagai porogen. *Scaffold* kemudian dianalisa dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dilanjutkan dengan uji mekanis.

Lokasi penelitian: Laboratorium Kedokteran Gigi Terpadu, Fakultas Teknik Universitas Jember.

Prosedur Penelitian:

1. Hidroksiapatit ditimbang sebanyak 2 gram, dicampur sukrosa sebanyak 1:1 yang berfungsi sebagai porogen untuk membentuk pori
2. Dicampur dan dihomogenkan dengan menggunakan vortex selama lima menit
3. Dimasukkan dalam cetakan stainless steel untuk membuat green body dengan diameter dalam 5 mm dan ketebalan 5 mm.

4. Dikompaksi pada tekanan 10 MPa dengan mesin Tarnoo
5. Disinter pada temperature 1300⁰ C ditahan selama 2 jam dengan kenaikan 5°C per menit
6. Didinginkan pada udara terbuka
7. *Scaffold* dianalisa menggunakan SEM
8. Dilakukan uji mekanis untuk mengetahui kekuatan tekan scaffold.

Tahap IV: Menganalisis secara in vivo pengaruh *bone graft* dari Hidroksiapatit terhadap perbaikan jaringan tulang.

Penelitian eksperimental laboratoris ini bertujuan melihat proses perbaikan jaringan tulang pasca implantasi *bone graft* dari hidroksiapatit Puger pada hewan coba

Hewan coba: Tikus jenis *Sprague dawley* diperoleh dari LPPT Universitas Gadjah Mada. Sebelum penelitian dilakukan, telah diajukan ke komisi etik (*Animal Care and Use Comit e*).

Variabel penelitian:

1. Variabel Pengaruh
 - a. Hidroksiapatit sintesis dari limbah *dental gypsum*
 - b. Waktu pengamatan hari ke -14, 28 dan 56.
2. Variabel terpengaruh
 - a. Jumlah sel osteoblas pada defek tulang tikus *Sprague dawley* setelah implantasi hidroksiapatit.
 - b. Kepadatan kolagen tipe I pada defek tulang tikus *Sprague dawley* setelah implantasi hidroksiapatit

Lokasi Penelitian: Laboratorium Biomedik FKG Universitas Jember

Prosedur Penelitian:

1. Pembedahan tikus

Diawali dengan menggunakan anestesi secara intra muscular dengan menggunakan ketamin hidroklorida (dosis sebesar 8 mg per 100 gram berat badan). Pencukuran bulu tikus dilakukan terlebih dahulu pada daerah yang akan dibuat insisi untuk meningkatkan ketepatan dan visibilitas selama tindakan. Setelah tikus teranestesi, dilakukan pembuatan flap dengan tipe *full thickness*, kemudian dilakukan pembuatan defek tulang dengan menggunakan bur tulang dengan diameter 5 mm dan kedalaman 5 mm. Irigasi dilakukan menggunakan larutan fisiologis NaCl untuk mempertahankan viabilitas jaringan serta menghilangkan debris tulang dan darah.

2. Implantasi *bone graft*

Implantasi dilakukan dengan memasukkan *bone graft* ke dalam defek tulang. Luka kemudian ditutup kembali dan dijahit dengan menggunakan *chromic cat gut 0,4*. Pemberian antibiotik dengan Levofloxacin secara intra oral dengan cara sondasi dengan dosis 20mg/kg berat badan 1 kali per hari selama 5 hari dan analgesik dengan parasetamol secara intra oral dengan cara sondasi dengan dosis 36 mg/kg berat badan selama 3 hari. untuk mencegah terjadinya infeksi dan mengurangi rasa sakit. Obat tersebut dipilih karena tidak mempengaruhi proses penyembuhan tulang sebagai variabel dalam penelitian.

3. Preparasi jaringan tulang

Pada hari ke-14, 28, dan 56, dilakukan dekapitasi tikus sejumlah 6 ekor pada tiap-tiap kelompok, tulang femur diambil $\pm 0,5$ cm di sekitar daerah perlakuan pada dan difiksasi dalam larutan *buffered* formalin 10% dengan pH 7,4 selama 24 jam. Jaringan kemudian didekalsifikasi selama 1 minggu dengan menggunakan larutan *asam formiat 10 %*.

4. Pembuatan sediaan histologis

- a. Proses dehidrasi yaitu proses yang dilakukan untuk menghilangkan sisa-sisa larutan fiksatif, larutan dekalsifikasi, dan kandungan air di dalam jaringan. Proses dilakukan dengan cara memasukkan jaringan ke dalam serial larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat dari 70% selama 15 menit, 80% dan 95% masing-masing selama 1 jam kemudian dimasukkan ke dalam alkohol absolut I, alkohol absolut II dan alkohol absolut III masing-masing selama 1 jam.
- b. Proses penjernihan (*clearing*) yaitu proses pengambilan sisa-sisa alkohol dari jaringan setelah proses dehidrasi selesai. Proses dilakukan dengan cara memasukkan

- sampel jaringan ke dalam larutan xylol I selama 1 jam, xylol II selama 2 jam, dan xylol III selama 2 jam setelah itu dibilas dengan air mengalir.
- c. Proses infiltrasi parafin (impregnasi) yaitu proses memasukkan parafin kedalam rongga-rongga jaringan tulang agar jaringan tersebut mudah dipotong secara utuh dengan menggunakan mikrotom. Proses dilakukan dengan memasukkan jaringan ke dalam parafin cair I, II dan III dengan suhu 57⁰C-59⁰C masing-masing selama 2 jam.
 - d. *Embedding* yaitu proses pemasukan jaringan ke dalam parafin cair yang sudah ada di balok cetakan agar memudahkan proses pemotongan dengan mikrotom, proses dilakukan hingga parafin mengeras kemudian dikeluarkan dari balok cetakan dan diberi label.
 - e. Pemotongan yaitu memotong jaringan menggunakan mikrotom manual sehingga menghasilkan lembaran potongan setebal 6 μ m. Hasil irisan kemudian diletakkan di atas *waterbath* bersuhu 50⁰C dan dilakukan pengambilan *object glass* yang sebelumnya sudah dilapisi dengan *egg albumin* kemudian diberi label.
 - f. Penempelan jaringan dengan menggunakan *object glass* yaitu dengan cara meletakkan *object glass* yang sudah ada jaringan di atasnya pada sebuah *hot plate/ slide warmer* bersuhu 37⁰C selama 30 menit dan kemudian dimasukkan ke dalam oven 37⁰C selama 24 jam agar air di dalamnya menguap sehingga jaringan menempel.
5. Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)
- a. Dilakukan deparafinisasi pada irisan jaringan dengan *xylol* selama 5 menit kemudian dibilas dengan air mengalir.
 - b. Kemudian dilakukan rehidrasi dengan serial alkohol 95%, 90%, 80% dan 70% masing-masing 2 menit.
 - c. Perendaman irisan jaringan dalam cat hematoksilin selama 3-7 menit dalam suhu kamar lalu dicuci dengan air mengalir. Irisan jaringan diamati dengan mikroskop untuk memastikan inti sel sudah tercat dengan baik.
 - d. Kemudian irisan jaringan direndam dalam eosin selama 2 menit lalu dicuci dengan air mengalir.
 - e. Irisan jaringan dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90% dan 95% kemudian dikeringkan.

- f. Kemudian dilakukan proses *clearing* yaitu dengan cara merendam irisan jaringan di dalam *xylol* selama 3 menit.
- g. Kemudian dilakukan proses *mounting* yaitu preparat diberikan canada balsem dan ditutup dengan gelas penutup.
- h. Sediaan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x, dengan menghitung jumlah osteoblas pada 6 lapang pandang yang berbeda dan dilakukan oleh 3 orang.
- i. Data jumlah osteoblas merupakan rerata dari jumlah osteoblas dari 6 lapang pandang.

6. Pewarnaan *Trichrom Mallory*

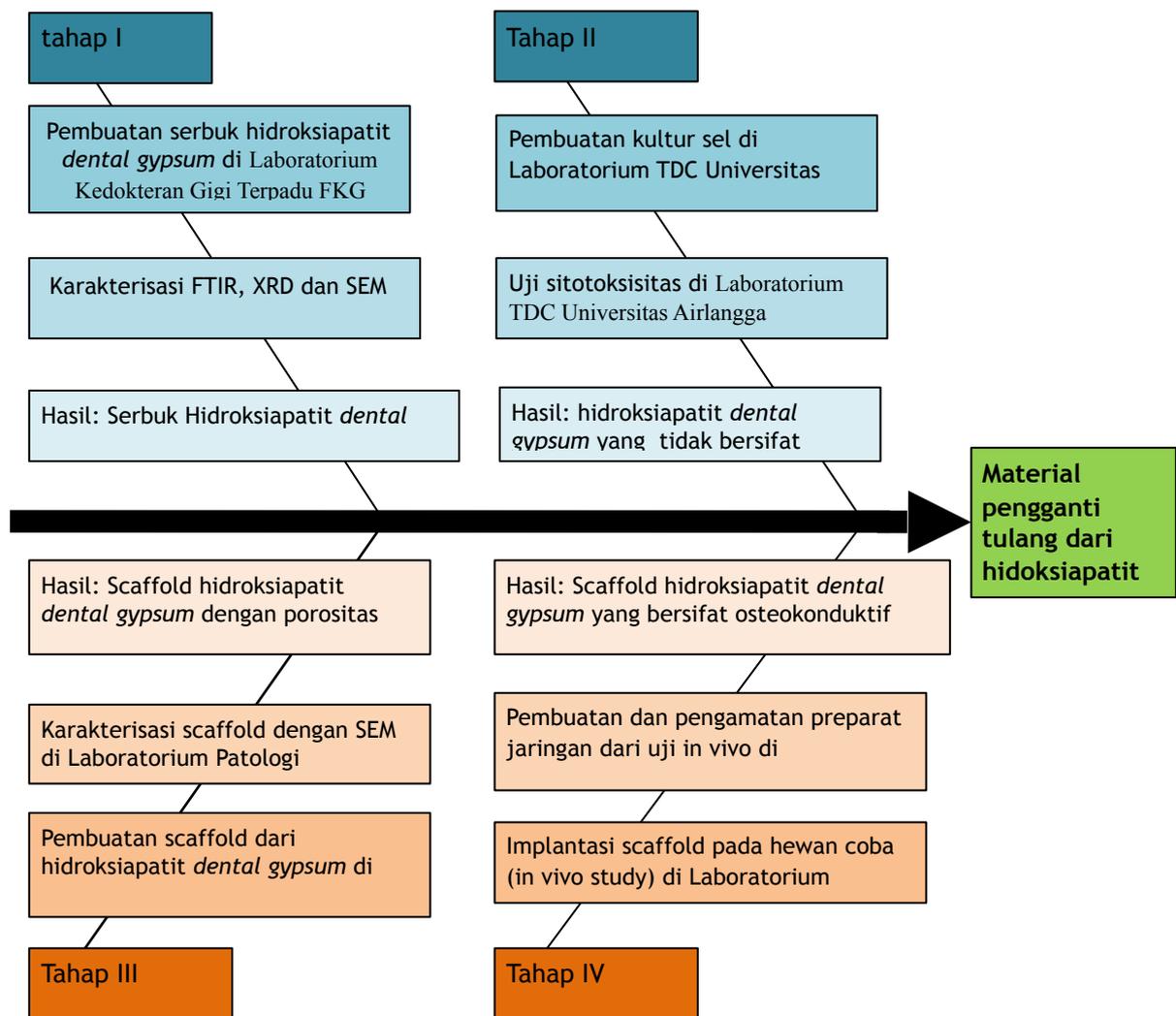
- a. Dilakukan deparafinisasi pada irisan obyek glas jaringan dengan *xylol* selama 5 menit kemudian dibilas dengan air mengalir.
- b. Kemudian obyek glas jaringan dimasukkan ke dalam dalam alkohol bertingkat (100%, 96% dan 70%) masing-masing selama 2 menit dan obyek glass dicuci dengan air mengalir
- c. Obyek glas direndam ke dalam larutan mallory 1 yang berisi *acid fuchsin* 0,5 gr dan *aquadest* 100 cc selama 3 menit kemudian dicuci dengan air mengalir.
- d. Obyek glas kemudian direndam ke dalam larutan mallory 2 yang berisi *phosphomolibdic acid* 1 gr dan *aquades* 100cc selama 5 menit kemudian dicuci dengan air mengalir.
- e. Obyek glas kemudian direndam ke dalam larutan mallory 3 yang berisi aniline blue 0,5gr, *orange G* 2,0 gr *oxalid acid* 1,0 gr dan *aquades* 100cc selama 2 menit kemudian dicuci dengan air mengalir.
- f. Irisan jaringan dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat 70%, 95% dan 100% kemudian dikeringkan.
- g. Kemudian dilakukan proses *clearing* pada jaringan dengan cara direndam dalam *xylol* selama 3 menit.
- h. Kemudian dilakukan proses *mounting* menggunakan canada balsem dan ditutup dengan gelas penutup.
- i. Sediaan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x, dengan menghitung kepadatan kolagen tipe I pada 6 lapang pandang berbeda dan dilakukan oleh 3 orang

j. Data kepadatan kolagen tipe I merupakan rerata dari 6 lapang pandang yang berbeda.

k. Skor pengamatan kepadatan kolagen tipe I ditulis dengan menggunakan skala ordinal berkisar antara 0 hingga 3 (Mawardi, 2002) dengan ketentuan :

1. = Tidak ada kolagen tipe I
2. = Kepadatan kolagen tipe I sedikit (+)
3. = Kepadatan kolagen tipe I sedang (++)
4. = Kepadatan kolagen tipe I tinggi (+++)

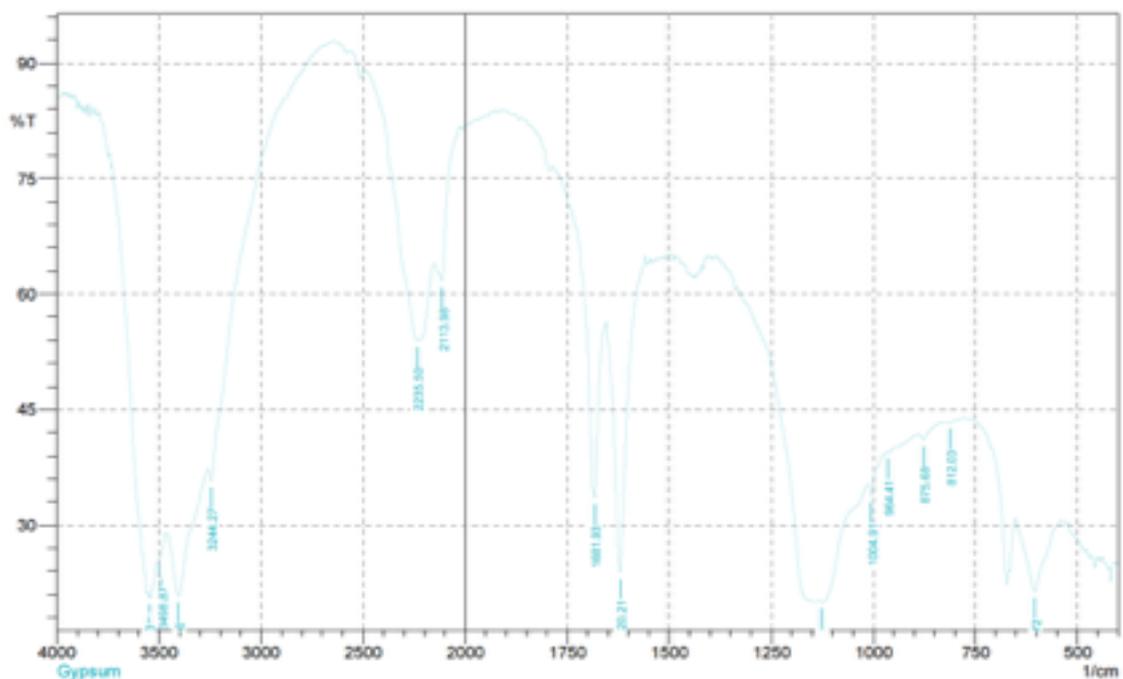
DIAGRAM ALIR PENELITIAN



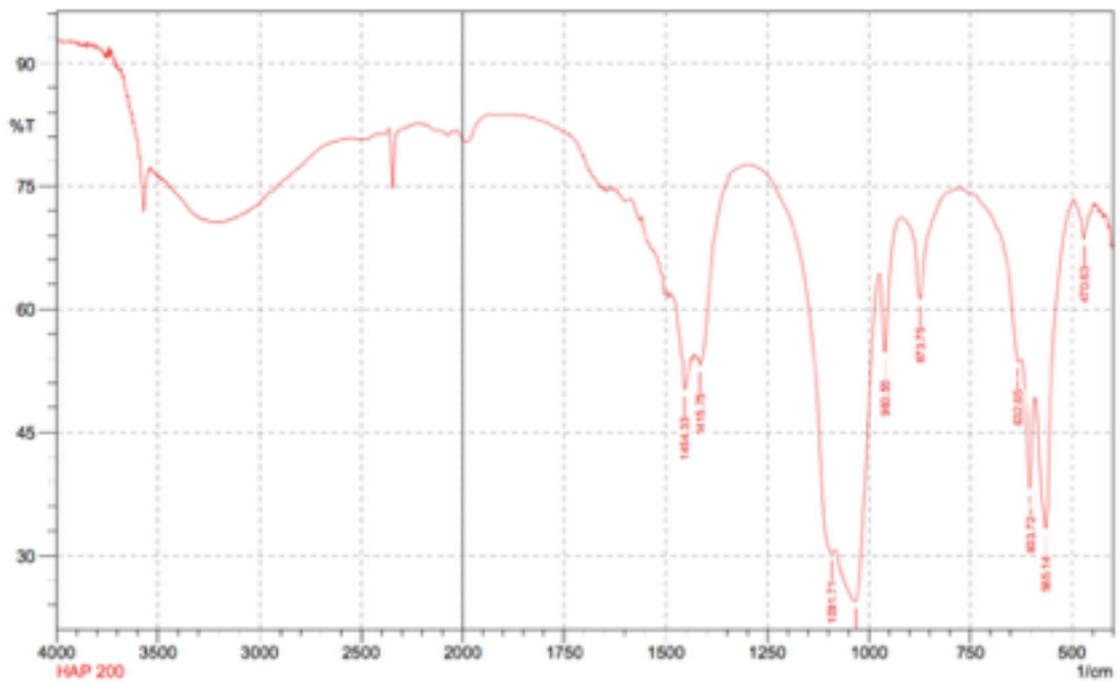
BAB 5. HASIL YANG DICAPAI

Penelitian telah dilakukan sejak bulan Maret 2015 bertempat di Laboratorium Teknologi Kedokteran Gigi FKG Unej. Kelompok sampel pertama adalah serbuk gipsum yang telah dipreparasi dari limbah dental gypsum tipe II yang terbagi menjadi kelompok tanpa pemanasan dan dengan pemanasan. Serbuk gipsum dan Diammonium Hidrogen Phosphat (DHP) disintesa menjadi hidroksiapatit (hidroksiapatit-DG tipe II) menggunakan metode hydrothermal dengan variasi waktu pemrosesan. Setelah menghasilkan serbuk hidroksiapatit, dilakukan uji karakterisasi menggunakan FTIR, XRD dan SEM.

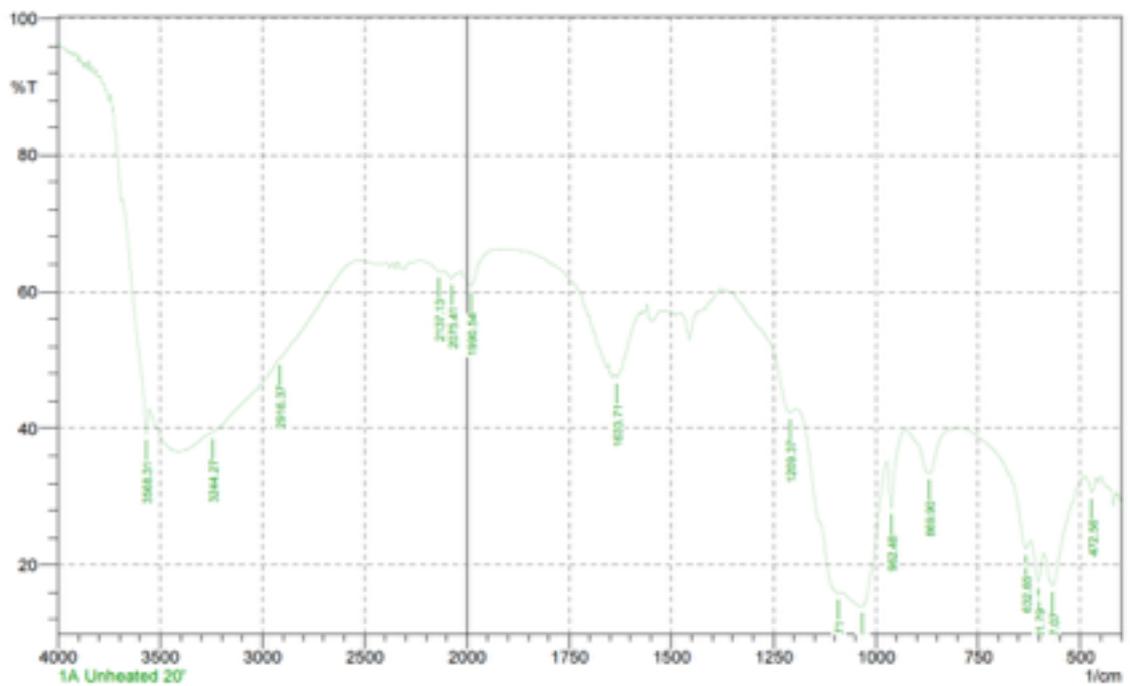
Hasil uji FTIR pada sampel serbuk limbah dental gypsum dan hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tipe II dengan variasi waktu sintesis dan HAP 200 sebagai pembanding dapat dilihat pada gambar 4- 13



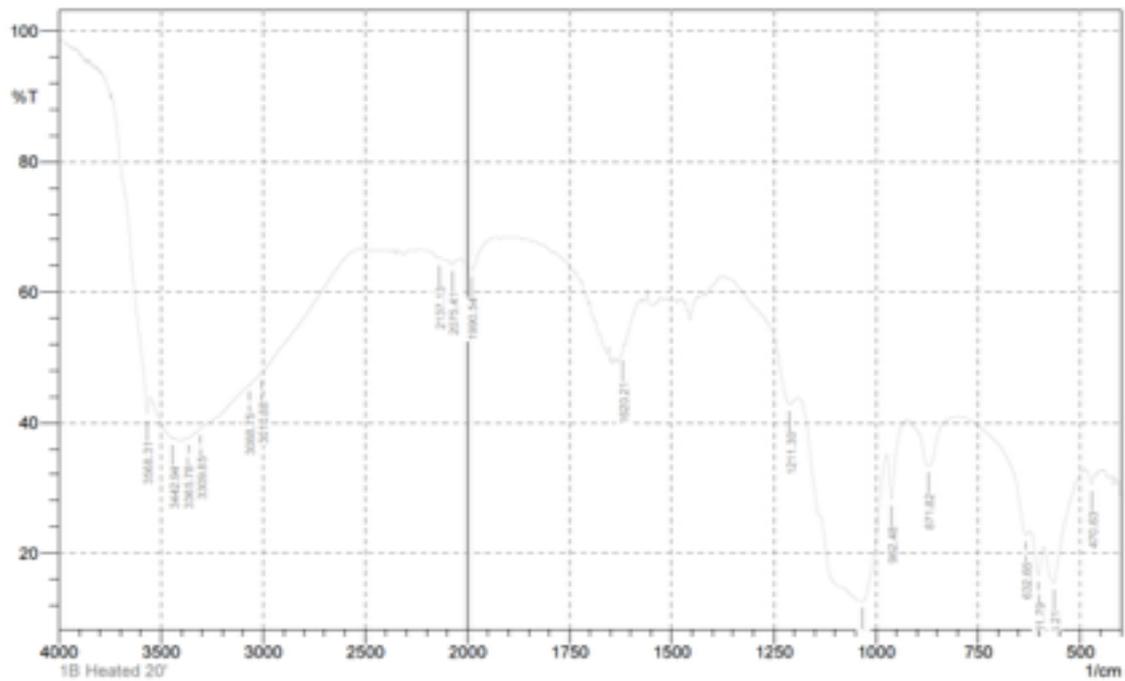
Gambar 4. Spektra FTIR Serbuk Limbah Dental Gypsum



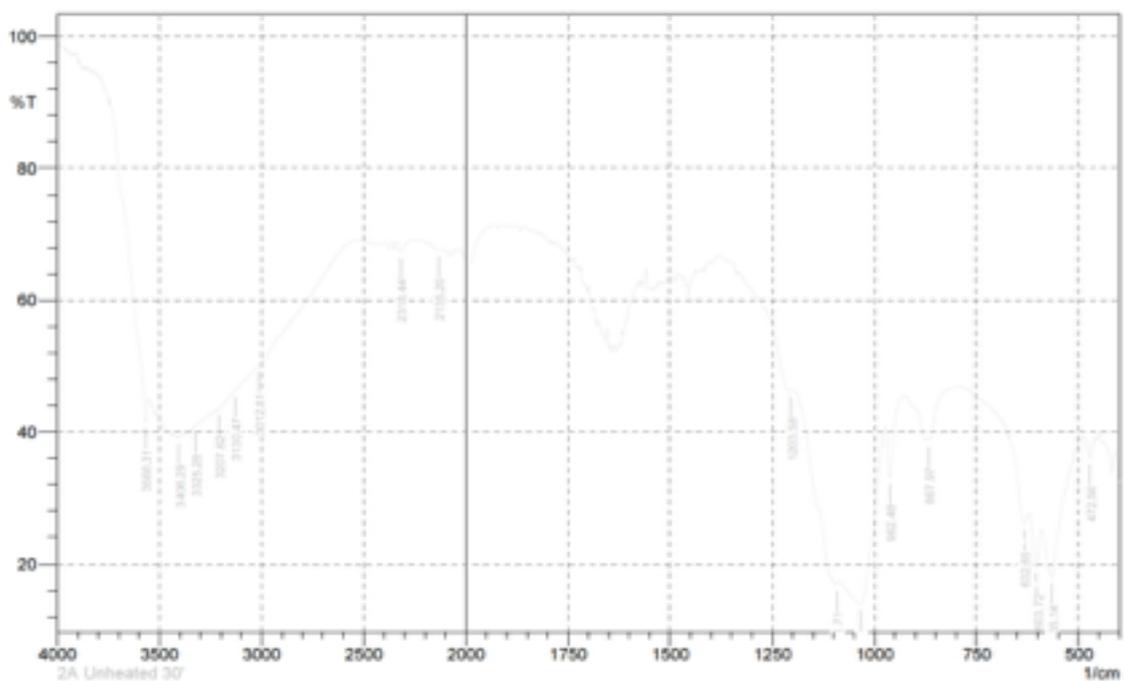
Gambar 5. Spektra FTIR Serbuk hidroksiapatit HAP 200



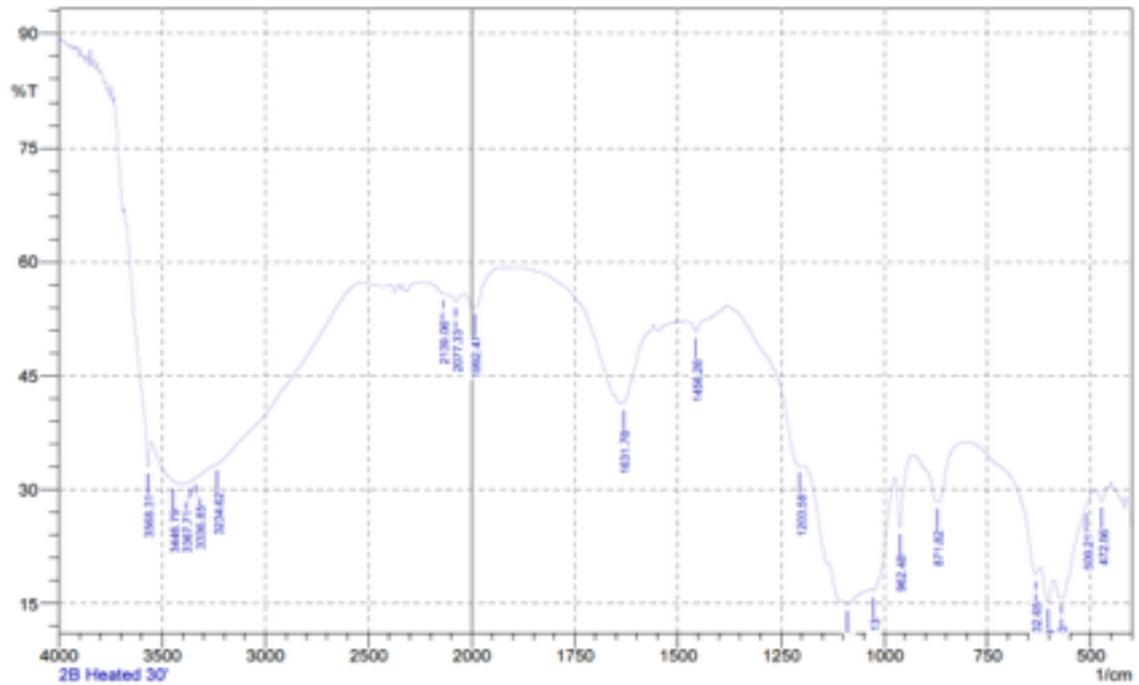
Gambar 6. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 20 menit



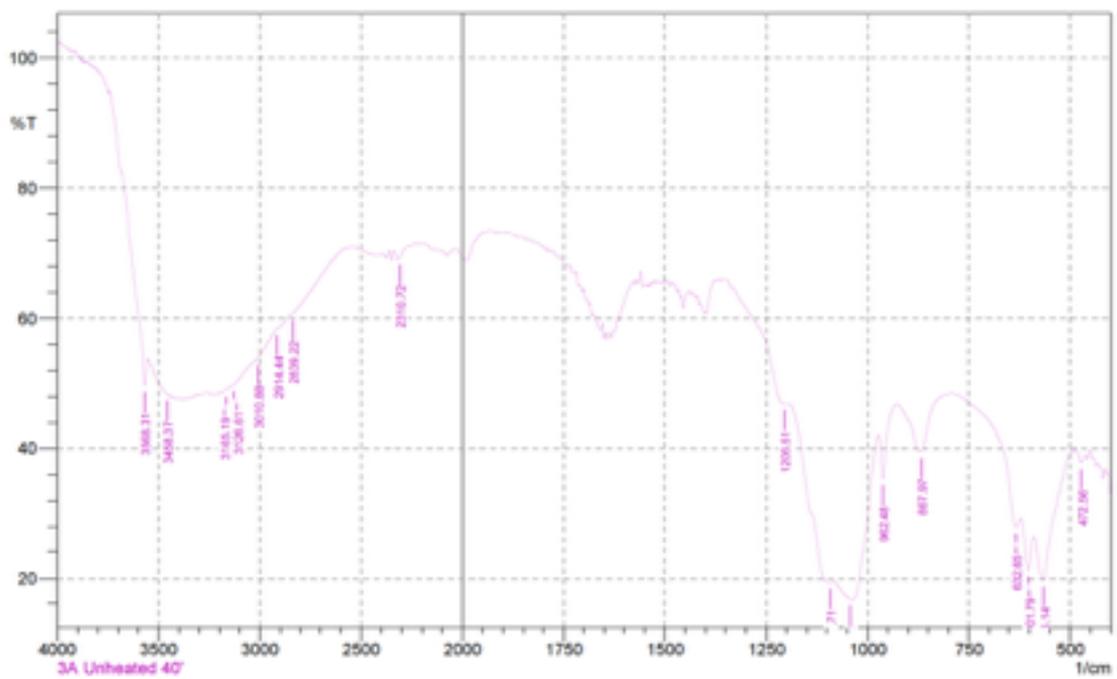
Gambar 7. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 20 menit



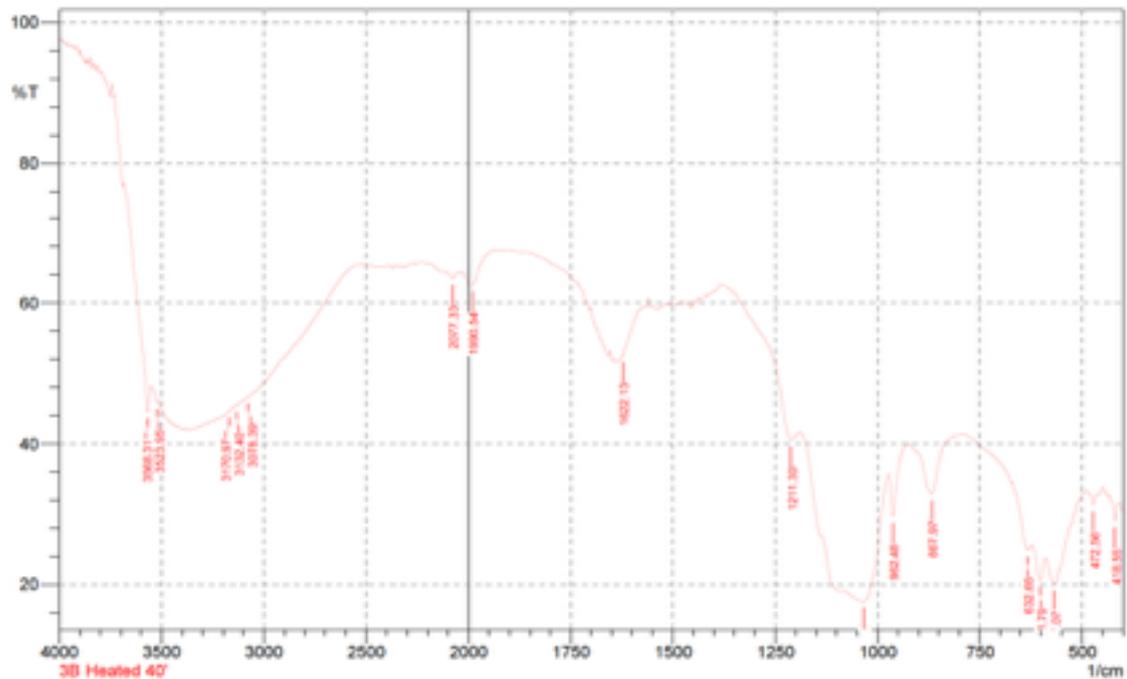
Gambar 8. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 30 menit



Gambar 9. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 30 menit



Gambar 10. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 40 menit



Gambar 11. Spektra FTIR serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 40 menit

Secara umum spectra FTIR pada HA sintesis mengindikasikan adanya ion- ion fosfat (PO_4^{3-}), hidroksil (OH^-) dan karbonat (CO_3^{2-}) yang identik dengan HA komersil. Akan tetapi gugus karbonat pada HA komersil didapatkan dengan intensitas yang lebih tinggi. Data lengkap peak yang muncul pada karakterisasi FTIR dapat dilihat di tabel 1.

Tabel 1. Data puncak spektra FTIR menunjukkan gugus fungsi dan senyawa yang dimiliki gipsum, HA 200 Jepang, hidroksiapatit sintesis gipsum kedokteran gigi tipe II dengan variasi waktu sintesis

Jenis Ion	Panjang Gelombang (cm-1)							
	Gypsum	Hap 200	unheated 20'	Unheated 30'	unheated 40'	heated 20'	heated 30'	heated 40'
Ca-O / Karbonat (CO ₃ ²⁻)*	812.03	1415,75*	1633.71			1620.21	1456.26	
	875.68	1454,33*					1631.78	
	1004.91							
Fosfat (PO ₄ ³⁻)		470.63	472.56	472.56	472.56	470.63	472.56	418.55
		565.14	567.07	565.14	565.14	563.21	509.21	472.56
		603.72	601.79	603.72	601.79	601.79	570.93	567.07
		632.65	632.65	632.65	632.65	632.65	601.79	601.79
		873.75	869.9	867.97	866.04	871.82	632.65	632.65
		960.55	962.48	962.48	962.48	962.48	871.82	867.97
		1033.85	1033.85	1033.85	1041.56	1033.85	962.58	962.48
		1091.71	1091.71	1091.71	1091.71	1211.3	1026.13	1033.85
			1209.37	1203.58	1205.51		1087.85	1211.3
							1203.58	
Hidroksil (OH ⁻)	3244.27		3244.27	3012.81	3010.88	3010.88	3234.62	3078.39
	3404.36		3568.31	3130.47	3126.61	3068.75	3336.85	3132.4
	3498.87			3207.62	3165.19	3309.85	3367.71	3170.97
	3543.23			3325.28	3458.37	3365.78	3446.79	3523.95
				3406.29	3568.31	3442.94	3568.31	3568.31
				3568.31		3568.31		
Sulfat (SO ₄)			1990.54	2135.2	2310.72	1990.54	1992.47	1990.54
			2075.41	2318.44		2075.41	2077.33	2077.33
			2137.13			2137.13	2139.06	
hidrogenfosfat (HPO ₄)			2916.37		2839.22			
					2914.44			

Hasil yang didapat berupa serbuk yang diduga merupakan hidroksiapatit yang dapat digunakan sebagai *bone graft*. Serbuk gipsum kedokteran gigi tipe II memiliki warna putih, setelah disintesis menghasilkan serbuk berwarna putih.

Uji karakterisasi dengan menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) yaitu bertujuan untuk menentukan ikatan molekul dan gugus fungsi dari suatu bahan. Dari hasil analisa data FTIR menunjukkan adanya kristalinitas hidroksiapatit yang dapat diketahui

melalui adanya ion fosfat (PO_4^{3-}) pada masing-masing kelompok. Untuk menemukan ion fosfat pada hidroksiapatit menurut mulyaningsih (2007) terbagi menjadi 4 mode vibrasi, yaitu :

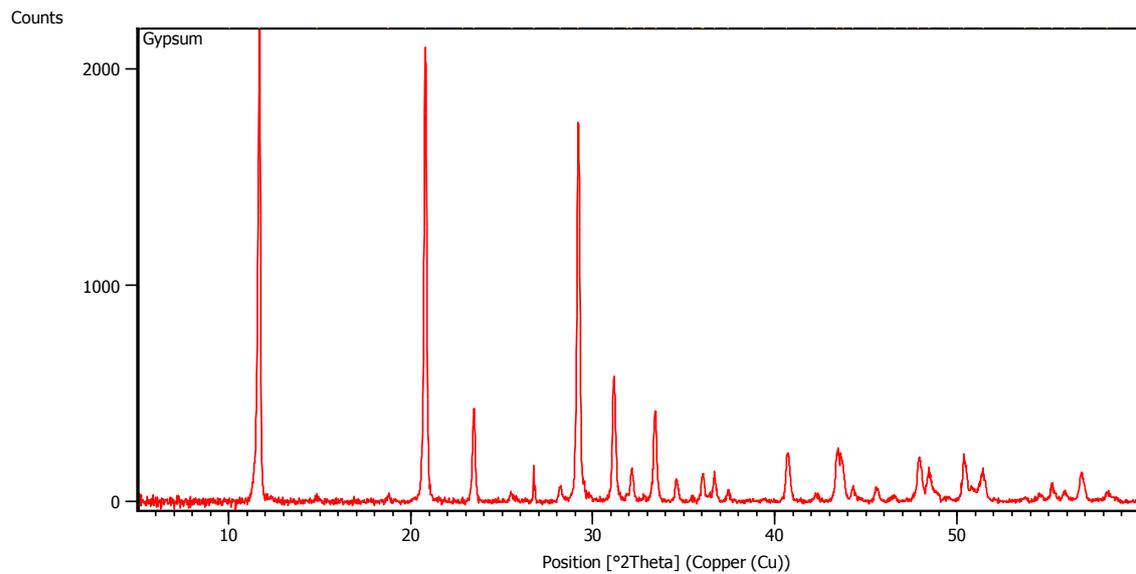
1. Vibrasi *stretching* (ν_1), dengan bilangan gelombang sekitar 956 cm^{-1} .
2. Vibrasi *bending* (ν_2), dengan bilangan gelombang sekitar 363 cm^{-1} .
3. Vibrasi asimetri *stretching* (ν_3), dengan bilangan gelombang sekitar 1030 sampai 1090 cm^{-1} .
4. Vibrasi antisimetri *bending* (ν_4), dengan bilangan gelombang sekitar 562 sampai 603 cm^{-1} dalam bentuk pita belah dan merupakan pita terkuat.

Pada kelompok limbah gipsum tipe II ditemukan pada bilangan gelombang 472.56 cm^{-1} , 567.07 cm^{-1} , 601.79 cm^{-1} , 632.65 cm^{-1} , 869.9 cm^{-1} , 962.48 cm^{-1} , 1033.85 cm^{-1} , 1091.71 cm^{-1} , dan 1209.37 cm^{-1} dengan intensitas yang tinggi. Sedangkan pembandingnya yaitu HAp 200 ditemukan pada bilangan $470,63 \text{ cm}^{-1}$, $565,14 \text{ cm}^{-1}$, $603,72 \text{ cm}^{-1}$, $632,65 \text{ cm}^{-1}$, $873,75 \text{ cm}^{-1}$, $960,55 \text{ cm}^{-1}$, $1033,85 \text{ cm}^{-1}$, dan $1091,71$. Dari hasil tersebut terdapat kesamaan dari masing-masing kelompok terhadap hasil bilangan gelombang HAp 200 sebagai pembanding.

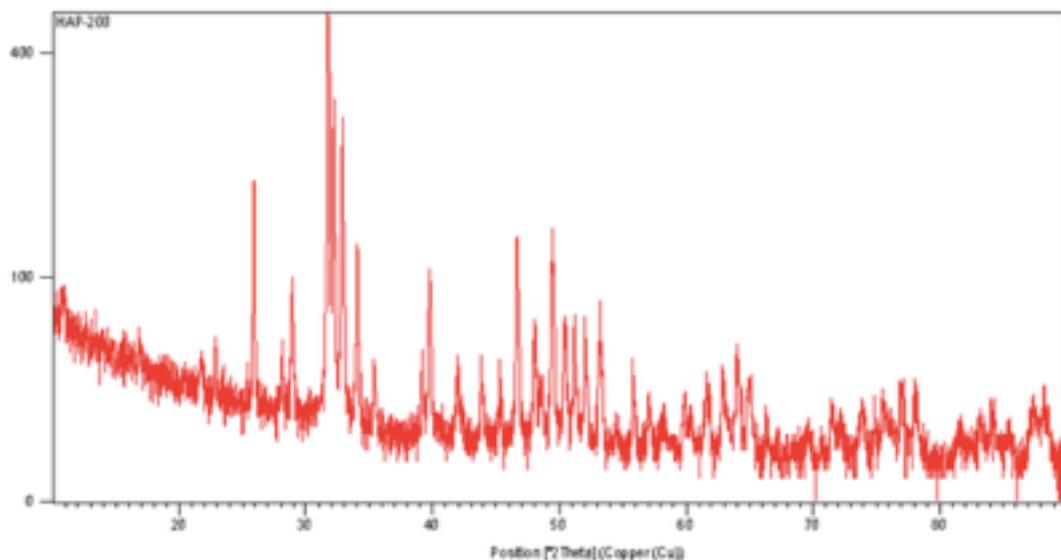
Selain ditemukannya ion fosfat juga ditemukan ion karbonat (CO_3^{2-}) dan ion hidroksil (OH^-). Pada limbah gipsum tipe II ion karbonat ditemukan pada bilangan 1633.71 cm^{-1} dan 1990.54 cm^{-1} . Untuk ion hidroksil ditemukan pada bilangan 2075.41 cm^{-1} , 2137.13 cm^{-1} , 2916.37 cm^{-1} , 3244.27 cm^{-1} , dan 3568.31 cm^{-1} . Sedangkan pada HAp 200 ditemukan ion karbonat sebagai karbonatapatit pada bilangan gelombang $1415,75 \text{ cm}^{-1}$ dan $1454,33 \text{ cm}^{-1}$ dan tidak ditemukan ion hidroksil yang dikarenakan tidak ada atau rendahnya kadar ion hidroksil dalam HAp 200. Menurut Pattanayak, dkk (2005) ion karbonat jika ditemukan pada hidroksiapatit berada pada bilangan gelombang 1400 sampai 1700 cm^{-1} . Menurut Soejoko, dkk (2011) ion OH^- muncul disekitar bilangan gelombang 3400 cm^{-1} dan jika muncul dengan intensitas rendah menunjukkan hanya terdapat sedikit kandungan H_2O sehingga sampel benar-benar kering. Data diatas menunjukkan bahwa terdapat kemiripan antara masing-masing kelompok dengan HAp 200 namun masih ditemukannya ion hidroksil pada masing-masing kelompok yang menandakan sampel belum benar-benar kering atau masih terdapat kandungan air.

Uji karakterisasi XRD dilakukan untuk mengetahui fasa-fasa yang muncul pada masing-masing material. Dilakukan perbandingan antara peak-peak yang muncul pada HA sintetis dengan HA stokiometri (JCPDS 09-432) dan HA komersial (HA-200). Hasil analisis XRD juga dapat menentukan fasa-fasa lain seperti gipsum.

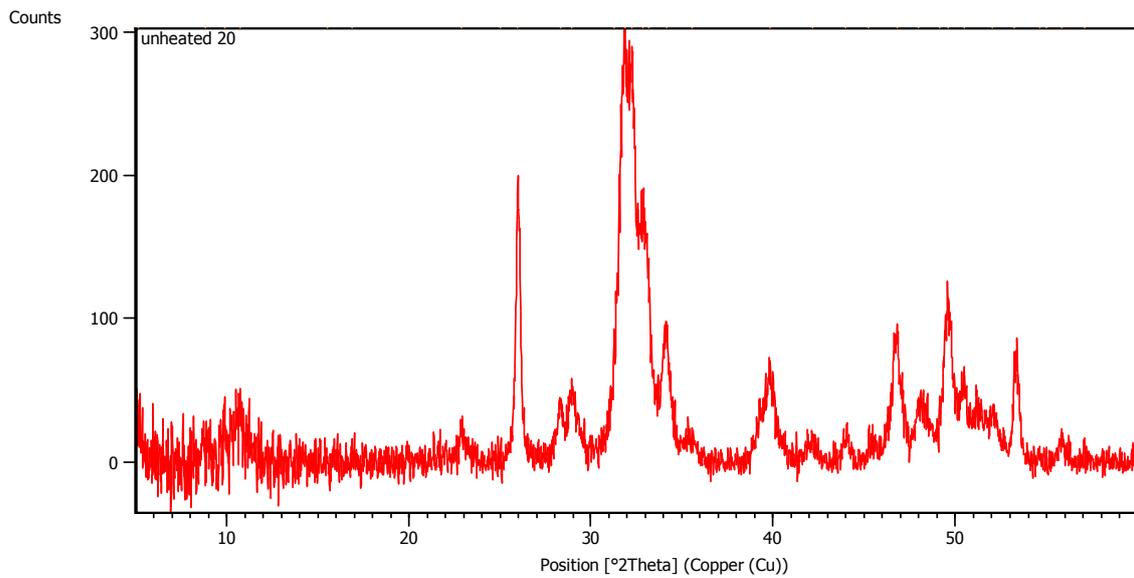
Hasil karakterisasi menggunakan XRD dapat dilihat pada gambar 14- 23



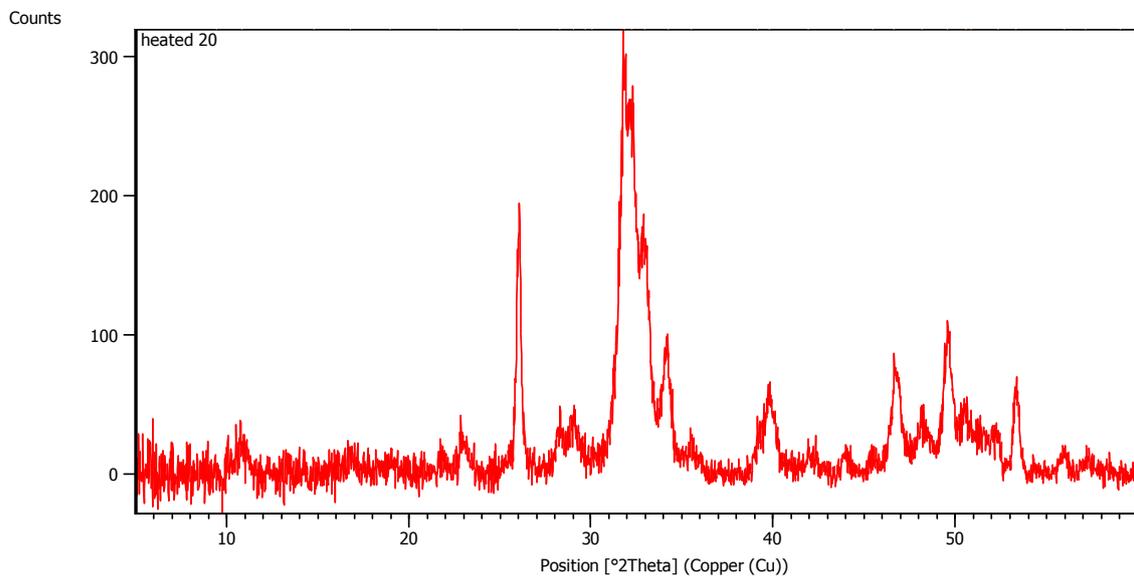
Gambar 12. Pola XRD serbuk limbah dental gypsum



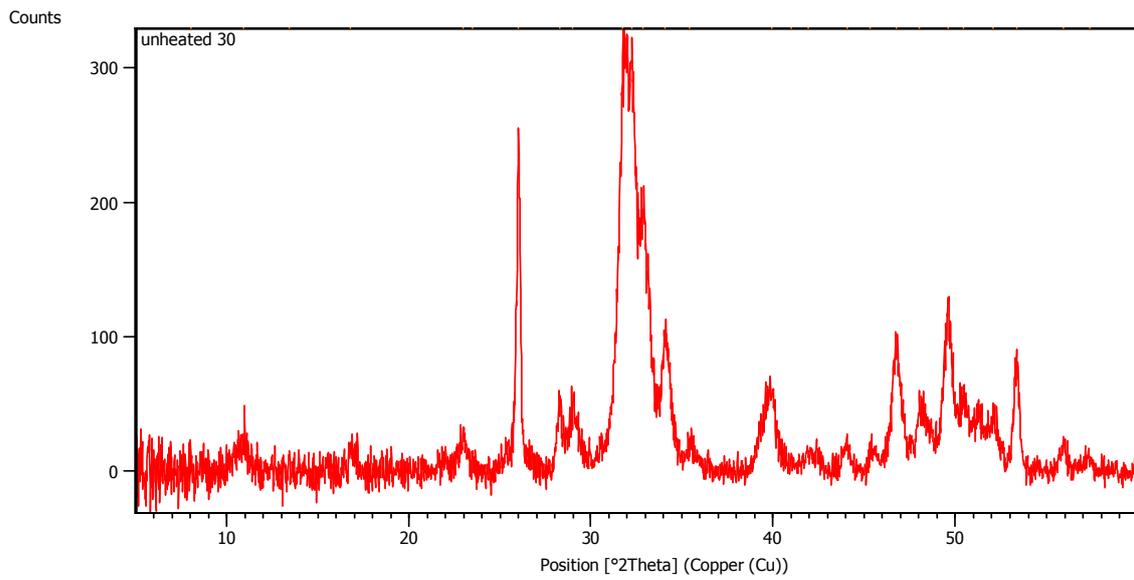
Gambar 13. Pola XRD hidroksiapatit HAP 200



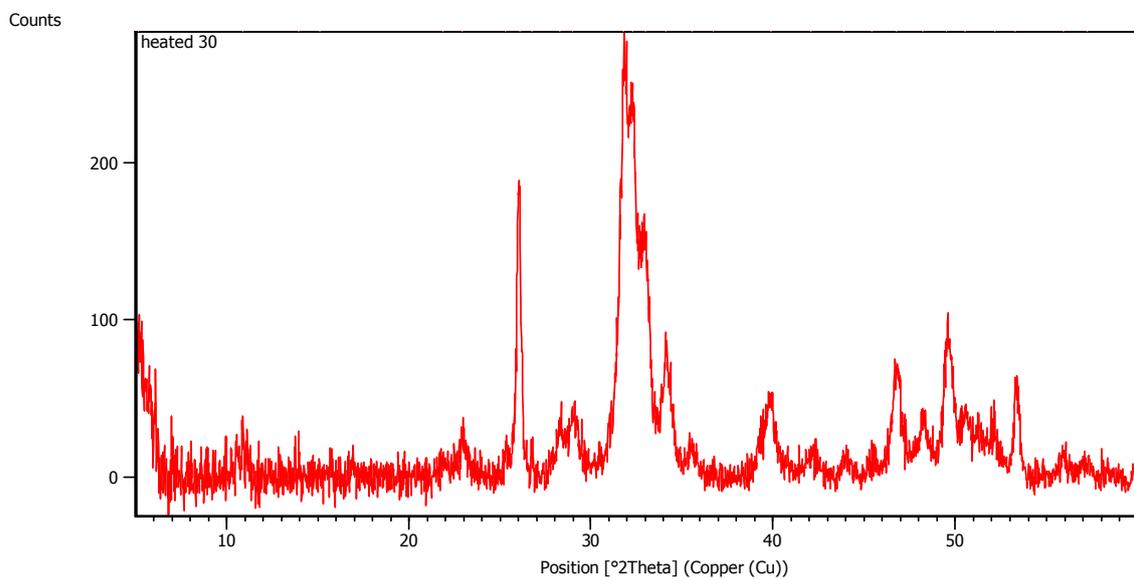
Gambar 14. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 20 menit



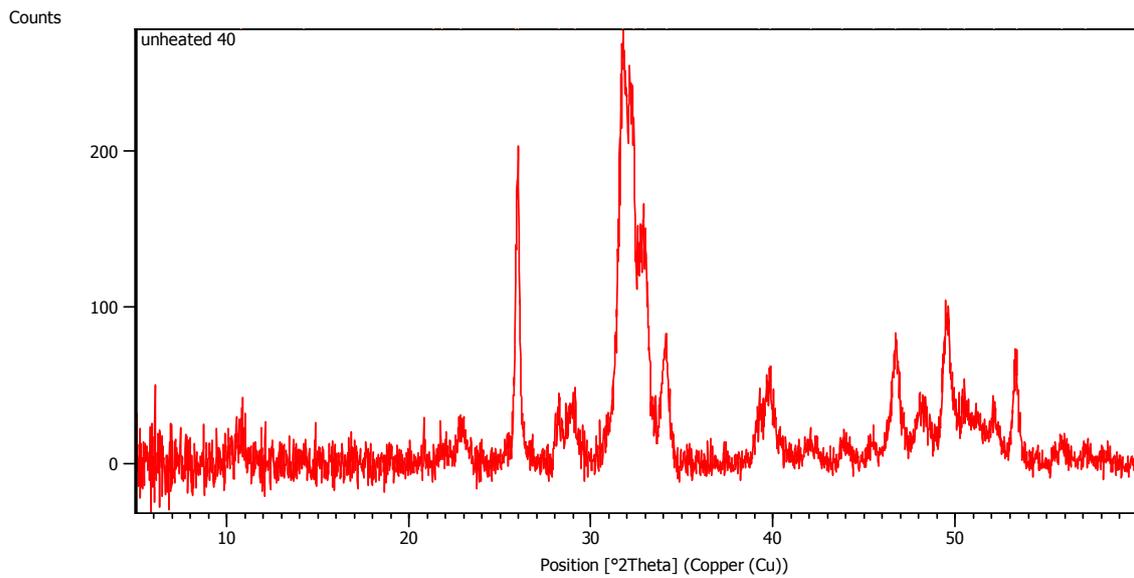
Gambar 15. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 20 menit



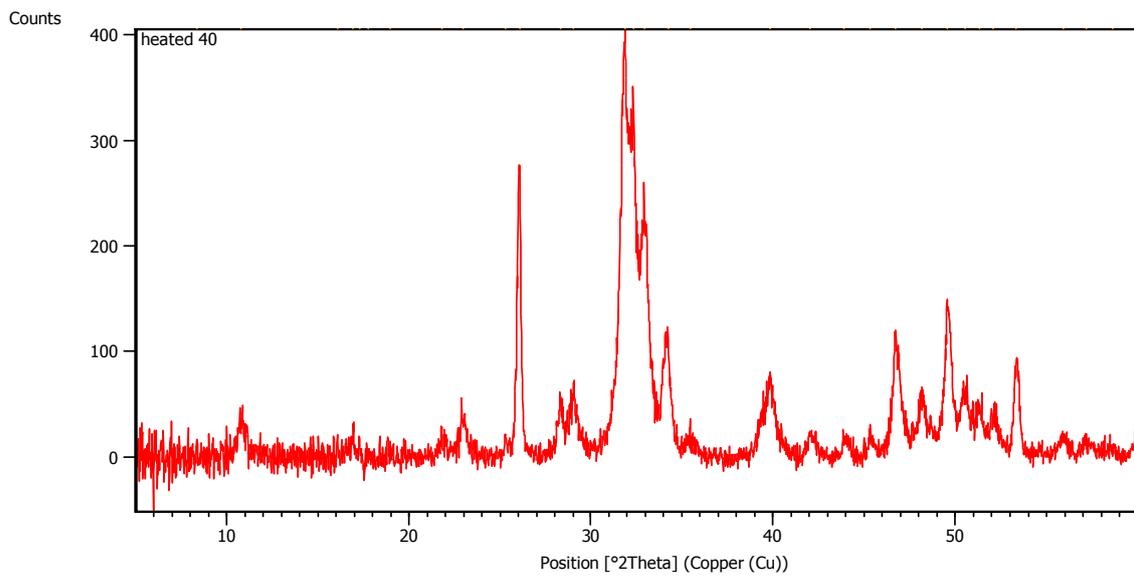
Gambar 16. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 30 menit



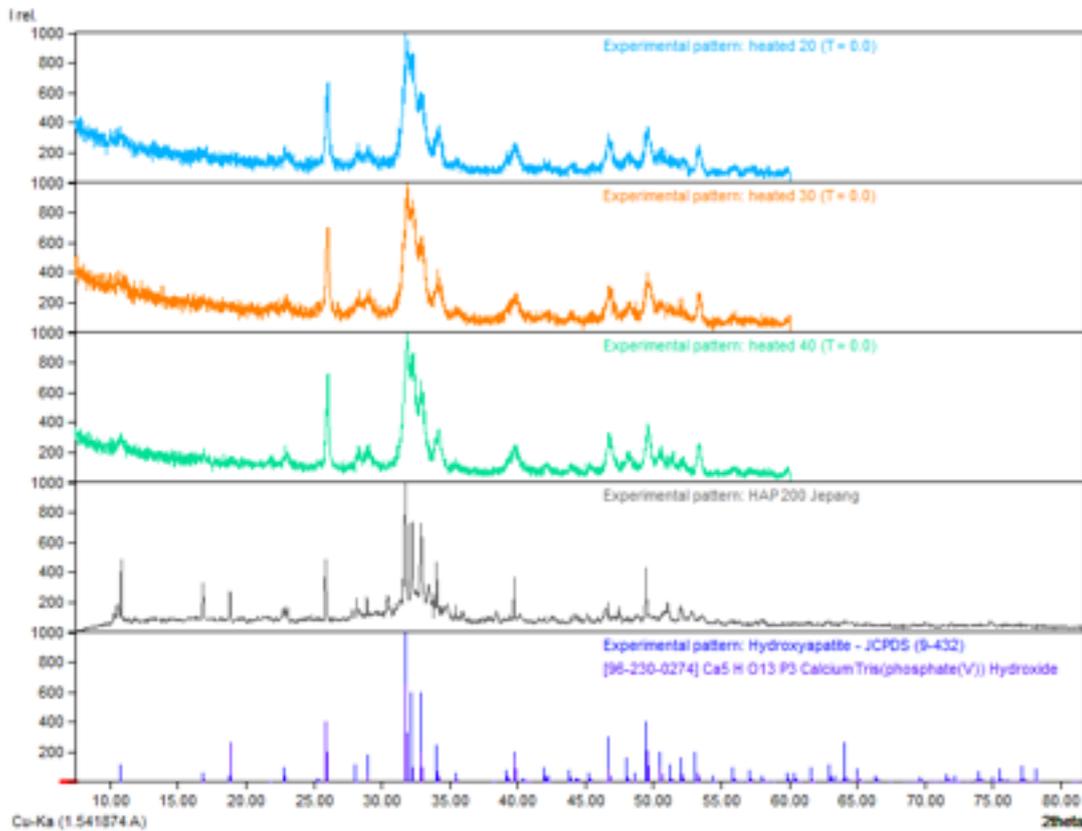
Gambar 17. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 30 menit



Gambar 18. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 40 menit



Gambar 19. Pola XRD serbuk hidroksiapatit hasil sintesa limbah dental gypsum dengan pemanasan dengan waktu sintesa 40 menit



Gambar 20 Grafik perbandingan hasil karakterisasi XRD hidroksiapatit-DG tipe II tanpa pemanasan 20 menit (biru muda), hidroksiapatit-DG tipe II tanpa pemanasan 30 menit (jingga), hidroksiapatit-DG tipe II tanpa pemanasan 40 menit (hijau), HAP 200 (hitam), dan HA JCPDS 9 – 432 (biru).

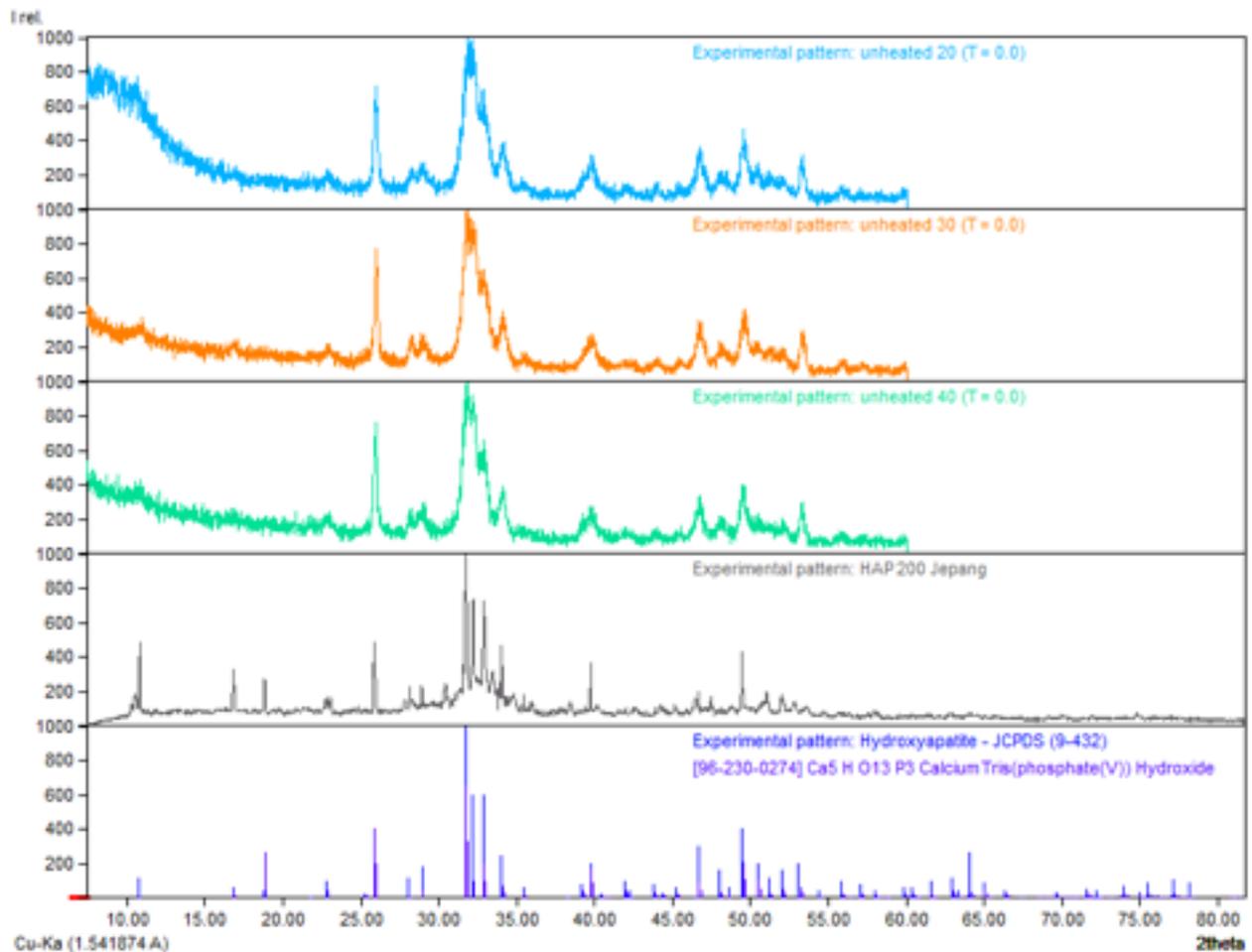
Tabel 2. Perbandingan posisi peak XRD hidroksiapatit-DG tipe II tanpa pemanasan dengan Hap 200 dan HA JCPDS 9 – 432.

	Bidang krisal (hkl)					
	(002)	(121)	(300)	(202)	(130)	(222)
Hidroksiapatit unheated 40'	25,95	31,87	32,94	33,80	39,79	46,75
Hidroksiapatit unheated 30'	25,94	31,94	32,99	34,05	39,92	46,71
Hidroksiapatit unheated 20'	25,91	31,99	32,83	34,06	39,73	46,71
Hap 200	25,85	31,72	32,88	34,06	39,75	46,45

HA JCPDS 9-432	25,85	31,71	32,84	33,99	39,76	46,65
-------------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tabel 3. Data hasil kuantitatif yang menunjukkan struktur dan bentuk kristal hidroksiapatit-DG tipe II tanpa pemanasan, HAp 200 dan HA JCPDS 9 – 432

Hasil analisa	Hidroksiapatit unheated 40'	Hidroksiapatit unheated 30'	Hidroksiapatit unheated 20'	Hap 200	HA JCPDS 9-432
Bentuk kristal	heksagonal	heksagonal	heksagonal	heksagonal	heksagonal
Parameter kisi	a= 9.4394 Å c= 6.8861 Å	a= 9.4394 Å c= 6.8861 Å	a= 9.4394 Å c= 6.8861 Å	a= 9.4394 Å c= 6.8861 Å	a= 9.4081 Å c= 6.8887 Å



Gambar 21. Grafik perbandingan hasil karakterisasi XRD hidroksiapatit-DG tipe II dengan pemanasan 20 menit (biru muda), hidroksiapatit-DG tipe II dengan pemanasan 30 menit

(jingga), hidroksiapatit-DG tipe II dengan pemanasan 40 menit (hijau), HAP 200 (hitam), dan HA JCPDS 9 – 432 (biru).

Tabel 4. Perbandingan posisi peak XRD hidroksiapatit-DG tipe II dengan pemanasan dengan HAp 200 dan HA JCPDS 9 – 432

	Bidang krisal (hkl)					
	(002)	(121)	(300)	(202)	(130)	(222)
Hidroksiapatit heated 40'	25,97	32,32	33,06	34,09	39,73	46,69
Hidroksiapatit heated 30'	26,10	32,97	34,22	35,40	41,84	48,44
Hidroksiapatit heated 20'	25,80	31,70	32,70	33,89	39,70	46,57
Hap 200	25,85	31,72	32,88	34,06	39,75	46,45
HA JCPDS 9-432	25,85	31,71	32,84	33,99	39,76	46,65

Tabel 5. Data hasil kuantitatif yang menunjukkan struktur dan bentuk kristal hidroksiapatit DG tipe II dengan pemanasan, HAp 200 dan HA JCPDS 9 – 432

Hasil analisa	Hidroksiapatit heated 40'	Hidroksiapatit heated 30'	Hidroksiapatit heated 20'	Hap 200	HA JCPDS 9-432
Bentuk kristal	heksagonal	heksagonal	heksagonal	heksagonal	heksagonal
Parameter kisi	a= 9.4394 Å c= 6.8861 Å	a= 9.0480 Å c= 6.7040 Å	a= 9.4234 Å c= 6.8801 Å	a= 9.4394 Å c= 6.8861 Å	a= 9.4081 Å c= 6.8887 Å

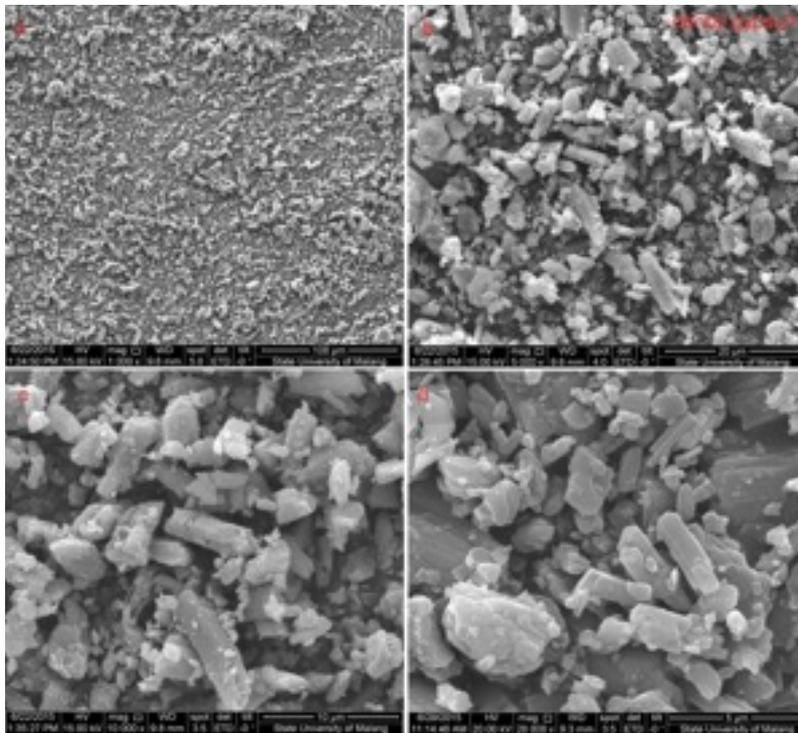
Hasil karakterisasi XRD menunjukkan fasa yang identik pada HA sintesis dengan HA stokiometri dan HA komersial. Tidak ditemukan fasa gipsum pada HA sintesis. Berdasarkan hasil analisa grafik XRD didapatkan hasil analisa kualitatif dan kuantitatif. Hasil kualitatif didapatkan pola grafik sintesis hidroksiapatit pada masing-masing yang identik dengan kelompok dengan pola grafik hidroksiapatit stokiometri (JCPDS 9-432) dilihat dari deviasi bidang kristal (h k l). Bidang kristal (h k l) merupakan bertumbuhnya sinar x dengan kandungan hidroksiapatit. Hasil grafik menunjukkan puncak-puncak yang masih lebar

dimungkinkan ukuran kristalit yang kecil sehingga pada grafik menimbulkan bentukan amorf (Suryadi, 2011). Bentukan amorf atau ukuran kristalit kecil terjadi karena penggunaan suhu yang terlalu tinggi saat proses sintesis hidroksiapatit (Purnama *et al*, 2006).

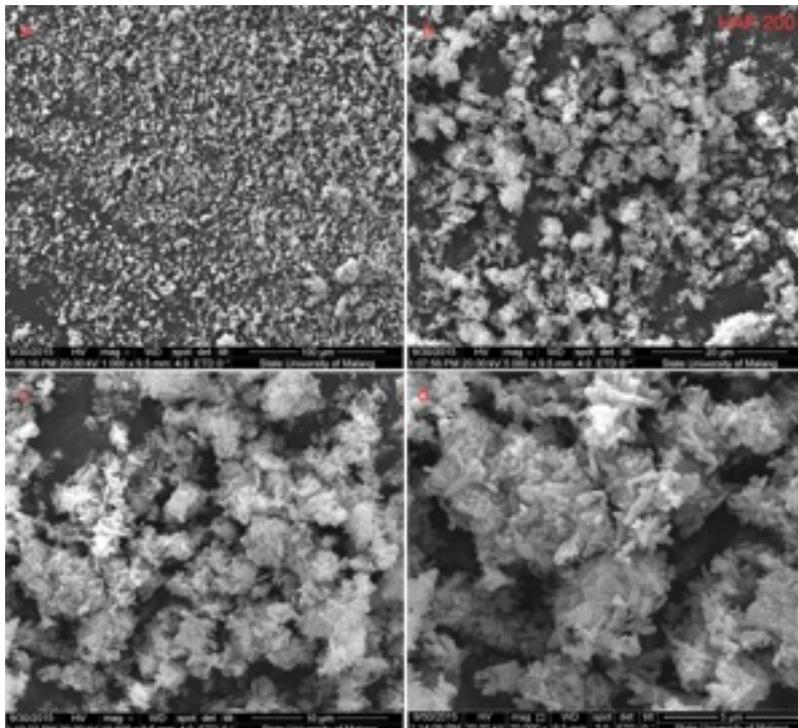
Menurut Suryadi (2011) puncak tertinggi dari hidroksiapatit ditemukan pada hkl 121, 112 dan 300. Dari hasil hidroksiapatit sintesis masing-masing kelompok didapatkan puncak tertinggi juga ditemukan pada hkl 121, 211 dan 300. Kondisi tersebut muncul pada 2theta sebesar sekitar $31,70^\circ - 32,84^\circ$ dengan intensitas tertinggi sebesar 1000. Jika menganalisa melalui XRD menurut Ningsih, dkk (2014) derajat kristalinitas hidroksiapatit dapat terlihat pada tingginya intensitas dan lebar puncak pada pola difraksi. Semakin sempit dan tingginya puncak maka semakin tinggi kristalinitas hidroksiapatitnya.

Selain berdasarkan dari analisa kualitatif yang menunjukkan adanya kemiripan, berdasarkan analisa kuantitatif juga menunjukkan adanya kemiripan dari kelompok hasil sintesis dengan hidroksiapatit stokiometri (JCPDS 9-432) maupun dengan HAp 200. Analisa kuantitatif ini dilihat dari bentukan kristal dan parameter kisi. Bentukan kristal dari semua kelompok hasil sintesis menunjukkan bentuk heksagonal yang juga dimiliki oleh hidroksiapatit stokiometri (JCPDS 9-432) dan juga HAp 200 serta memiliki parameter kisi yang identik.

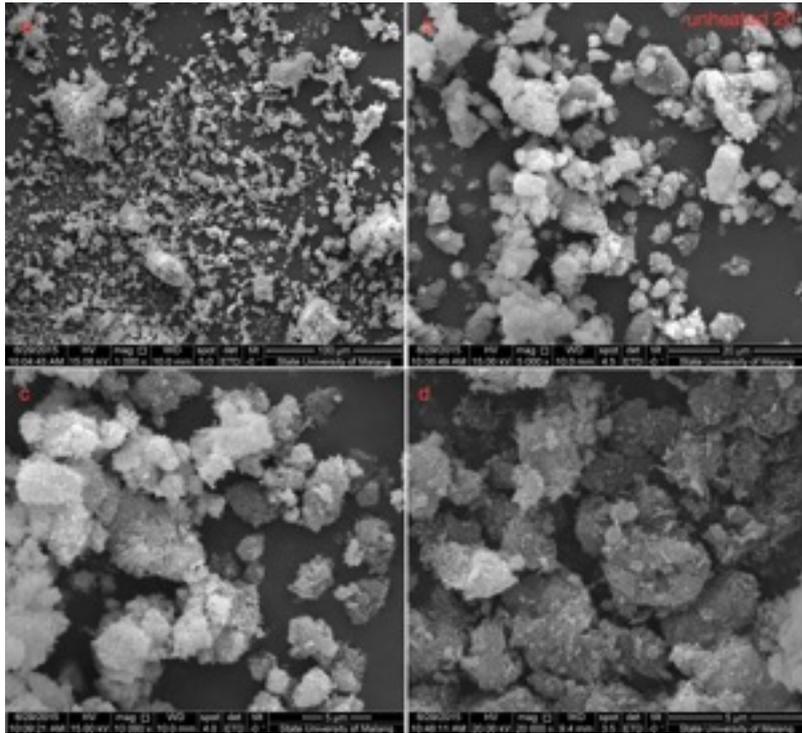
Serbuk hidroksiapatit sintesis limbah gipsum kedokteran gigi tipe II dikarakterisasi menggunakan mesin SEM merk FEI tipe *Inspect-S50*. Sebelum dikarakterisasi, masing-masing sampel dilapisi dengan emas-palladium (80% emas dan 20% Pd). Dengan pengamatan menggunakan SEM dapat dilihat morfologi sampel dan butiran-butiran halus sampel akan tampak lebih jelas bentuknya. Hasil karakterisasi SEM dapat dilihat pada gambar 22-29.



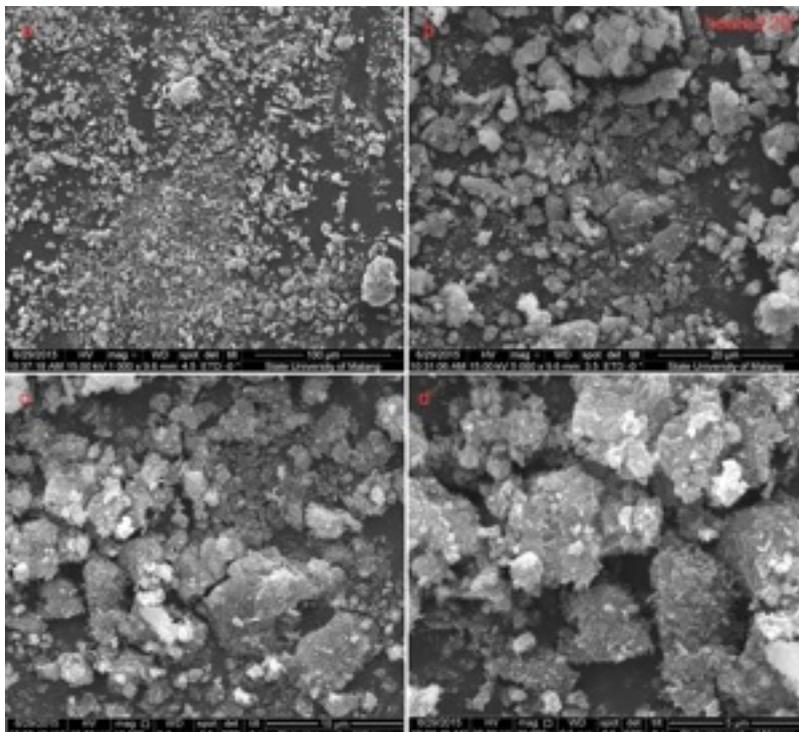
Gambar 22. Gambaran SEM serbuk limbah dental gypsum



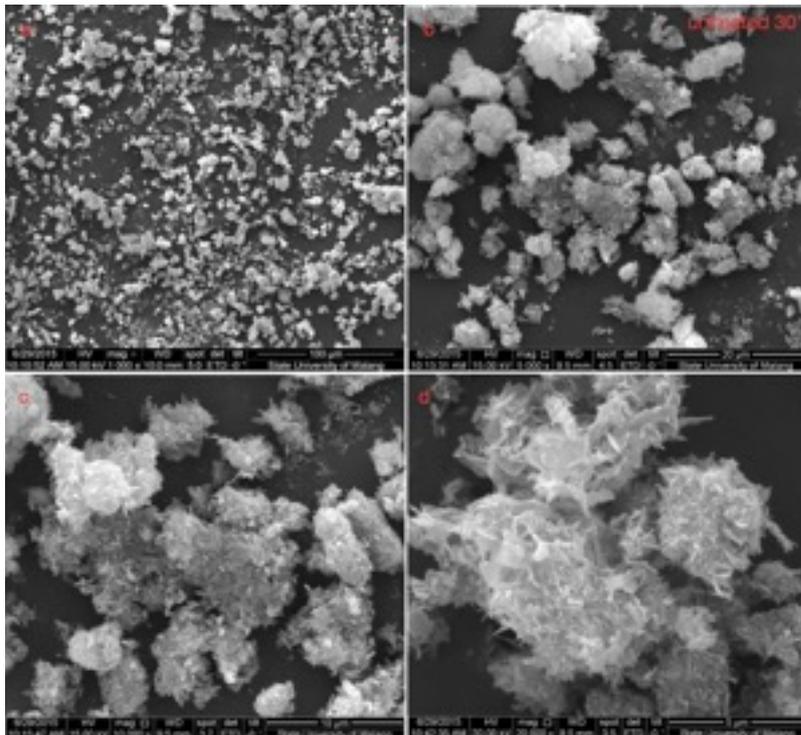
Gambar 23. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit HAP 200



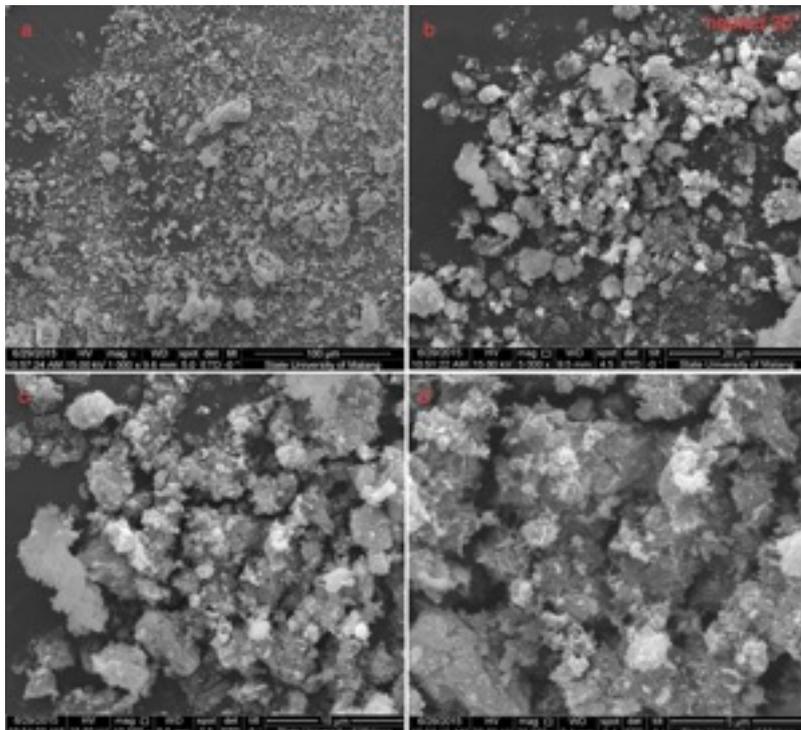
Gambar 24. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit-DG tipe II tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 20 menit



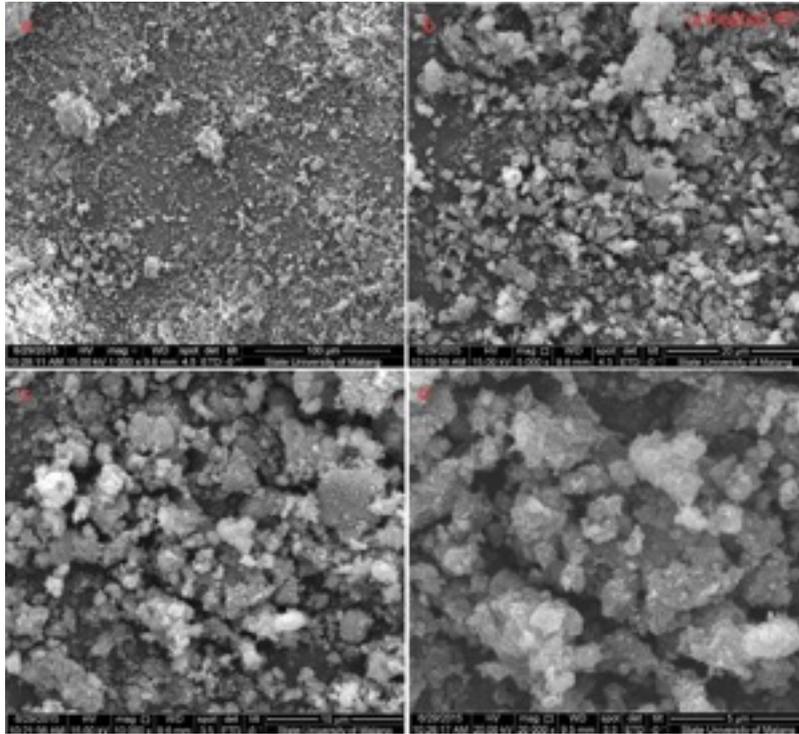
Gambar 25. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit-DG tipe II dengan pemanasan dengan waktu sintesa 20 menit



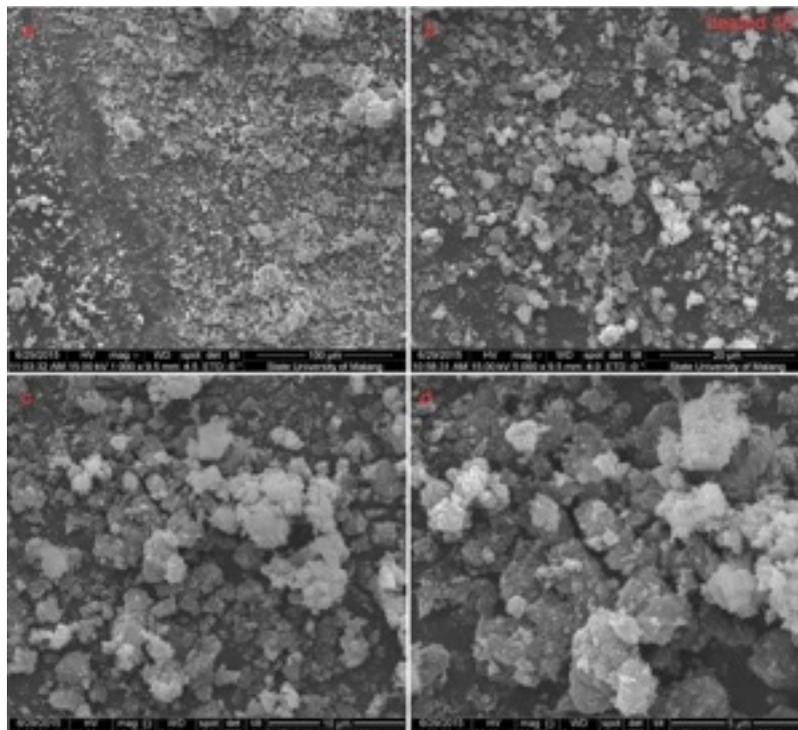
Gambar 26. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit-DG tipe II tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 30 menit



Gambar 27. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit-DG tipe II tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 30 menit



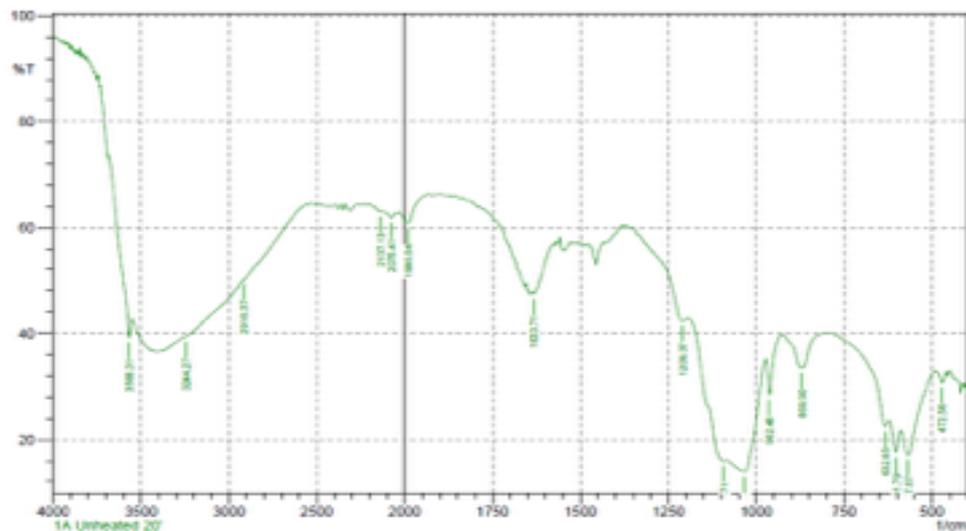
Gambar 28. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit-DG tipe II tanpa pemanasan dengan waktu sintesa 40 menit



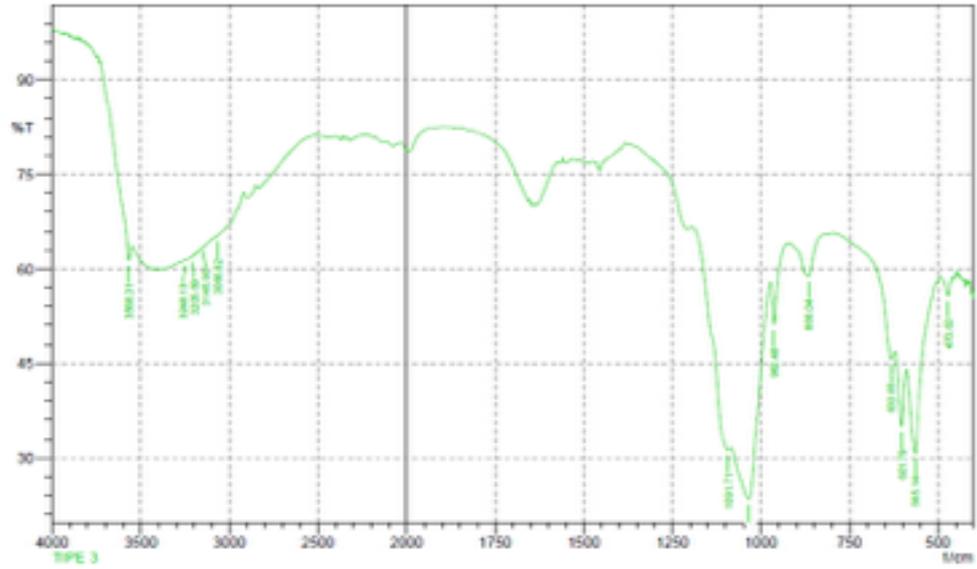
Gambar 29. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit-DG tipe II dengan pemanasan dengan waktu sintesa 40 menit

Bentuk struktur HA komersial (HAP-200) pada gambar 23 menunjukkan bentuk partikel yang cukup padat dan teraglomerasi serta ukuran partikel cukup homogen. Partikel HAP-200 berbentuk batang dengan ukuran <5 mikron yang menyebar merata dan bentuk permukaan kasar. Hidroksiapatit hasil sintesis limbah dental gypsum memiliki bentuk partikel yang tidak beraturan, serta ukuran partikel tidak homogen. Penyebaran partikel cukup merata dengan permukaan kasar. Bentuk partikel dan ukuran hidroksiapatit sintesis tampak identik pada semua kelompok.

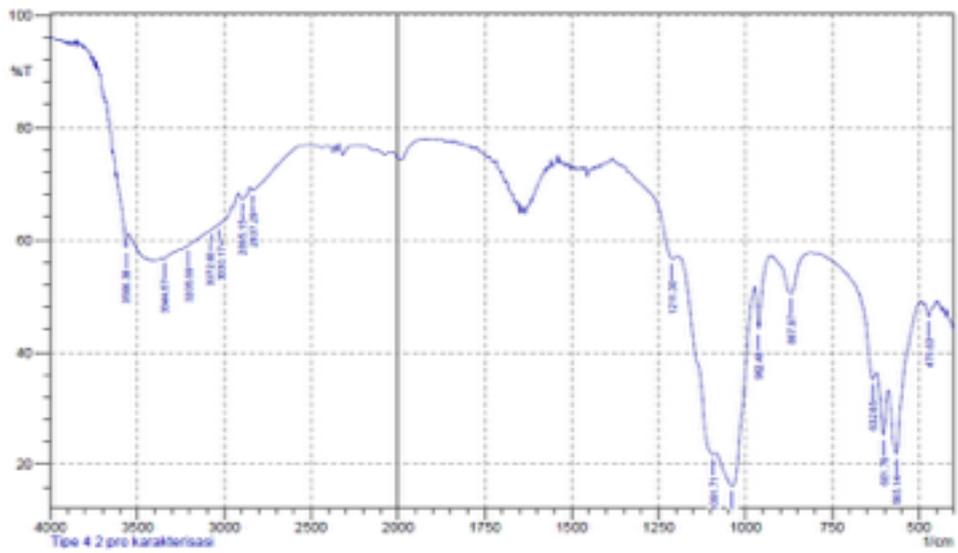
Kelompok hidroksiapatit hasil sintesis limbah dental gypsum berbagai tipe (tipe II, III dan IV)



Gambar 30. Spektra FTIR Hidroksiapatit-DG tipe II



Gambar 31. Spektra FTIR Hidroksiapatit-DG tipe III



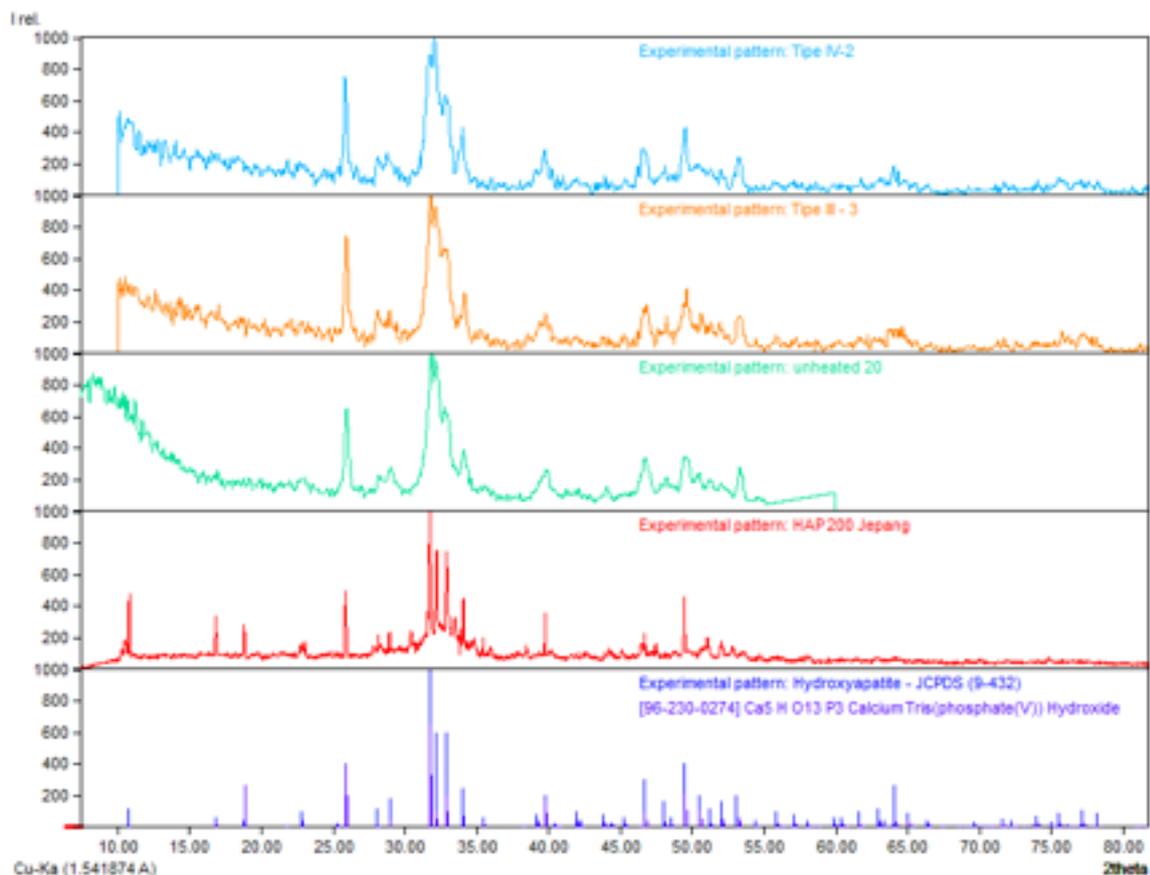
Gambar 32. Spektra FTIR Hidroksiapatit-DG tipe IV

Tabel 6. Perbandingan data puncak spektra FTIR gipsum, HA 200, hidroksiapatit-DG tipe II, tipe III dan tipe IV

Jenis Ion	Panjang Gelombang (cm ⁻¹)				
	gipsum	HA 200 Jepang	hidroksiapatit sintesis gipsum kedokteran gigi tipe II	hidroksiapatit sintesis gipsum kedokteran gigi tipe III	hidroksiapatit sintesis gipsum kedokteran gigi tipe IV
Karbonat (CO ₃ ²⁻)	812,03 875,68 1004,91	1415,75 1454,33	1633.71 1990.54		
Fosfat (PO ₄ ³⁻)		470,63 565,14 603,72 632,65 873,75 960,55 1033,85 1091,71	472.56 567.07 601.79 632.65 869.9 962.48 1033.85 1091.71 1209.37	470,63 565,14 601,79 632,65 866,04 962,48 1033,85 1091,71	470,63 565,14 601,79 632,65 867,97 962,48 1037,7 1091,71 1211,3
Hidroksil (OH ⁻)	3244,27 3404,36 3498,87 3543,23		2075.41 2137.13 2916.37 3244.27 3568.31	3066,82 3145,9 3205,69 3248,13 3568,31	2837,29 2895,15 3030,17 3072,60 3205,69 3344,57 3566,38

Data puncak FTIR dan grafik hasil *superimpose* FTIR menunjukkan grafik yang identik. Pada gipsum ditemukan tiga titik puncak ion Ca-O yaitu pada 812,03 cm^{-1} , 875,68 cm^{-1} , 1004,91 cm^{-1} , namun pada hasil sintesis gipsum kedokteran gigi tipe II dan Hap 200 ditemukan ion karbonat (CO_3^{2-}). Pada HAP terdapat ion karbonat (CO_3^{2-}) pada titik puncak 1415,75 cm^{-1} , 1454,33 cm^{-1} . Pada hasil sintesis gipsum kedokteran gigi tipe II terdapat ion karbonat (CO_3^{2-}) pada titik puncak 1633,71 cm^{-1} dan 1990.54 cm^{-1} . Ditemukan pula unsur fosfat (PO_4^{3-}) pada semua sampel kecuali gipsum. Selain itu juga ditemukan unsur hidroksil (OH^-) pada gipsum, sintesis gipsum kedokteran gigi tipe II, tipe III, dan tipe IV. Pada Hap 200 tidak memunculkan titik puncak hidroksil (OH^-) dikarenakan sedikitnya kandungan air.

Berdasarkan hasil karakterisasi tersebut didapatkan informasi bahwa hasil sintesis hidroksiapatit limbah gipsum kedokteran gigi tipe II, tipe III, dan tipe IV memiliki gugus fungsi dan senyawa yang identik dengan HAp 200 Jepang.



Grafik 33. Perbandingan hasil karakterisasi XRD hidroksiapatit-DG tipe IV (biru muda), hidroksiapatit-DG tipe III (jingga), hidroksiapatit-DG tipe II (hijau), HAP 200 (hitam), dan HA JCPDS 9 – 432 (biru).

Tabel 7. Perbandingan posisi peak XRD hidroksiapatit-DG tipe II, III dan IV dengan HAP 200 dan HA JCPDS 9 – 432

	Bidang kristal (hkl)					
	(002)	(121)	(300)	(202)	(130)	(222)
Tipe IV	25,86	31,85	33,02	33,94	39,62	46,82
Tipe III	25,89	31,93	32,69	34,00	39,67	46,63
Tipe II	25,91	31,99	32,83	34,06	39,73	46,71
Hap 200	25,91	31,97	32,77	34,40	39,96	46,93
HA JCPDS 9-432	25,85	31,71	32,84	33,99	39,76	46,65

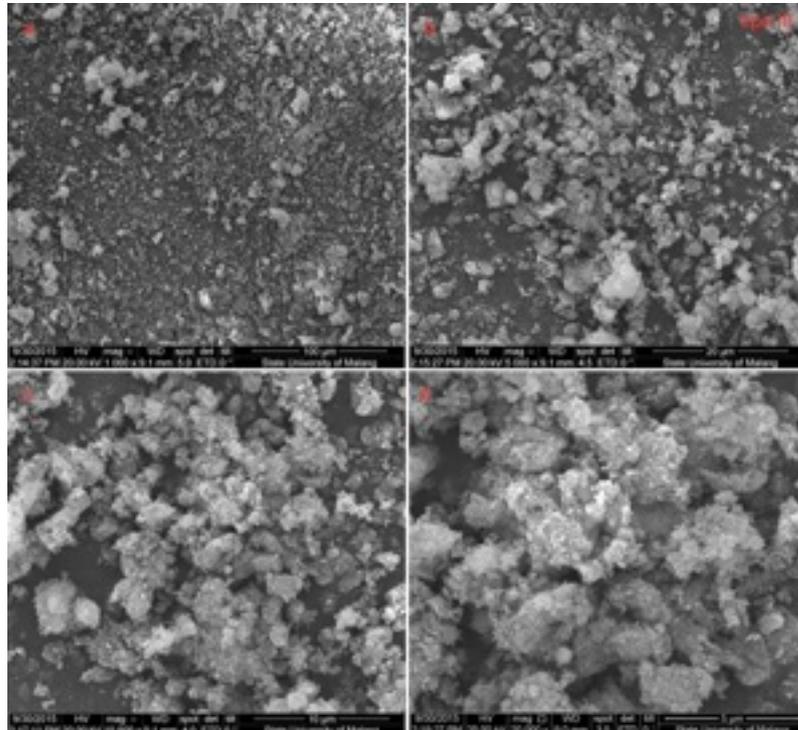
Tabel 8. Data hasil kuantitatif yang menunjukkan struktur dan bentuk kristal hidroksiapatit DG tipe II dengan pemanasan, HAp 200 dan HA JCPDS 9 – 432

Hasil analisa	Tipe IV	Tipe III	Tipe II	Hap 200	HA JCPDS 9-432
Bentuk kristal	heksagonal	heksagonal	heksagonal	heksagonal	heksagonal
Parameter kisi	a= 9.4655 Å c= 6.9068 Å	a= 9.4394 Å c= 6.8861 Å	a= 9.4394 Å c= 6.8861 Å	a= 9.4394 Å c= 6.8861 Å	a= 9.4081 Å c= 6.8887 Å

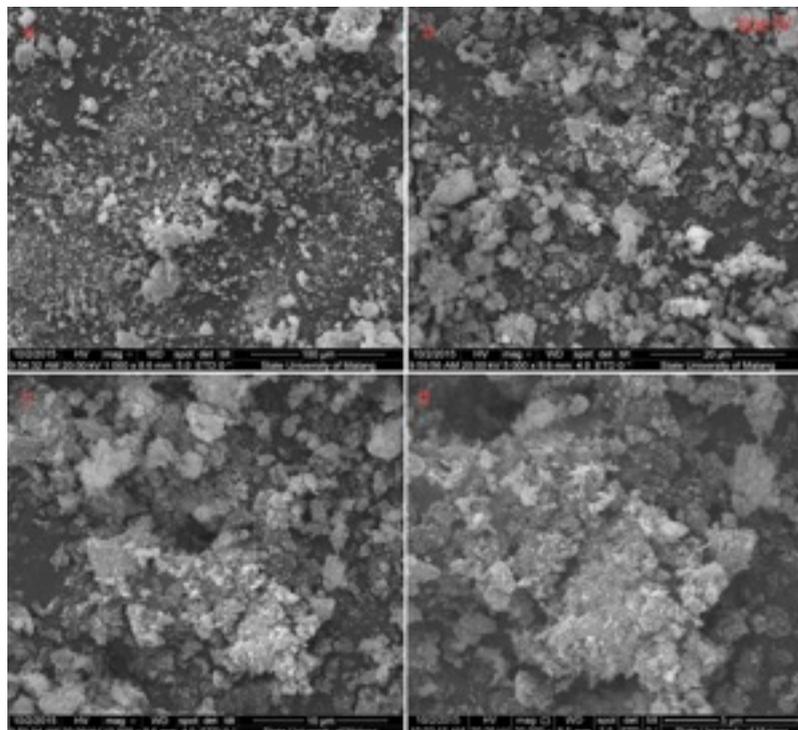
Hasil dari analisa grafik secara kualitatif dari masing-masing kelompok diatas menunjukkan selisih deviasi yang sangat kecil pada bidang kristal (h k l) yang dibandingkan dengan hidroksiapatit stokiometri (JCPDS 9-432).

Bentukan kristal dari semua kelompok hasil sintesis menunjukkan bentuk heksagonal yang juga dimiliki oleh hidroksiapatit stokiometri (JCPDS 9-432) dan juga HAp 200 serta memiliki parameter kisi yang identik.

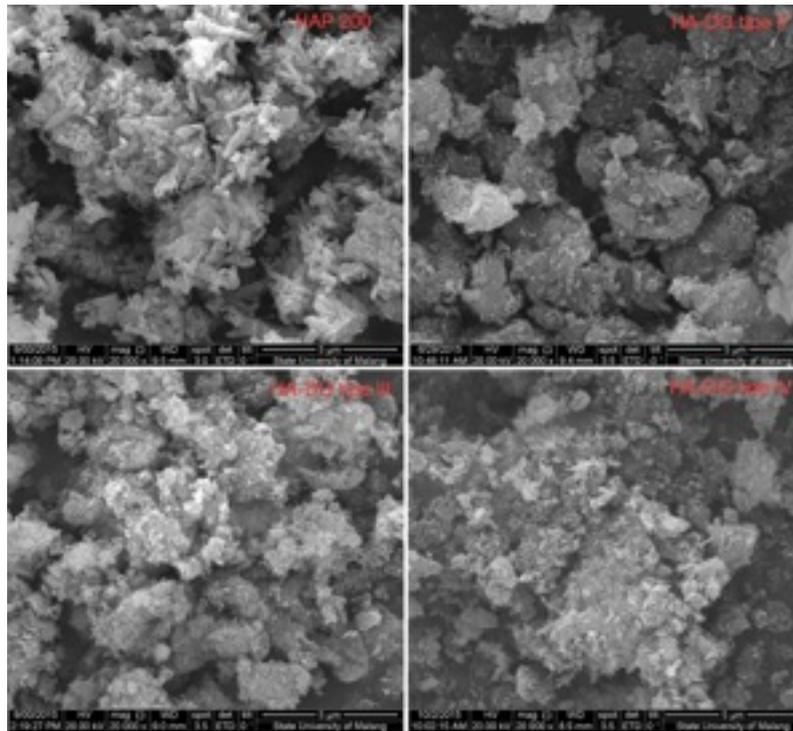
Hasil karakterisasi SEM



Gambar 34. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit-DG tipe III



Gambar 35. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit-DG tipe IV

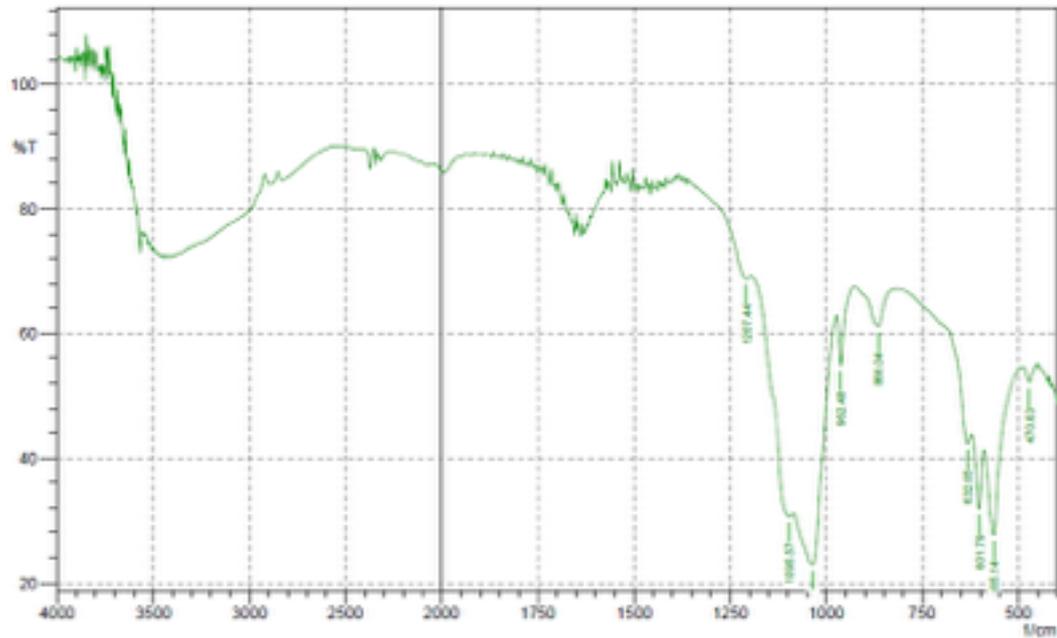


Gambar 36. Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit HAP 200, hidroksiapatit-DG tipe II, hidroksiapatit-DG tipe III, hidroksiapatit-DG tipe IV

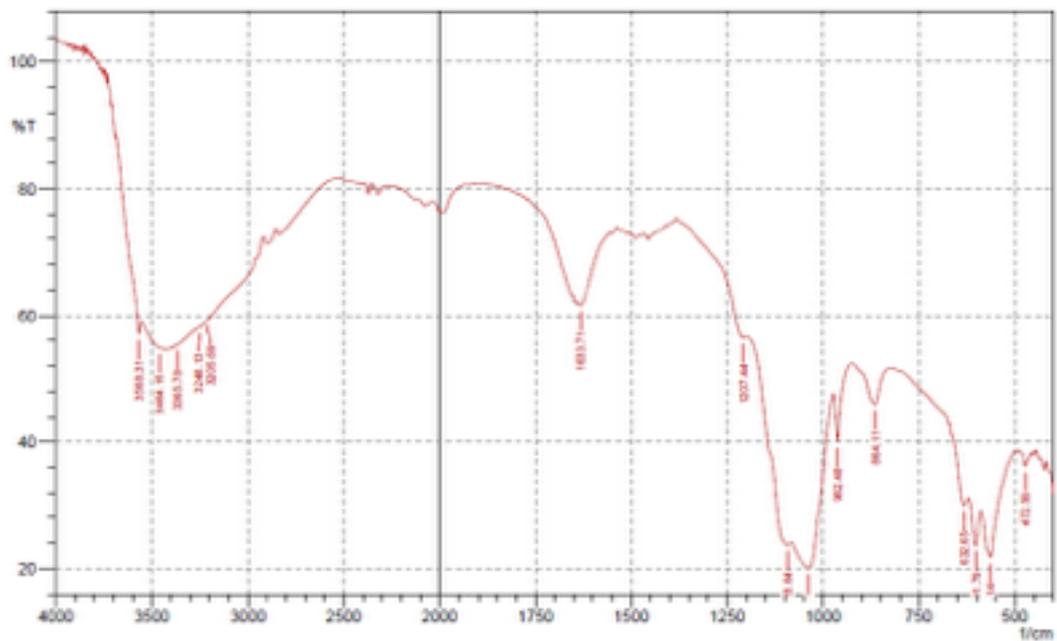
Hasil karakterisasi SEM didapatkan permukaan partikel yang padat dan saling menempel. Bentuk partikel hidroksiapatit bulat memanjang. Dapat dilihat pula partikel HAP 200 yang berbentuk kristalit tampak lebih besar dan lebih jelas dari pada hidroksiapatit hasil sintesis karena pada kelompok hasil sintesis didapatkan bentuk yang irregular

Kelompok hidroksiapatit hasil sintesis limbah dental gypsum tipe III dengan waktu penyimpanan berbeda (0, 1 dan 3 tahun)

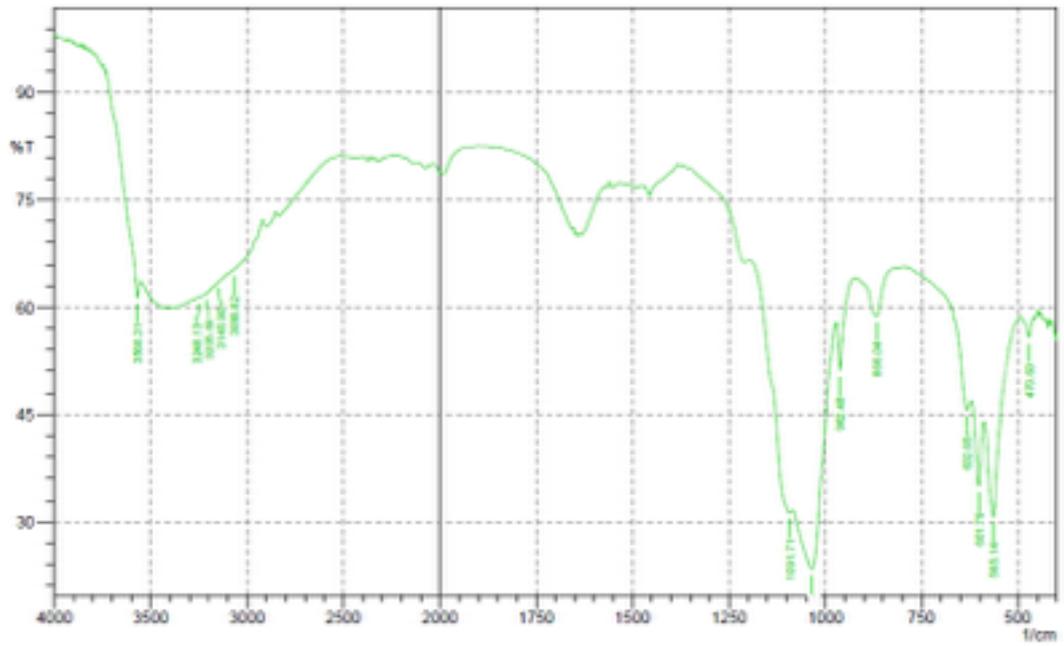
Hasil Karakterisasi FTIR



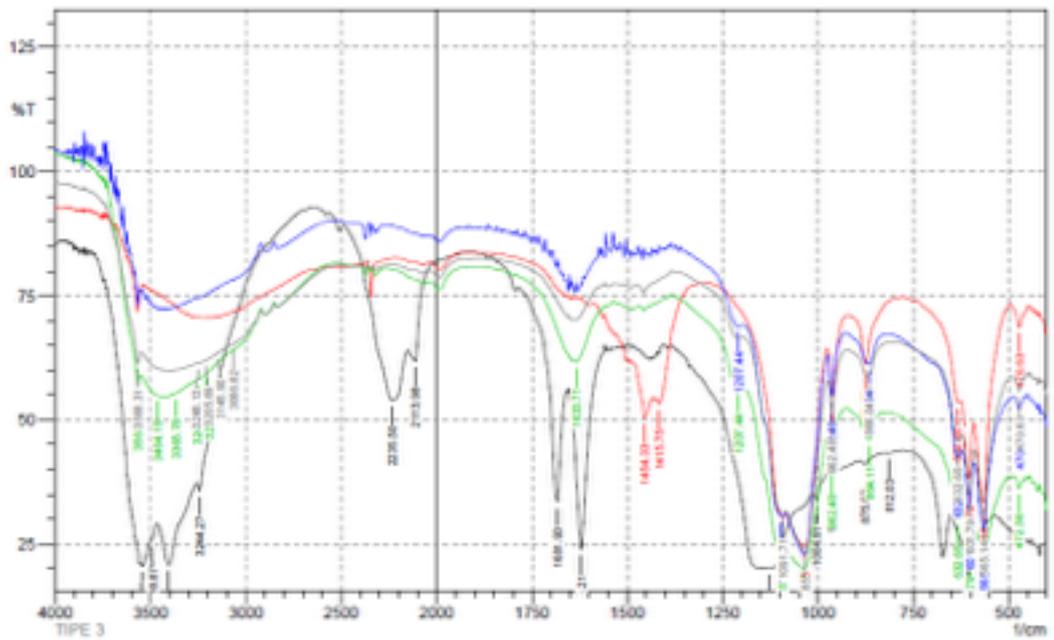
Gambar 37. Spektrum FTIR hidroksiapatit-DG tipe III 3 tahun



Gambar 38. Spektrum FTIR hidroksiapatit-DG tipe III 1 tahun



Gambar 39. Spektrum FTIR hidroksiapatit-DG tipe III 0 tahun



Gambar 40. *Superimpose* Spektrum FTIR hidroksiapatit-DG tipe III 3 tahun, 1 tahun, 0 tahun, HAP-200 dan gipsum

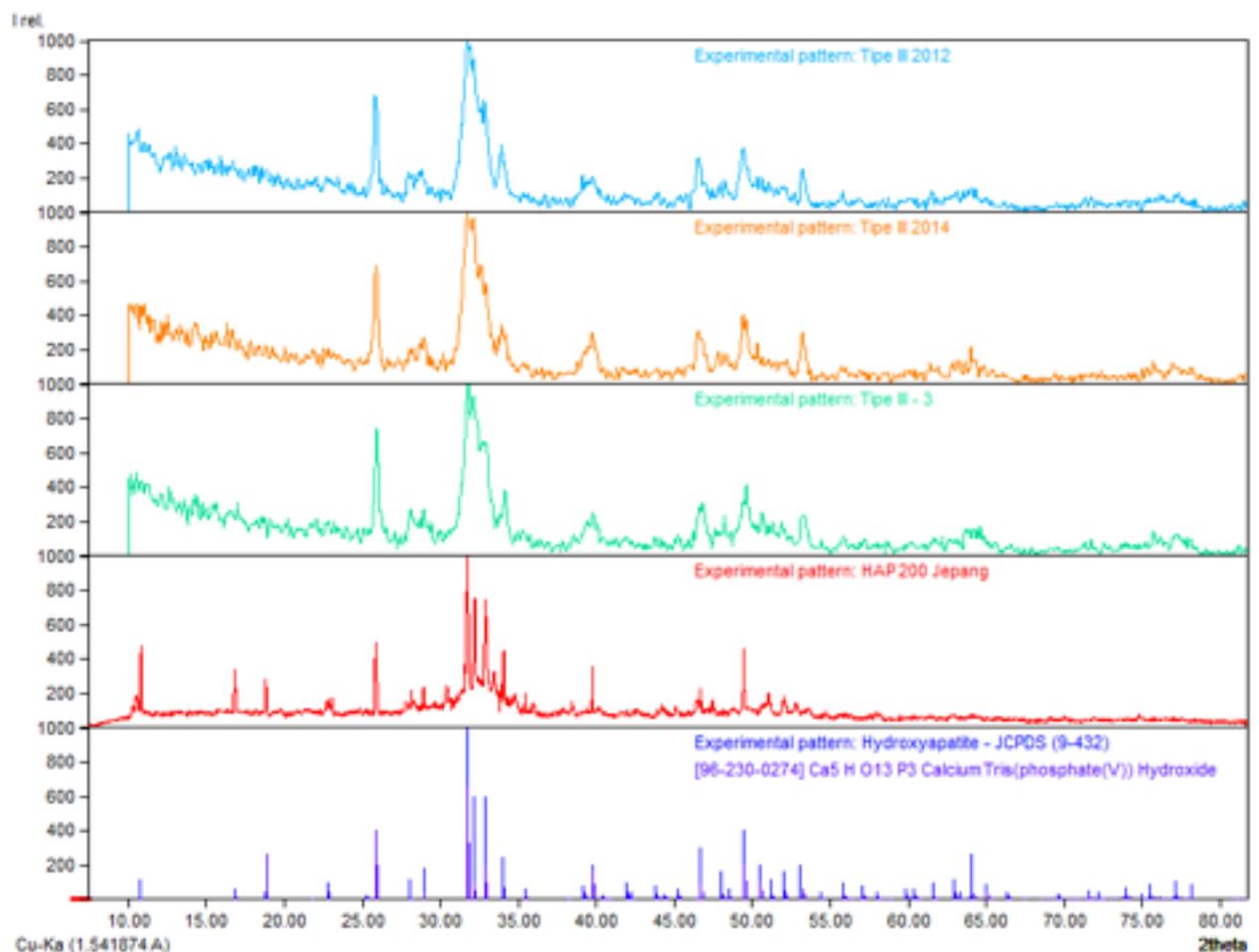
Tabel 9. Data puncak grafik FTIR menunjukkan gugus fungsi dan senyawa yang dimiliki oleh hidroksiapatit-DG tipe III 3 tahun, 1 tahun, 0 tahun, HAP-200 dan gipsum

Jenis Ion	Panjang Gelombang (cm-1)				
	Gipsum	Hidroksiapatit Sintesis Limbah Gipsum tipe III durasi penyimpanan 3 tahun	Hidroksiapatit Sintesis Limbah Gipsum tipe III durasi penyimpanan 1 tahun	HAP 200	Gipsum tipe III fresh model
Ca-O / Karbonat (CO ₃ ²⁻)*	812,03		1633,71*	1415,75*	
	875,68			1454,33*	
	1004,91				
Fosfat (PO ₄ ³⁻)		470,63	472,56	470,63	470,63
		565,14	565,14	565,14	565,14
		601,79	601,79	603,72	601,79
		632,65	632,65	632,65	632,65
		866,04	864,11	873,75	866,04
		962,48	962,48	960,55	962,48
		1035,77	1037,7	1033,85	1033,85
		1095,57	1093,64	1091,71	1091,71
Hidroksil (OH ⁻)		1207,44	1207,44		
	3244,27		3205,69		3066,82
	3404,36		3248,13		3145,9
	3498,87		3365,78		3205,69
	3543,23		3464,15		3248,13
		3568,31		3568,31	

Grafik hasil *superimpose* FTIR dan data puncak FTIR menunjukkan grafik yang identik. Pada gipsum ditemukan tiga titik puncak dari ion Ca-O yaitu pada 812,03 cm⁻¹, 875,68 cm⁻¹, 1004,91 cm⁻¹, namun pada hasil sintesis durasi penyimpanan 1 tahun dan Hap 200 ditemukan ion karbonat (CO₃²⁻) pada titik puncak 1633,71 cm⁻¹ pada durasi penyimpanan 1 tahun dan 1415,75 cm⁻¹, 1454,33 cm⁻¹ pada HAP 200. Selain unsur Ca-O dan karbonat juga ditemukan unsur fosfat (PO₄³⁻) pada semua bahan kecuali tidak ditemukan

dalam gipsum (tabel 4.7). Selain itu juga ditemukan unsur hidroksil (OH⁻) pada gipsum, durasi penyimpanan 1 tahun dan 0 tahun. Namun, pada durasi penyimpanan 3 tahun dan HAP 200 tidak memunculkan titik puncak hidroksil (OH⁻) dikarenakan sedikitnya kandungan air yang terkandung.

Berdasarkan hasil analisis tersebut didapatkan informasi bahwa hasil sintesis hidroksiapatit limbah gipsum tipe III durasi penyimpanan 1 tahun, 3 tahun dan 0 tahun memiliki gugus fungsi dan senyawa yang identik dengan HAP 200



Gambar 41. Grafik perbandingan hasil karakterisasi XRD hidroksiapatit-DG tipe III 3 tahun (biru muda), hidroksiapatit-DG tipe III d 1 tahun (jingga), hidroksiapatit-DG tipe III 0 tahun (hijau), HAP 200 (merah), dan HA JCPDS 9 – 432 (biru).

Tabel 10. Data hasil analisa kuantitatif yang menunjukkan struktur dan bentuk kristal hidroksiapatit sintesis limbah gipsum tipe III durasi penyimpanan 1 tahun, 3 tahun, fresh model, HAp 200 dan hidroksiapatit stokiometri (JCPDS 9-432).

	Bidang krisal (hkl)					
	(002)	(121)	(300)	(202)	(130)	(222)
Tipe III 3 tahun	25,77	31,81	32,76	33,87	39,63	46,49
Tipe III 1 tahun	25,93	31,98	32,92	34,03	39,79	46,77
Tipe III fresh model	25,89	31,93	32,69	34,00	39,67	46,63
Hap 200	25,85	31,72	32,88	34,06	39,75	46,45
HA JCPDS 9-432	25,85	31,71	32,84	33,99	39,76	46,65

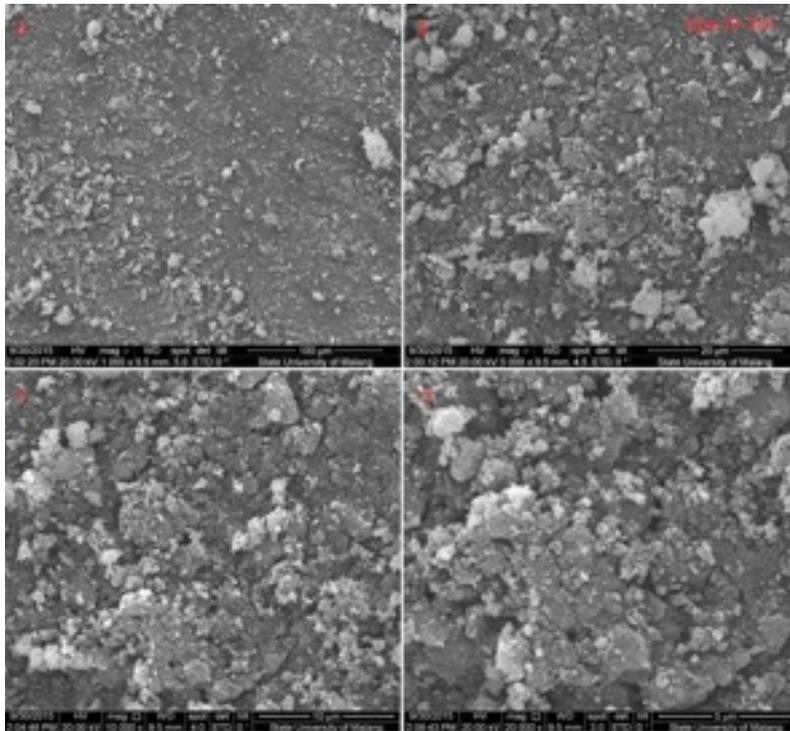
Tabel 11. Data hasil kuantitatif yang menunjukkan struktur dan bentuk kristal hidroksiapatit DG tipe II dengan pemanasan, HAp 200 dan HA JCPDS 9 – 432

Hasil analisa	Hidroksiapatit sintesis limbah gipsum tipe III durasi penyimpanan 1 tahun	Hidroksiapatit sintesis limbah gipsum tipe III durasi penyimpanan 3 tahun	Hidroksiapatit sintesis gipsum tipe III fresh model	HAp 200	Hidroksiapatit stokiometri (JCPDS 9-432)
Bentuk kristal	heksagonal	heksagonal	heksagonal	Heksagonal	heksagonal
Parameter kisi	a = 9.4081 Å c = 6.8887 Å	a = 9.4240 Å c = 6.8790 Å	a = 9.4394 Å c = 6.8861 Å	a = 9.4394 Å c = 6.8861 Å	a = 9.4172 Å c = 6.8799 Å

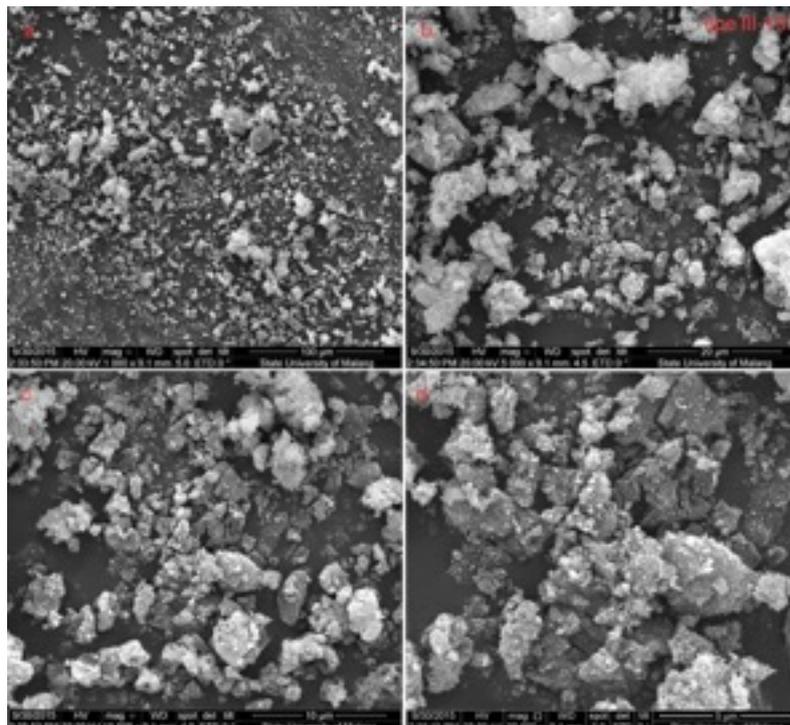
Hasil dari analisa grafik secara kualitatif dari masing-masing kelompok diatas menunjukkan selisih deviasi yang sangat kecil pada bidang kristal (hkl) yang dibandingkan dengan hidroksiapatit stokiometri (JCPDS 9-432). Selisih deviasi pada kelompok hidroksiapatit sintesis limbah gipsum tipe III durasi penyimpanan 1 tahun berdasarkan (hkl) (002) = 0,02°, (121) = 0,16°, (112) = 0,02°, (300) = 0,08°, (202) = 0,07° dan (222) = 0,04°. Selisih deviasi pada kelompok hidroksiapatit sintesis limbah gipsum tipe III durasi penyimpanan 3 tahun berdasarkan (hkl) (002) = 0,09°, (121) = 0,06°, (112) = 0,08°, (300) = 0,03°, (202) = 0,16° dan (222) = 0,09°. Selisih deviasi pada kelompok hidroksiapatit sintesis gipsum tipe III fresh model berdasarkan (hkl) (002) = 0,07°, (121) = 0,02°, (112) = 0,05°, (300) = 0,03°, (202) = 0,07° dan (222) = 0,06°. Selisih deviasi pada HAp 200 berdasarkan (hkl) (002) = 0,02°, (121) = 0,01°, (112) = 0°, (300) = 0,01°, (202) = 0,01° dan (222) = 0,01°.

Secara kuantitatif menunjukkan hasil tentang struktur kristal yang semuanya berbentuk heksagonal. Hal ini dikaitkan dengan parameter kisi yang identik antara kelompok hasil hidroksiapatit sintesis limbah gipsum tipe III durasi 1 tahun ($a = 9.4081 \text{ \AA}$ $c = 6.8887 \text{ \AA}$), hasil hidroksiapatit sintesis limbah gipsum tipe III durasi 3 tahun ($a = 9.4240 \text{ \AA}$ $c = 6.8790 \text{ \AA}$) dan hasil hidroksiapatit sintesis gipsum tipe III fresh model ($a = 9.4394 \text{ \AA}$ $c = 6.8861 \text{ \AA}$) dengan parameter kisi HAp 200 ($a = 9.4394 \text{ \AA}$ $c = 6.8861 \text{ \AA}$) dan hidroksiapatit stokiometri (JCPDS 9-432) ($a = 9.4172 \text{ \AA}$ $c = 6.8799 \text{ \AA}$).

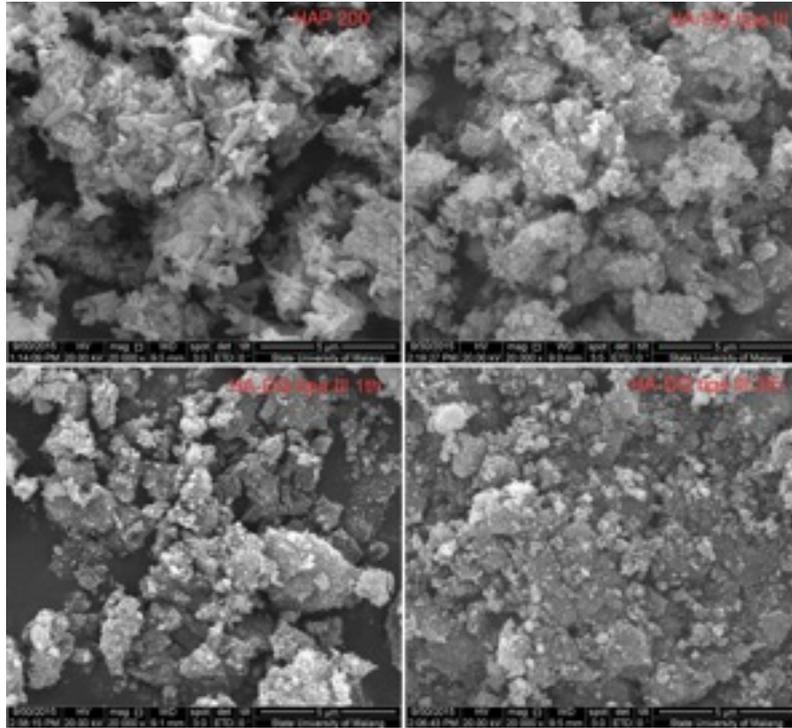
Hasil analisa karakterisasi SEM dibawah ini didapatkan bentukan yang didapatkan saling menempel satu sama lain dan berbentuk bulat memanjang. Ukuran yang didapatkan pada HAp 200 lebih besar dari pada kelompok hasil sintesis. Hal ini dikarenakan pada kelompok hasil sintesis didapatkan bentukan yang amorf yaitu kristalit yang kecil sedangkan pada HAp 200 berupa kristalit lebih besar. Berdasarkan analisa tersebut didapatkan informasi bahwa bentukan struktur permukaan dilihat secara mikroskopis dari kelompok hidroksiapatit-DG tipe III 1 tahun, hidroksiapatit-DG tipe III 3 tahun, hidroksiapatit sintesis gipsum fresh model dengan HAp 200.



Gambar 42 Hasil SEM hidroksiapatit_DG tipe III durasi penyimpanan 3 tahun pembesaran 1000x (a), pembesaran 5000x (b), pembesaran 10000x (c), pembesaran 20000x (d)



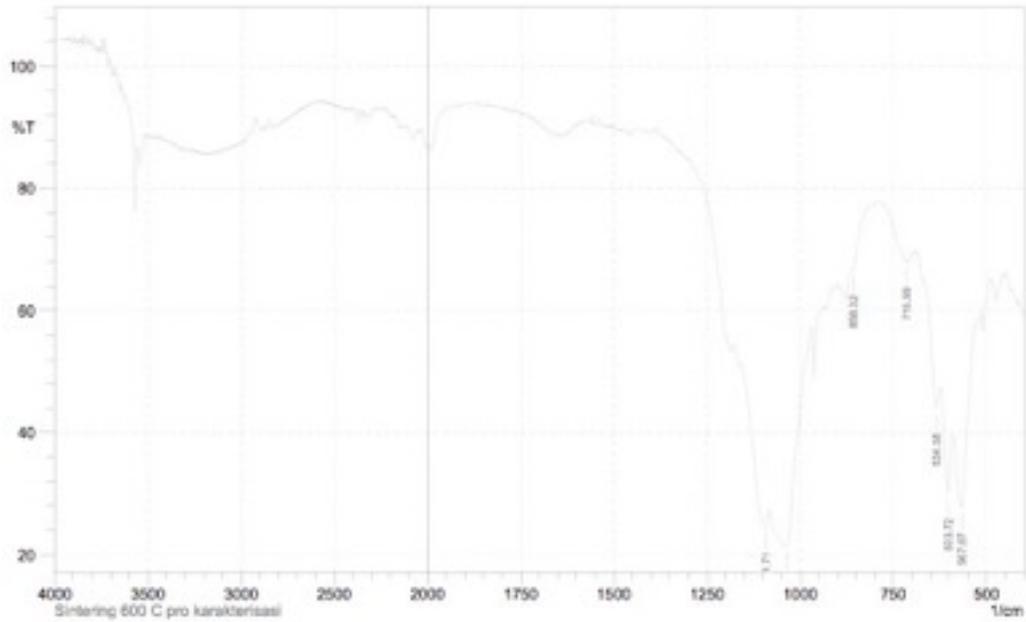
Gambar 43. Hasil SEM hidroksiapatit_DG tipe III durasi penyimpanan 1 tahun pembesaran 1000x (a), pembesaran 5000x (b), pembesaran 10000x (c), pembesaran 20000x (d)



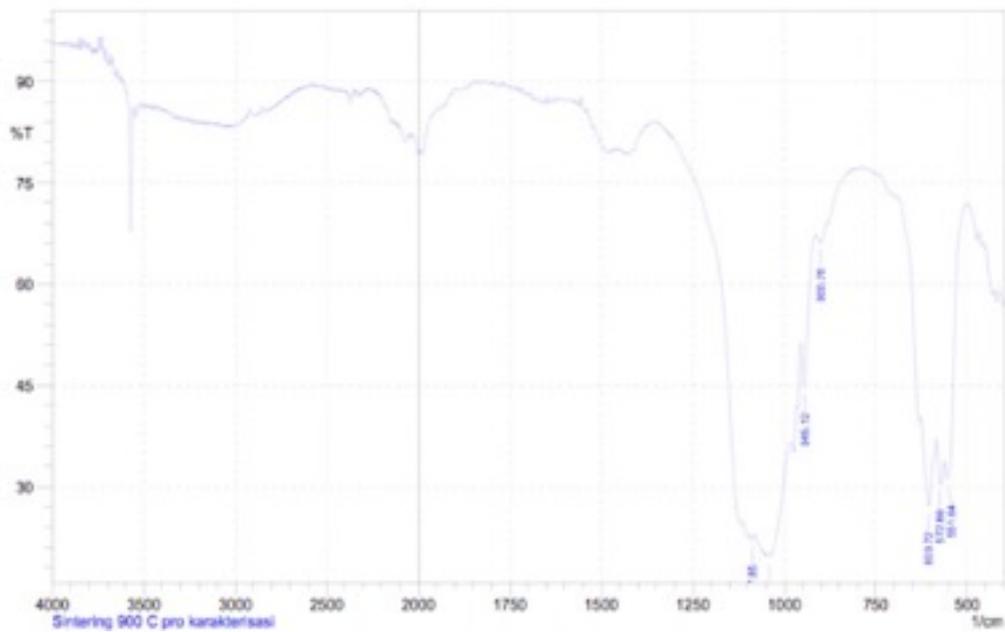
Gambar 44 Perbandingan hasil SEM HAP 200, hidroksiapatit-DG tipe III, hidroksiapatit-DG tipe III durasi penyimpanan 1 tahun dan 3 tahun

Kelompok hidroksiapatit hasil sintesis limbah dental gypsum tipe II dengan sintering

Hasil karakterisasi FTIR



Gambar 45. Spektra FTIR Hidroksiapatit-DG tipe II sintering 600°C



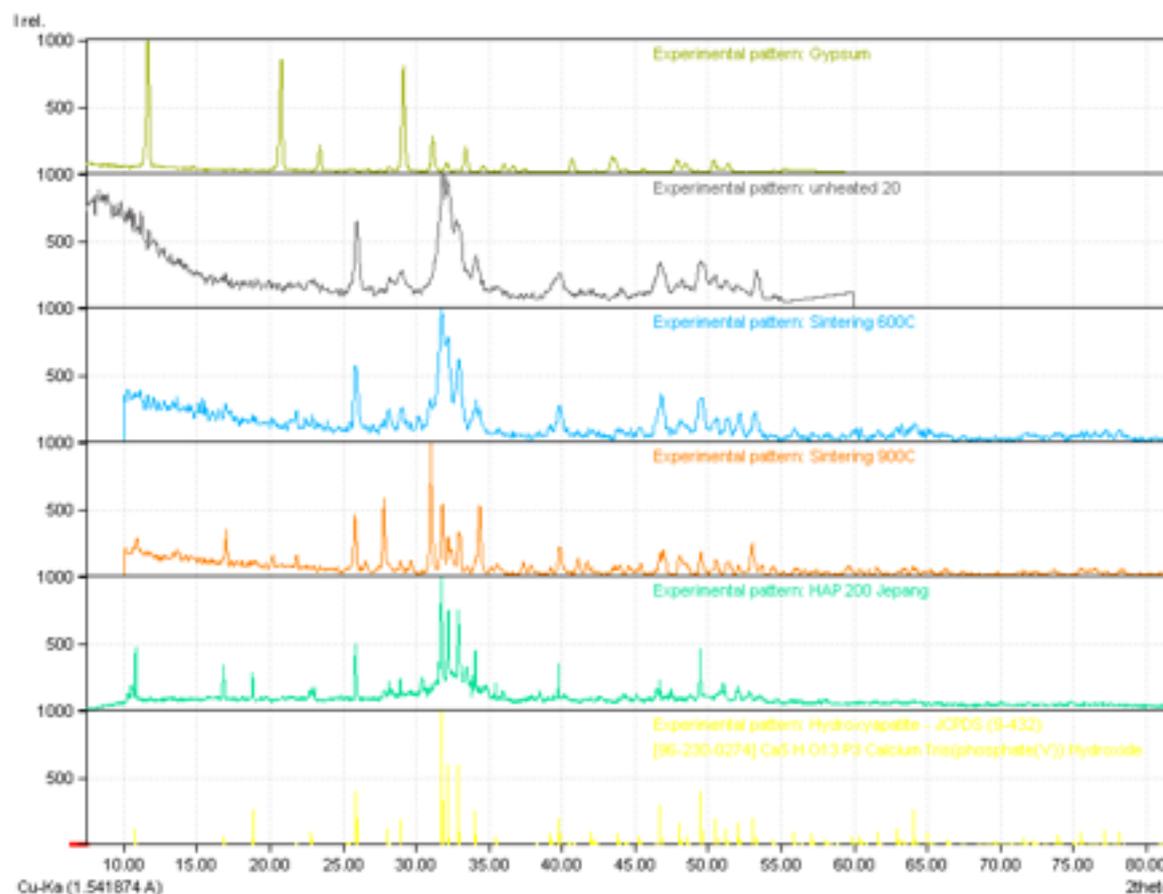
Gambar 46. Spektra FTIR Hidroksiapatit-DG tipe II sintering 900°C

Tabel 12. Data puncak grafik FTIR menunjukkan gugus fungsi dan senyawa yang dimiliki hidroksiapatit sintering 600⁰c, hidroksiapatit sintering 900⁰c, hidroksiapatit tanpa sintering, HAP 200, dan gipsum.

Jenis Ion	Panjang Gelombang (cm ⁻¹)				
	Hidroksiapatit sintering 600 ⁰ c	Hidroksiapatit sintering 900 ⁰ c	Hidroksiapatit tanpa sintering	HAp 200	Gipsum
Karbonat (CO ₃ ²⁻)			1633,71	1415,75	1620,21
				1454,33	1681,93
Fosfat (PO ₄ ³⁻)	567,07	572,86	567,07	565,14	603,72
	603,72	603,72	601,79	603,72	1004,91
	1033,85	1041,56	1033,85	1033,85	1126,43
	1091,71	1087,85	1091,71	1091,71	
Hidroksil (OH ⁻)			3568,31		3404,36
					3498,87

Grafik hasil karakterisasi FTIR dan data puncak FTIR terlihat bahwa pada hidroksiapatit sintering 600⁰c dan 900⁰c memiliki kemurnian yang cukup tinggi. Hal ini dikarenakan dalam sampel tidak terdapat gugus karbonat (CO₃²⁻). Hal ini berarti kandungan zat lain (karbonat) yang terdapat pada sampel sangat rendah. Terlihat juga pada hidroksiapatit sintering 900⁰c memiliki gugus fosfat (PO₄³⁻) yang terdapat pada bilangan gelombang 603,72 dengan persentasi transmitansi yang paling rendah dari sample yang lain, yaitu sekitar 27%. Hal ini berarti kandungan gugus PO₄³⁻ yang ada pada sampel sangat tinggi yang menandakan hidroksiapatit yang murni. Selain itu juga pada hidroksiapatit sintering 600⁰c dan 900⁰c tidak ditemukan gugus (OH⁻). Tidak adanya gugus OH⁻ pada bilangan gelombang tersebut menunjukkan bahwa sangat sedikitnya kandungan air (H₂O) pada sampel tersebut.

Hasil Karakterisasi XRD



Gambar 47. Grafik hasil karakterisasi XRD hidroksiapatit gipsium (hijau tua), hidroksiapatit tanpa sintering (hitam), sintering 600⁰c (biru), hidroksiapatit sintering 900⁰c (jingga), HAp 200 (hijau muda), dan HA JCPDS 9 – 432 (kuning).

Tabel 13. Posisi peak XRD hidroksiapatit tanpa sintering, hidroksiapatit sintering 600⁰c, hidroksiapatit sintering 900⁰c, HAp 200, dan HA JCPDS 9 – 432.

	Bidang kristal (h k l)					
	(002)	(121)	(300)	(202)	(130)	(222)
hidroksiapatit tanpa sintering	25,91	31,99	32,83	34,06	39,73	46,71
hidroksiapatit sintering 600 ⁰ c	25,87	31,86	32,86	34,07	39,82	46,71
hidroksiapatit sintering 900 ⁰ c	25,91	31,97	32,77	34,40	39,96	46,93

HAp 200	25,85	31,72	32,88	33,91	39,75	46,45
HA JCPDS 9 – 432	25,82	31,71	32,84	33,99	39,76	46,65

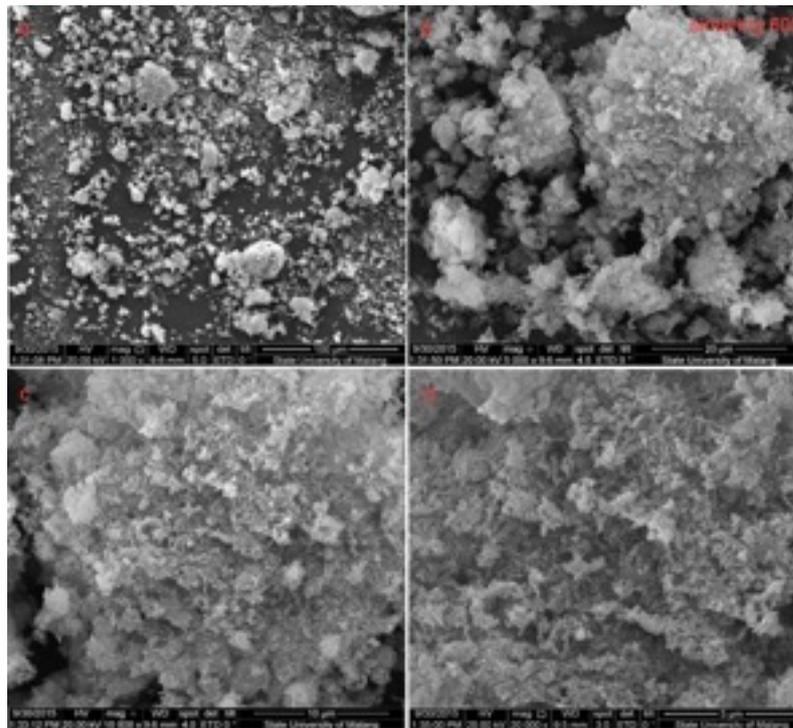
Tabel 14. Data hasil kuantitatif yang menunjukkan struktur dan bentuk kristal hidroksiapatit tanpa sintering, hidroksiapatit sintering 600⁰c, hidroksiapatit sintering 900⁰c, HAp 200, dan HA JCPDS 9 – 432.

Hasil analisa	Hidroksiapatit tanpa sintering	Hidroksiapatit sintering 600 ⁰ c	Hidroksiapatit sintering 900 ⁰ c	HAp 200	HA JCPDS 9– 432
B e n t u k kristal	heksagonal	heksagonal	heksagonal	heksagonal	heksagonal
Parameter kisi	a=9.4232Å c=6.8833Å	a=9.4212Å c=6.8927Å	a=9.4240Å c=6.8790 Å	a=9.4232Å c=6.8833Å	a=9.4232Å c=6.8833Å

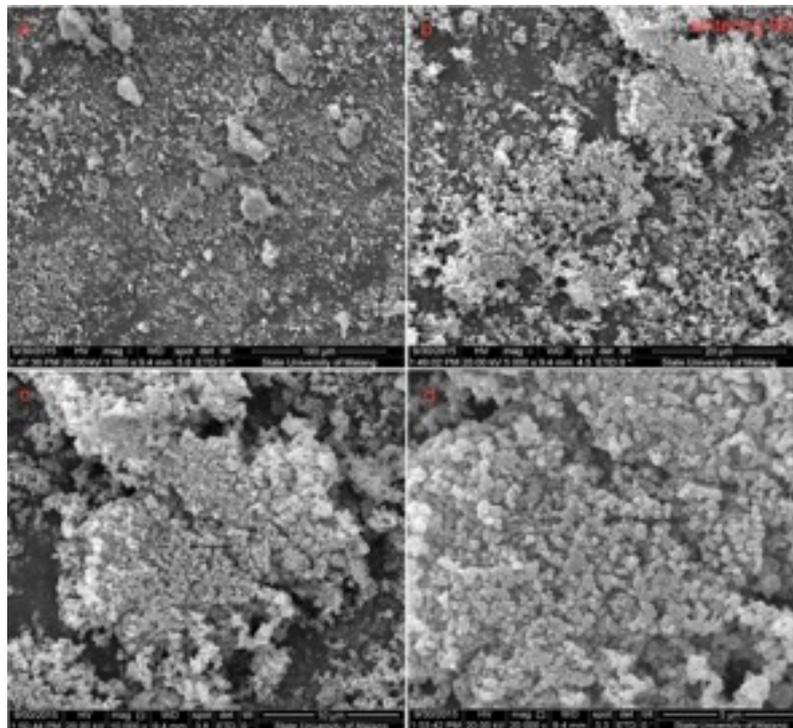
Hasil analisa kualitatif menunjukkan terdapat sedikit selisih antara posisi peak XRD hidroksiapatit tanpa sintering, hidroksiapatit sintering 600⁰c, hidroksiapatit sintering 900⁰c, HAp 200, dan HA JCPDS 9 – 432. Hal ini dapat disimpulkan bahwa setiap sampel memiliki karakteristik dan unsur yang hampir sama dan menyerupai dengan hidroksiapatit standar.

Hasil analisa kuantitatif didapatkan informasi bahwa bentuk kristal dari hidroksiapatit tanpa sintering, hidroksiapatit sintering 600⁰c, hidroksiapatit sintering 900⁰c, HAp 200, dan HA JCPDS 9 – 432 adalah identik yaitu berbentuk heksagonal. Ini dikarenakan parameter kisi dari masing-masing sampel yang saling identik.

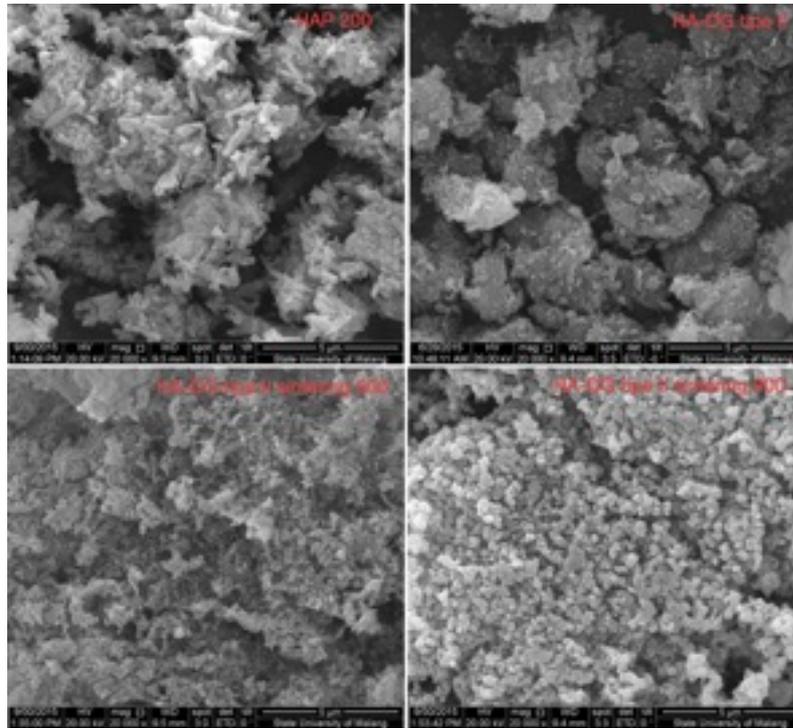
Hasil karakterisasi SEM



Gambar 48. Hasil karakterisasi SEM hidroksiapatit-DG tipe II sintering 600°C dengan perbesaran 1.000x (a), perbesaran 5000x (b), perbesaran 10.000x (c), perbesaran 20.000x (d)



Gambar 49. Hasil karakterisasi SEM hidroksiapatit sintering 900°C dengan perbesaran 1.000x (a), perbesaran 5000x (b), perbesaran 10.000x (c), perbesaran 20.000x (d)



Gambar 50. Hasil karakterisasi SEM hidroksiapatit HAP 200 (a), hidroksiapatit DG-II tanpa sintering (b), hidroksiapatit DG-II dengan sintering 600°C (c), hidroksiapatit DG-II dengan sintering 900°C (d)

Pada gambaran SEM, didapatkan kelompok sintering memiliki bentukan kristal yang lebih membulat dan halus, hal ini diperkirakan karena proses pemanasan yang mempengaruhi bentuk partikel-partikelnya

Hasil uji toksisitas pada Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells

Tabel 15. Prosentase kematian sel pada pemaparan hidroksiapatit-DG berbagai tipe

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	HAP 200	DG Tipe II	DG Tipe III	DG Tipe IV
10	23.803 ± 1.395	29.884 ± 2.200	28.978 ± 1.425	33.204 ± 2.518
100	24.816 ± 0.794	34.344 ± 1.009	29.320 ± 0.468	34.690 ± 0.716
1000	26.311 ± 1.236	33.377 ± 1.605	34.850 ± 1.111	37.798 ± 0.993

Tabel 18. Uji LSD Prosentase kematian sel pada pemaparan hidroksiapatit-DG berbagai tipe

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Kelompok	HAP 200	HA DG II	HA DG III	HA DG IV
10	HAP 200		0,005	0,012	0,000
	HA DG II	0,005		0,585*	0,070*
	HA DG III	0,012	0,585*		0,029
	HA DG IV	0,000	0,070*	0,029	
100	HAP 200		0,000	0,000	0,000
	HA DG II	0,000		0,000	0,597*
	HA DG III	0,000	0,000		0,000
	HA DG IV	0,000	0,597*	0,000	
1000	HAP 200		0,000	0,000	0,000
	HA DG II	0,000		0,189*	0,003
	HA DG III	0,000	0,189*		0,021
	HA DG IV	0,000	0,003	0,021	

Tabel 19. Prosentase kematian sel pada pemaparan hidroksiapatit-DG tipe II sintering

Kelompok	I (%)	II (%)	III (%)	Rerata ± standar deviasi (%)
HAP 200	26.27	27.57	25.10	26.31 ± 1.24
Non-sintering	34.72	31.60	33.81	33.38 ± 1.60
Sintering 600°C	42.65	49.80	46.29	46.25 ± 3.58
Sintering 900°C	36.02	38,88	37.58	37.49 ± 1.43

Tabel 19. Uji LSD Prosentase kematian sel pada pemaparan hidroksiapatit-DG tipe II sintering

Konsentrasi (µg/ml)	Kelompok	HAP 200	HA DG-II Non sintering	HA DG-II Sintering 600° C	HA DG-II Sintering 900° C
1000	HAP 200		0.004	0.000	0.000
	HA DG-II Non sintering	0.004		0.000	0.049
	HA DG-II Sintering 600° C	0.000	0.000		0.001
	HA DG-II Sintering 900° C	0.000	0.049	0.001	

Tabel 20. Prosentase kematian sel pada pemaparan hidroksiapatit-DG tipe III dengan waktu penyimpanan yang berbeda

Kelompok	I (%)	II (%)	III (%)	Rata-rata Kematian
				Sel ± Standart Deviasi (%)
HAP 200	26,177	27,473	25,001	26,220 ± 1,223
Hidroksiapatit-DGIII 0 Tahun	33,564	35,767	34,860	34,730 ± 1,107
Hidroksiapatit-DGIII 1 Tahun	31,102	30,583	31,361	31,015 ± 0,396
Hidroksiapatit-DGIII 3 Tahun	34,212	35,896	34,989	35,032 ± 0,843

Tabel 21. Uji LSD Prosentase kematian sel pada pemaparan hidroksiapatit-DG tipe III dengan waktu penyimpanan yang berbeda

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Kelompok	HAP 200	HA-DGIII 0 Th	HA-DGIII 1Th	HA-DGIII 3Th
1000	HAP 200		0,000	0,000	0,000
	HA-DGIII 0 Th	0,000		0,001	0,707*
	HA-DGIII 1 Th	0,000	0,001		0,001
	HA-DGIII 3 Th	0,000	0,707*	0,001	

Berdasarkan hasil uji toksisitas pada *mesenchymal stem cells* (MSCs) tikus terlihat bahwa terdapat kematian sel dengan persentase yang berbeda pada kelompok kontrol (HAP 200), DG tipe II, tipe III, dan tipe IV di setiap konsentrasi baik 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$, maupun 1000 $\mu\text{g/ml}$. Kematian sel merupakan bagian dari respon biologis yang menandakan telah terjadi penurunan viabilitas sel saat berkontak dengan ekstrak hidroksiapatit sebagai bahan yang akan diuji biokompatibilitasnya. Viabilitas sel adalah kemampuan sel untuk dapat bertahan hidup dengan menunjukkan respon sel seperti perubahan permeabilitas membran atau gangguan pada jalur metabolisme tertentu, dimana sel dapat bertahan dari proses apoptosis dan nekrosis yang dipicu oleh pemaparan suatu agen. Oleh karena itu, penurunan viabilitas sel dapat mengindikasikan toksisitas suatu bahan.

Pada penelitian ini, persentase kematian sel yang didapat setelah dilakukan uji toksisitas menggunakan metode MTT assay merupakan hasil dari evaluasi toksisitas HAP 200 dan hidroksiapatit hasil sintesis limbah DG tipe II, tipe III, dan tipe IV. Parameter toksisitas berdasarkan CD_{50} menyatakan bahwa suatu bahan dikategorikan toksik apabila persentase sel hidup setelah terpapar bahan tersebut kurang dari 50% yang berarti kematian sel tidak melebihi 50% (Telli C dkk., 1999). Pada table 4.1 dan gambar 4.1 menunjukkan bahwa rata-rata persentase kematian sel pada HAP 200, hidroksiapatit hasil sintesis limbah DG tipe II, tipe III, dan tipe IV lebih rendah dari 50% pada seluruh konsentrasi yang diberikan. Hal tersebut membuktikan bahwa berdasarkan parameter toksisitas CD_{50} , HAP 200 dan hidroksiapatit hasil sintesis limbah DG tipe II, tipe III, dan tipe IV, tidak bersifat toksik.

Meskipun hidroksiapatit hasil sintesis limbah DG tipe II, tipe III, dan tipe IV dinyatakan tidak bersifat toksik, terdapat perbedaan persentase kematian sel yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol yaitu HAP 200. Faktor yang diprediksi mempengaruhi hal tersebut yaitu kandungan penyusun dari hidroksiapatit.

HAP 200 dan hidroksiapatit hasil sintesis limbah DG tipe II, tipe III, tipe IV, memiliki kandungan penyusun kristalinitas hidroksiapatit yang ditandai dengan adanya ion fosfat (PO_4^{3-}). Selain itu, sesuai dengan rumus kimia bahwa hidroksiapatit juga terdiri dari kalsium (Ca) sehingga dimungkinkan saat perendaman tidak hanya ion fosfat saja tetapi juga terjadi pelepasan ion kalsium (Ca^{2+}). Padahal adanya pelepasan ion PO_4^{3-} dan Ca^{2+} dapat berdampak signifikan terhadap *microenvironment* dan *mesenchymal stem cells* (Tsang EJ dkk., 2011). Pada penelitian pendahuluan, dilakukan uji AAS untuk melihat persentase ion Ca^{2+} yang dilepaskan, dan terbukti bahwa HAP 200 memiliki persentase yang lebih rendah dibandingkan hidroksiapatit hasil sintesis yaitu 101,33 ppm. Sedangkan pada uji spektrofotometri UV-VIS untuk melihat ion PO_4^{3-} , serbuk HAP melepaskan sebanyak 100,79 ppm ion fosfat. Persentase tersebut masih lebih tinggi nilainya dibandingkan pada hidroksiapatit hasil sintesis HA DG tipe III yang hanya 88,19 ppm.

Pelepasan ion PO_4^{3-} dan Ca^{2+} akan berdampak signifikan terhadap aktifitas sel tulang dan *mesenchymal stem cells*. Ion PO_4^{3-} dan Ca^{2+} diketahui ikut berperan dalam menurunkan viabilitas sel pada konsentrasi yang beragam dengan dampak yang maksimal. Ion PO_4^{3-} dan Ca^{2+} merangsang terjadinya induksi apoptosis dengan memodulasi permeabilitas membran mitokondria (Tsang EJ dkk., 2011).

Faktor lain yang diperkirakan mempengaruhi perbedaan persentase kematian sel antara HAP 200 dengan hidroksiapatit hasil sintesis yaitu disebabkan oleh proses sintesis hidroksiapatit pada limbah DG menggunakan metode hidrotermal. Penelitian Sopyan tahun 2002 telah membuktikan bahwa pada proses sintesis dihasilkan fasa ikutan yang tidak diharapkan seperti ion hidroksil (OH^-) yang berasal dari reaksi pembentukan molekul air ($18\text{H}_2\text{O}$). Diperkuat oleh karakteristik FTIR hidroksiapatit sintesis limbah DG tipe II, III, dan IV ditemukan fasa ikutan lain yaitu ion hidroksil sedangkan pada HAP 200 tidak ditemukan.

Fasa ikutan OH^- adalah radikal bebas dengan oksidan tinggi yang sangat reaktif terhadap berbagai macam biomolekul dan dapat menimbulkan afinitas pada unsur aktifnya. OH^- dapat bereaksi dengan struktur biologis sel dan merusak fungsi fisiologis pada sel. Hal

tersebut dapat berakhir dengan menimbulkan gangguan pada sistem seluler sehingga menyebabkan sel menjadi apoptosis, nekrosis, bahkan transformasi neoplastik. Beberapa mekanisme yang terjadi akibat pengaruh kehadiran OH^- diantaranya kerusakan pada membran sitoplasma, denaturasi protein, dan induksi kerusakan DNA (Longo JPF dkk., 2010)

Fasa ikutan lain yang juga manifestasi dari proses sintesis secara hidrotermal yaitu ion karbonat (CO_3^{2-}) dan kalsium oksida (CaO). pada CO_3^{2-} yang muncul diakibatkan manifestasi dari proses sintesis menggunakan metode hidrotermal dimana masih adanya senyawa organik hasil reaksi dengan kalsium yang belum sempurna pada suhu tersebut. CaO adalah fasa ikutan dari kalsium fosfat akibat dari gangguan dalam melengkapi OH^- pada saat pemanasan pada selama proses reaksi (Sopyan I dkk., 2002). CO_3^{2-} dan CaO menjadi fasa ikutan yang tidak dikehendaki karena merupakan *impurities* yang diduga memiliki efek patologis pada jaringan manusia serta mempengaruhi kekuatan mekanis saat sudah diimplantasikan pada tubuh (Chung R dkk., 2003).

Sementara itu, adanya perbedaan persentase kematian sel anantara kelompok DG tipe II, tipe III, dan tipe IV pada penelitian ini diperkirakan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kandungan penyusun dan bahan additive. Pada dasarnya, hidroksiapatit hasil sintesis memiliki unsur kimiawi yang sama yaitu berasal dari kalsium sulfat dihidrat ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Rantam FA dkk., 2014). Namun pada metode manufaktur, terdapat penambahan bahan penyusun seperti agen pewarna yang berbeda di masing-masing tipe gipsum keodokteran gigi.

Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa persentase kematian sel paling banyak terdapat pada paparan hidroksiapatit hasil sintesis limbah DG tipe IV di seluruh konsentrasi. Agen pewarna diduga menjadi faktor yang mempengaruhi banyaknya kematian sel tersebut. Hal tersebut diperkuat dengan hasil penelitian Karno tahun 2015 bahwa pada saat sintesis limbah DG tipe IV menggunakan metode hidrotermal menunjukkan bahwa bahan pewarna dalam DG tipe IV tidak dapat larut secara sempurna sehingga serbuk hidroksiapatit terlihat berwarna merah muda. Bahan pewarna sendiri terbagi menjadi dua macam yaitu yang berasal dari bahan organik dan anorganik. Pada kelompok DG tipe IV diduga menggunakan bahan pewarna anorganik karena saat dilarutkan, bahan pewarna tidak dapat larut. Bahan

pewarna anorganik terdiri dari kation dari unsur logam dan anion dari unsur non-logam. Adanya unsur logam, dipastikan bahwa bahan pewarna mempengaruhi toksisitas sel.

Selain itu, pada metode manufaktur gipsum kedokteran gigi tipe IV ditambahkan sebanyak 30% CaCl dan MgCl sebagai bahan additive untuk menghasilkan produk gipsum dengan partikel bubuk yang memiliki densitas lebih halus. Hal tersebut dimungkinkan adanya ion klorida (Cl), kalsium (Ca), dan magnesium (Mg) yang masih terbawa pada proses sintesis hidroksiapatit sehingga menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi kematian sel. Namun terdapat penelitian lain yang justru mengatakan ion logam seperti magnesium (Mg) berguna untuk menciptakan biokompatibilitas yang serupa seperti nanofungsi pada tubuh. Meskipun beberapa ion logam dinyatakan menguntungkan dalam proses fisiologis dalam tubuh, kenyataannya mengungkapkan bahwa ion logam memiliki beragam jalur komunikasi kimiawi dan bersifat reduktif, sehingga ion logam dapat keluar dari mekanisme kontrol seperti homeostasis, transportasi, pembagian dan penyatuan rancangan jaringan, dan komponen sel. Hal tersebut yang akhirnya memicu terjadinya produksi radikal reaktif yang menyebabkan kerusakan DNA, peroksidasi lemak, dan penurunan jumlah protein (Valco M dkk., 2005).

Faktor penentu lainnya yang mempengaruhi persentase kematian sel adalah konsentrasi hidroksiapatit yang paparkan. Variasi konsentrasi pada penelitian ini merupakan bagian dari parameter eksternal tambahan yang akan mempengaruhi persentase kematian sel. Semakin tinggi konsentrasi yang dipaparkan pada sel, maka akan semakin banyak terjadi pelepasan ion oleh hidroksiapatit. Uji *Post hoc test* berupa LSD untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan yang bermakna yang dilihat antar perbedaan konsentrasi. Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok DG tipe II, tipe III, dan tipe IV dengan kelompok kontrol (HAP 200) pada konsentrasi 10 µg/ml, 100 µg/ml maupun 1000 µg/ml.

Diantara DG tipe II, tipe III, dan tipe IV diketahui bahwa DG tipe III memiliki toksisitas paling rendah pada konsentrasi 100 µg/ml dengan nilai 29.320 ± 0.468 dan 10 µg/ml dengan nilai 28.978 ± 1.425 . Hal yang menarik adalah meskipun pada konsentrasi 1000 µg/ml DG tipe II menunjukkan toksisitas terendah dengan nilai 33.377 ± 1.60 , nilai tersebut tidak bernilai signifikan dengan DG tipe III dengan nilai 34.850 ± 1.111 . Dapat diartikan

bahwa kelompok DG tipe III merupakan kelompok dengan sitotoksitas terendah pada setiap variasi konsentrasi.

Pada kelompok sintering, didapatkan kematian sel yang lebih tinggi dibandingkan kelompok non sintering. Secara teori, proses *sintering* dapat meningkatkan derajat kristalinitas suatu material. Derajat kristalinitas yang tinggi dapat menurunkan degradasi material seperti yang dipaparkan oleh Indrina (2012). Apabila degradasi material rendah, maka ion yang terlepas dalam media perendaman juga sedikit. Pada studi yang dilakukan oleh Nazarpak, dkk., dalam Indrina (2012) menunjukkan bahwa suhu kalsinasi di atas 1000° C dapat meningkatkan derajat kristalinitas material secara signifikan. Hal tersebut dibuktikan dalam hasil uji pendahuluan menunjukkan bahwa kadar Ca²⁺ dalam media perendaman pada hidroksiapatit DG-II *sintering* lebih tinggi dibandingkan hidroksiapatit DG-II non *sintering* sehingga persentase kematian MSCs tikus yang dipapar hidroksiapatit DG-II non *sintering* lebih rendah dari yang dipapar hidroksiapatit DG-II *sintering*. Hal ini menunjukkan bahwa suhu *sintering* yang dilakukan belum meningkatkan derajat kristalinitas secara signifikan sehingga menyebabkan degradasi material masih tinggi. Akibatnya, konsentrasi ion dalam media perendaman hidroksiapatit DG-II *sintering* memiliki kadar yang tinggi, seperti yang ditunjukkan pada hasil uji pendahuluan sehingga tidak dapat ditoleransi oleh sel dan dapat menyebabkan kematian MSCs tikus.

Dalam kelompok HA sintesis, hidroksiapatit-DGIII 3 tahun memiliki persentase kematian sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan hidroksiapatit-DGIII 0 tahun dan hidroksiapatit-DGIII 1 tahun. Hal ini disebabkan karena tingginya kadar ion fosfat sehingga terjadi ketidakseimbangan struktur gugus fosfat dalam hidroksiapatit-DGIII 3 tahun dibandingkan hidroksiapatit-DGIII 0 tahun dan hidroksiapatit-DGIII 1 tahun. Dalam Bashamboo (2012) dikatakan bahwa kadar ion fosfat yang berlebihan dapat menyebabkan kematian pada sel.

Faktor *impurities* lain yang mungkin ada adalah kandungan ion logam pada air yang digunakan saat manipulasi gipsum. Proses manipulasi gipsum di RSGM FKG Universitas jember menggunakan air sumur yang didalamnya terkandung ion logam. Gipsum yang digunakan pada penelitian ini merupakan model kerja dengan waktu penyimpanan 0 tahun, 1 tahun dan 3 tahun, dimana penggunaan air merupakan variable yang tidak dapat terkontrol. Penelitian yang dilakukan oleh Anggraini (2012), mengatakan bahwa terdapat logam yang

terlarut pada air sumur di kawasan Jember Kecamatan Summersaari. Logam yang terlarut pada air sumur tersebut adalah cuprum/tembaga (Cu) dan chlorine. Pada dasarnya, logam merupakan unsur esensial yang sangat dibutuhkan, namun beberapa diantaranya (dalam kadar tertentu) bersifat racun. Pada uji AAS didapatkan kadar Cu yang dilepas dalam rendaman hidroksiapatit-DGIII dalam jumlah yang sangat kecil, hal ini berarti logam berat memiliki pengaruh yang kecil pada kematian sel. Maka dari itu, perlu dilakukan uji lebih lanjut tentang kandungan unsur logam yang terkandung dalam serbuk hidroksiapatit yang disintesa dari limbah dental gipsum.

Dari penelitian ini, dapat ditemukan beberapa faktor yang mempengaruhi kematian sel. Namun penelitian ini belum dapat mengungkap mekanisme kematian sel akibat faktor tersebut. Pada dasarnya terdapat tiga tipe dari kematian sel yaitu apoptosis, autofag, dan nekrosis. Apoptosis adalah kematian sel yang terprogram dan sesuai dengan waktunya (Orrenius S dkk., 2010). Adapun autofag merupakan kematian sel yang ditentukan oleh kemampuan sel untuk bertahan hidup atau mati. Sedangkan nekrosis adalah kematian sel secara tiba-tiba dan tidak sesuai waktunya. Nekrosis sel dapat disebabkan oleh lingkungan yang ekstrim seperti asam, panas, dan dingin, atau akumulasi berlebihan dari ROS (*Reactive Oxidative Species*). Apoptosis sendiri dapat disebabkan oleh pelepasan enzim oleh lisosom yang menyebabkan terjadinya efek domino untuk melakukan lisis membrane sel (Chaabane W dkk., 2012).

Bab 6. Rencana Tahapan Berikutnya

Tahapan penelitian berikutnya adalah pembuatan scaffold. Scaffold merupakan bentukan tiga dimensi yang berfungsi sebagai matriks tempat melekatnya sel agar sel dapat berproliferasi dan berdiferensiasi untuk dapat membentuk jaringan tulang baru. Oleh karena itu diperlukan scaffold yang memiliki karakteristik yang kompatibel bagi sel.

Scaffold kemudian akan diimplankan pada defek tulang agar dapat membentuk jaringan tulang baru. Keberhasilan pembentukan jaringan tulang dievaluasi berdasarkan pengamatan histopatologis .

Bab 7. Kesimpulan dan Saran

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan sejauh ini, menunjukkan bahwa limbah dental gipsum memiliki potensi untuk disintesa menjadi hidroksiapatit melalui proses hidrotermal. Spektra FTIR dan pola XRD menunjukkan gambaran yang serupa dengan hidroksiapatit komersial, meskipun hasil SEM menunjukkan perbedaan morfologi dan ukuran. Hasil uji sel juga memperlihatkan prosentase kematian sel rata-rata dibawah 40% akan tetapi masih dibawah HA komersil

Berdasarkan hasil penelitian, perlu dilakukan pengujian kandungan unsur Ca dan P agar dapat mengetahui pengaruhnya pada viabilitas sel.

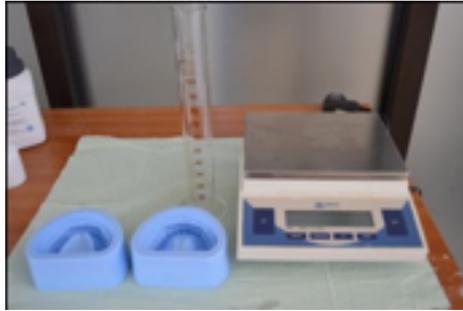
DAFTAR PUSTAKA

- Anusavice, Kenneth J, 2003, Phillips: Buku Ajar Ilmu Bahan Kedokteran Gigi, Jakarta, EGC
- Bronzino, J. D., 2006, Tissue Engineering and Artificial Organs, 3rd edition, CRC Press.
- Craig, R.G., Power, J.M., 2002, Restorative Dental Material, Edisi 11, Mosby Inc. St.Louis
- Furuta, S., Katsuki, H., Komarneni, S., 1998, *Porous Hydroxyapatite Monoliths from Gypsum Waste*, *J Mater Chem* 8: 2803-6
- Herliansyah, M.K., Muzafar, C., dan Tontowi, A.E., 2012, Natural Bioceramics Bone Graft: A Comparative Study of Calcite Hydroxyapatite, Gypsum Hydroxyapatite, Bovine Hydroxyapatite and Cuttlefish Shell Hydroxyapatite, *Proceedings of the Asia Pacific Industrial Engineering & Management Systems Conference 2012 V. Kachitvichyanukul, H.T. Luong, and R. Pitakaso Eds.* pp. 1137-1146.
- Katsuki, H., Furuta, S., Komarneni, S., 1999, *Microwave Versus Conventional-Hydrothermal Synthesis of Hydroxyapatite Crystals from Gypsum*, *J Am Ceram Soc* 87 (8):2257-9
- Lieberman J.R., dan Friedlaender G.E., 2005, Bone Regeneration and Repair: Biology and Clinical Applications, 1st edition, Humana Press, Totowa : New Jersey, p : 241-261.
- Othsuki M., 2009, Bone-grafting Materials Their Uses Advantages and Disadvantages, *The Journal of the American Dental Association*, Vol. 133.
- Peroos, S., Zhimei D., dan de Leeuw, N.H., 2006, A Computer Modelling Study Of The Uptake, Structure And Distribution Of Carbonate Defects In Hydroxy-Apatite, *Biomaterials*, 27, p : 2150–2161.
- Sedyono, J. dan Tontow, A.E., 2008 Proses Sintesis dan Karakterisasi FTIR Hidroksiapatit dari Gypsum Alam Kulon Progo, *MEDIA MESIN*, Vol. 9, No. 1, Januari 2008, 6 – 12
- Suzuki, Y., Matsuya, S., Udoh, K., Nakagawa, M., Tsukiyama, Y., Koyano, K., dan Ishikawa, K., 2005, Fabrication of Hydroxyapatite Block From Gypsum Block Based on (NH₄)₂ HPO₄ Treatment, *Dental Material Journal*, 24 (4), p : 515-521.
- Rimondini, L., Nicolò, N-A., Milena, F., Gaetano G., Matilde, T., dan Giardino, R., 2004, In Vivo Experimental Study On Bone Regeneration In Critical Bone Defects Using An Injectable Biodegradable PLA/PGA Copolymer. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Patholog.*. Bologna: Instituti Ortopedic Giardino.
- Rocha, J. H. G., Lemos, A. F., Kannan, S., Agathopoulos, S., Ferreira. J. M. F, Valerio, P., dan Oktar. F. N., 2005, *Scaffolds* for Bone Restoration from Cuttlefish, *Bone* 37, p : 850-857.
- Thomas , C. B. dan Burg, K. J. L, 2007, Tissue Engineered Bone Replacements Systems, *European Cells and Materials* Vol. 13. Suppl. 2.

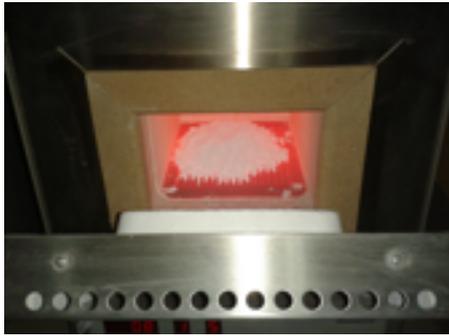
- van Gaalen S, Kruyt M, Meijer G, Mistry A, Van Den Brucken J, Jansen J., De Groot K., Cancedda R., Olivo C., Yaszemski M., dan Dhert W., 2008, Tissue Engineering of The Bone, *Tissue Engineerring*, Blitterswijk, C (eds), Elsevier, San Diego, p : 560.
- Zhu, W., Zhang, X., Wang, D., Lu, W., Y. Ou, Y. Han, K., Zhou, H., Liu, W., Feng, L., dan Zeng, Y., 2009, Experimental Study on the Conduction Function of Nano-Hydroxyapatite Artificial Bone, *Published in Micro & Nano Letters*, doi: 10.1049/mnl.0049

Lampiran

1. Foto Alat dan Bahan Penelitian



2. Foto Prosedur Penelitian



3. Foto Produk Penelitian tahap 1



