



Sintesis Hidroksiapatit secara Elektrolisis sebagai Bahan Baku Pembuatan *Scaffold Tissue* HA/PVA-AgCl untuk Aplikasi Penyembuhan Luka

(*Synthesis of Hydroxyapatite by Electrolysis as Raw Material for Making HA/PVA-AgCl Tissue Scaffold for Wound Healing Application*)

Supriyono Supriyono^{a*}, Bambang Poerwadi^a, Denny Widhiyanuriyawan^b, Nasirutol Wildah^a, Mahfita Ardyarum^a, Nabila Widadudari^a, Ilhan Junio Trizardi^a, Ulya Ahda Yustisia^a

^aDepartemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Brawijaya
Jalan MT Haryono167, Lowokwaru, Malang, 65145, Indonesia

^bDepartemen Teknik Mesin, Fakultas Teknik, Universitas Brawijaya
Jalan MT Haryono167, Lowokwaru, Malang, 65145, Indonesia

*Corresponding author: supriyono16@ub.ac.id

DOI: 10.20961/alchemy.20.2.80273.206-217

Received 8 November 2023, Revised 5 April 2024, Accepted 1 July 2024, Published 30 September 2024

Kata kunci:

elektrolisis;
hidroksiapatit;
nanopartikel;
pre-klinis;
scaffold tissue.

ABSTRAK. Hidroksiapatit (HA) sebagai bahan dasar dalam *scaffold tissue* memiliki kemampuan untuk berikatan langsung dengan jaringan tubuh secara *in vivo*. *Scaffold tissue* pada penelitian ini dalam bentuk membran komposit terdiri dari nHA/PVA-AgCl. AgCl berfungsi sebagai agen antibakteri, sedangkan PVA berfungsi sebagai polimer perekat. Ukuran nanometer untuk HA diperoleh melalui proses elektrolisis yang mengatur voltase untuk mengendalikan ukuran partikel. Variasi potensial listrik elektrolisis 4, 5, dan 6 V digunakan dalam proses selama enam jam. Sebagai pembanding, HA komersil juga digunakan dalam penelitian ini dan hasilnya menunjukkan bahwa voltase 5 V menghasilkan HA yang murni tanpa adanya *brushite*. Dalam hal diameter partikel, HA yang disintesis dengan potensial listrik 4, 5, dan 6 V, serta HA komersil masing-masing memiliki diameter 232 nm, 276 nm, 355 nm, dan 5421 nm. Metode BET untuk pengujian luas permukaan menghasilkan nilai berturut-turut untuk variabel potensial listrik elektrolisis HA 4, 5, dan 6 V, serta HA komersil masing-masing adalah 317,22; 344,247; 323,419; dan 205,779 m²/g. Hasil uji pre-klinis selama tujuh hari menunjukkan bahwa *scaffold tissue* yang menggunakan HA sintesis dengan voltase 5 V menghasilkan pertumbuhan fibroblas yang paling baik, dengan nilai rata-rata sekitar 47,3 ± 4,53 fibroblas/nm².

Keywords:

electrolysis;
hydroxyapatite;
nanoparticle;
pre-clinic;
scaffold tissue.

ABSTRACT. Hydroxyapatite (HA), the primary material in *scaffold tissue*, can directly interact with the body's tissues *in vivo*. In this research, the *scaffold tissue* forms a composite membrane consisting of nHA/PVA-AgCl, with AgCl as an antibacterial agent and PVA as a binding polymer. Nanometer-sized HA particles are obtained through electro-synthesis, controlling voltage to regulate particle size. Three voltage variations, 4, 5, and 6 V are used in the process for 6 hours. Commercial HA is also used for comparison, and the results indicate that 5 V voltage produces pure HA without brushite contamination. In terms of particle diameter, HA synthesized at 4, 5, 6 V, and commercial HA each have diameters of 232, 276, 355, and 5421 nm, respectively. The BET method is employed to test surface area, yielding consecutive values for the electro-synthesized HA voltage variations, with 4, 5, 6 V, and commercial HA having surface areas of 317.22; 344.247; 323.419; and 205.779 m²/g, respectively. The pre-clinical test in 7-days period findings reveal that *scaffold tissue* using HA synthesized at 5 V voltage produces the best fibroblast growth, with an average value of approximately 47.3 ± 4.53 fibroblasts/nm².

PENDAHULUAN

Peristiwa terjadinya luka dalam dunia kedokteran dimulai dengan terputusnya suatu struktur jaringan dalam tubuh. Jaringan yang sederhana seperti epitel kulit terputus pertama kali, kemudian meluas ke lapisan di bawahnya seperti jaringan subkutis, lemak, otot, tulang, tendon, pembuluh darah, dan syaraf. Secara teknis, proses alternatif penyembuhan luka pada kulit yaitu dengan substitusi kulit sehingga mengaktifkan regenerasi luka. Regenerasi luka dapat dilakukan dengan menggunakan *dermal scaffold* yang biokompatibel untuk meregenerasi jaringan

Cite this as: Supriyono, S., Poerwadi, B., Widhiyanuriyawan, D., Wildah, N., Ardyarum, M., Widadudari, N., Trizardi, I. J., and Yustisia, U. A., 2024. Sintesis Hidroksiapatit secara Elektrolisis sebagai Bahan Baku Pembuatan *Scaffold Tissue* HA/PVA-AgCl untuk Aplikasi Penyembuhan Luka. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 20(2), 206-217. <https://dx.doi.org/10.20961/alchemy.20.2.80273.206-217>.

dengan pembentukan struktur sementara yang dapat terdegradasi seiring waktu. Menurut Milla *et al.* (2018), material *scaffold* dapat berasal dari alam, sintetis, dan/atau direkayasa menggunakan berbagai pendekatan.

Material *scaffold* alam atau disebut dengan biopolimer umumnya terdiri dari kolagen, gelatin, fiber, dan kitosan. Kekurangan yang masih dimiliki oleh biopolimer tersebut ketika dijadikan sebagai material *scaffold tissue* adalah struktur polimer yang sangat rendah. Dalam bentuk *microsphere*, *scaffold* sering tidak kompatibel terhadap sel sehingga menurunkan viabilitas sel. Material *scaffold tissue* sintetis diantaranya adalah poliuretana, poliortoeseter, dan polifumarat. Material *scaffold tissue* sintetis memiliki kelemahan berupa deselularisasi jaringan yang tidak sempurna (Chaudhari *et al.*, 1974; Bakhshayesh *et al.*, 2018). *Scaffold tissue* berbahan biomaterial merupakan pilihan yang tepat karena memiliki sifat *biodegradable* yang tinggi dan kemampuan adsorpsi yang tinggi (Chaudhari *et al.*, 1974; Bakhshayesh *et al.*, 2018).

Salah satu bahan *composite scaffold* yang dapat digunakan adalah hidroksiapatit, yaitu biokeramik dengan basis kalsium fosfat. Hidroksiapatit pada umumnya telah banyak digunakan pada bidang medis sebagai penghantaran obat secara *cell delivery*. Hidroksiapatit sintetis memiliki sifat mekanik yang sangat rendah dibandingkan dengan hidroksiapatit alami yang biasanya terbuat dari tulang hewan. Salah satu cara untuk memperbaiki sifat mekanik hidroksiapatit, yaitu pelapisan dengan logam atau polimer seperti polivinil alkohol (Milla *et al.*, 2018). Penambahan perak klorida (AgCl) ke dalam nHA (nanohidroksiapatit) untuk bahan *scaffold tissue* dikarenakan AgCl merupakan logam dengan sifat oligodinamik tinggi sehingga mampu membunuh bakteri pada konsentrasi rendah dalam waktu yang singkat (Ribeiro *et al.*, 2017).

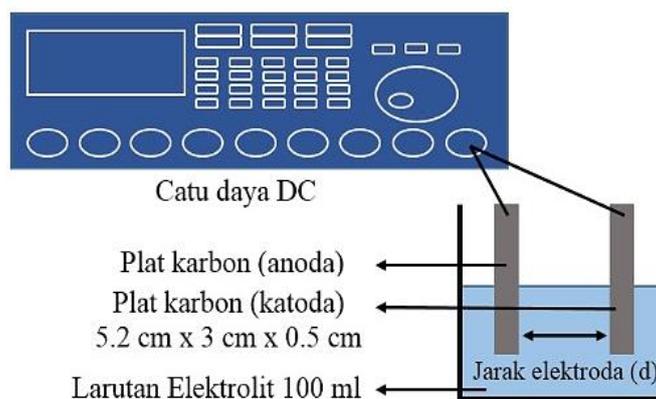
Senyawa nHA merupakan bahan bioaktif ideal yang komposisi dan struktur kristalnya sama dengan hidroksiapatit yang berasal dari tulang hewan dan mampu berikatan langsung pada jaringan secara *in vivo*. Material nHA telah dikembangkan sebagai bahan regenerasi tulang karena sifat osteokonduktifnya yang sangat baik, ketahanan abrasi dan korosi yang baik, serta sifat kimia yang stabil. Perkembangan pemanfaatan *scaffold tissue* nHA masih dominan dalam bidang *bone repair* dan biomedis gigi sehingga aplikasi *scaffold tissue* nHA dalam bidang *dermal tissue* tergolong ke dalam hal baru. Maka, *composite scaffold* nHA Perak klorida-Polivinil Alkohol (nHA/PVA-AgCl) dalam bentuk membran bertujuan agar biomaterial bisa efektif merangsang pertumbuhan sel dan jaringan yang mengalami kerusakan akibat luka melalui sifat porositasnya (Bakhshayesh *et al.*, 2018). Berdasarkan hal tersebut, dilakukan uji karakterisasi material pada riset ini dengan mengamati gugus fungsi, fase kristal, dan ukuran diameter porositas membran nHA/PVA-AgCl (Ribeiro *et al.*, 2017).

Pada penelitian ini, membran nHA/PVA-AgCl dimanfaatkan sebagai bahan *scaffold tissue* untuk mempercepat penyembuhan luka. Hidroksiapatit disintesis secara elektrolisis. Salah satu kelebihan metode sintesis partikel secara elektrolisis adalah dapat mengontrol ukuran partikel dengan cara mengatur arus dan voltase yang digunakan. Sebagai perbandingan, metode lain yang dapat digunakan yaitu *solid-state*, emulsi, dan SPCS (*Self-propagating combustion synthesis*). Dari ketiga metode di luar elektrolisis tersebut, masih terdapat kekurangan secara berturut-turut, yaitu proses yang lama dan sulit untuk mencapai reaksi sempurna sehingga akan memicu produk *mixed-phase*, membutuhkan temperatur kalsinasi dan proses pemanasan di bawah titik leleh (*sintering*), serta temperatur awal yang tidak terkontrol dapat menyebabkan produk *mixed-phase* (Cox *et al.*, 2015).

METODE PENELITIAN

Riset ini dilaksanakan di Laboratorium Operasi Teknik Kimia, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Brawijaya, Malang. Tahap pertama adalah pembuatan larutan elektrolisis dengan pencampuran 167 mL CaCl₂·7H₂O (Merck) 0,2 M; 167 mL KH₂PO₄ (Merck) 0,2 M; dan 167 mL Na₂H₂EDTA·2H₂O (Merck) 0,2 M pada gelas beaker sehingga menghasilkan kurang lebih 500 mL larutan elektrolisis. Sintesis serbuk nanohidroksiapatit (nHA) disiapkan melalui metode elektrolisis dengan susunan alat pada percobaan ditunjukkan pada Gambar 1. Rangkaian alat terdiri dari satu set sel elektrolisis yang terdiri dari elektroda karbon pada anoda maupun katoda dengan ukuran masing-masing 5,2 cm × 3 cm × 0,5 cm serta *power supply* DC.

Sel elektrolisis dihubungkan dengan *power supply* DC (Merek GW Instek, model GPD X303S) yang berfungsi sebagai sumber energi listrik. Potensial listrik yang digunakan sebesar 4, 5, dan 6 V selama 6 jam dengan pengontrolan arus dan pH setiap 10 menit. Endapan kemudian disaring menggunakan *vacum jet ejector*. Endapan kemudian dicuci menggunakan air demineralisasi. Endapan yang telah dicuci kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 100 °C sampai didapatkan berat konstan. Setelah itu, dilakukan pelarutan PVA 7% w/w dengan cara menambahkan 7 g PVA yang dilarutkan dengan 93 g H₂O. Pelarutan ini dilakukan pada suhu 50 °C dan dihomogenkan menggunakan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan pengadukan 200 rpm.



Gambar 1. Rangkaian alat untuk sintesis serbuk nHA.

Pembuatan membran komposit nHA/PVA-AgCl dari perak klorida (AgCl) 0,05%, nanohidroksiapatit 2%, dan PVA 7% dicampur dengan menggunakan *hot plate* (Thermo Scientific) and *stirrer* dengan suhu 50 °C, kecepatan pengadukan 200 rpm selama 2 jam. Setelah homogen, pembuatan membran nHA/PVA-AgCl dilakukan secara inversi, yaitu nHA/PVA-AgCl dicetak di atas loyang, kemudian dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 85 °C selama 5 jam. Pelepasan membran dilakukan dengan ikatan silang menggunakan larutan NaOH 1 M. Membran yang terbentuk dicuci menggunakan akuades, kemudian dikeringkan pada suhu ruang selama 24 jam. Hasil pengeringan menghasilkan produk akhir berupa membran nHA/PVA-AgCl yang diaplikasikan sebagai *scaffold tissue*.

Identifikasi struktur kristalin nHA untuk bahan *scaffold* nHA/PVA-AgCl dilakukan dengan menggunakan difraktometer (XRD) tipe Philips PW3710 BASED pada tabung anoda Co dengan panjang gelombang (λ) 1,7889 Å. Distribusi ukuran partikel pada nanometer diuji melalui metode *Particle Size Analyzer* (PSA) menggunakan HORIBA LB 550 dengan prinsip hamburan cahaya laser oleh partikel dalam sampel. Diameter dan volume pori membran diuji menggunakan metode BET dengan alat BELSORP-mini. *Scaffold* nHA diuji pre-klinis pada 4 tikus putih (mencit) berkelamin jantan dengan berat 150 – 170 g, dilakukan penyayatan sehingga terbentuk luka yang sama (SK Rektor Nomor 057/SK/2008 tentang Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya). Luka kemudian dilakukan pembalutan dengan *Scaffold* nHA/PVA-AgCl hingga 21 hari pengamatan termasuk *pre-treatment*. Tikus putih dengan perlakuannya ditandai sebagai KI (hidroksiapatit komersial), KII (hidroksiapatit hasil sintesis 5V), KIII (tanpa diberi *scaffold*) dan KIV (tanpa diberi perlakuan/dilukai). Data kecepatan penyembuhan luka melalui fibroblas dianalisis menggunakan mikroskop (OLYMPUS tipe XC 10). Data diuji dengan pendekatan *Oneway ANOVA* untuk mendeskripsikan variasi dari jumlah data menjadi komponen-komponen yang digunakan untuk mengukur berbagai sumber variasi dengan tujuan menguji persamaan beberapa median secara simultan. *Oneway ANOVA* menggunakan tiga kelompok berbeda dalam satu faktor untuk mencari nilai rata-rata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mekanisme Reaksi Sintesis Serbuk nHA

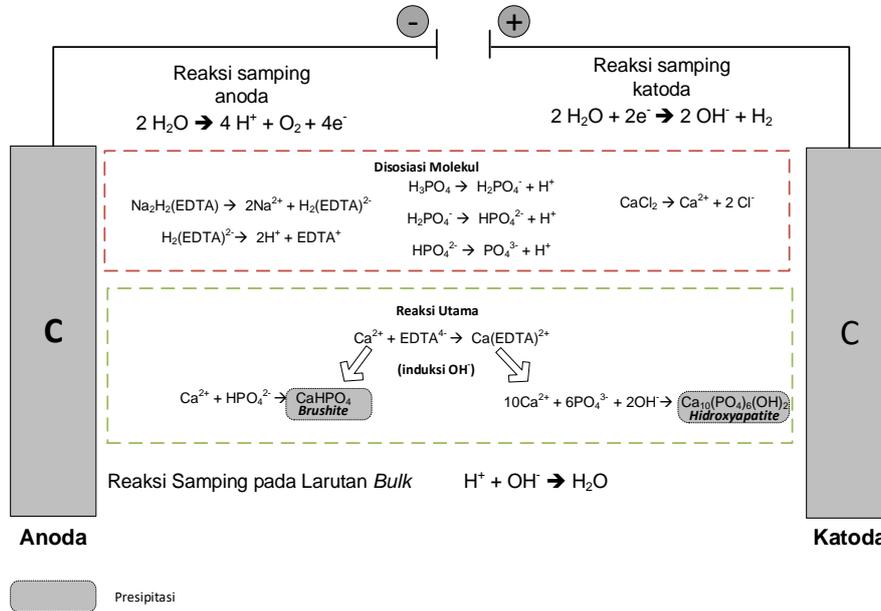
Sintesis serbuk nHA melalui metode elektrolisis merupakan proses isothermal. Konsentrasi spesi pada masing-masing sel elektroda dianggap konstan, sehingga total massa larutan tetap selama proses elektrolisis. Hal ini dikarenakan tidak adanya aliran masuk dan keluar dari sistem. Hipotesis untuk mekanisme reaksi didasarkan pada pembentukan ion $[\text{OH}]^-$ akibat terjadinya reaksi reduksi air. Sedangkan pada sisi anoda terjadi reaksi oksidasi air. Reaksi yang terjadi pada anoda dan katoda sesuai dengan [Reaksi 1](#) dan [2](#).



EDTA ditambahkan untuk membentuk ion CaEDTA^{2-} yang mana energi aktivasinya lebih rendah bereaksi dengan PO_4^{3-} dari dalam bentuk CaCl_2 ([Montero et al., 2006](#)). Akibat dari pembentukan ion OH^- pada Ca^{2+} yang terikat kepada EDTA dapat terlepas sebagai efek induksi dari ion $[\text{OH}]^-$. Bersamaan dengan itu, terjadi disosiasi asam fosfat H_3PO_4 menjadi ion PO_4^{3-} . Hasil disosiasi ion-ion tersebut merupakan reaktan bagi pembentukan hidroksiapatit. Pembebasan ion Ca^{2+} dan disosiasi H_3PO_4 sesuai dengan [Reaksi 3](#) dan [4](#).

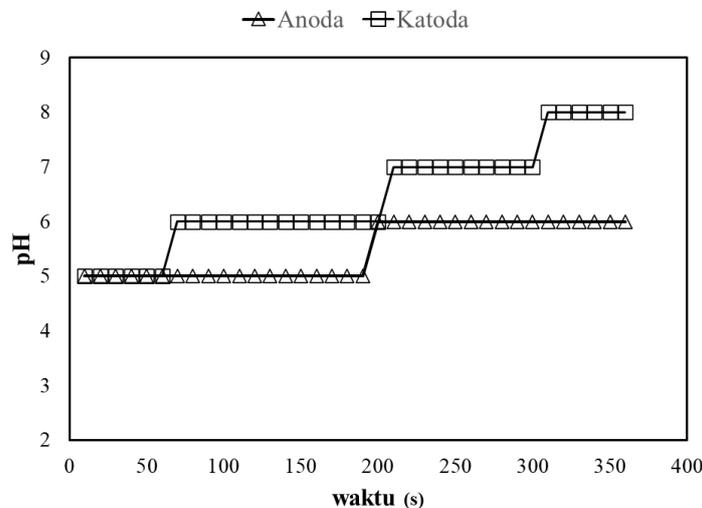


Pembentukan HA[Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂] terjadi melalui *brushite* [CaHPO₄·2H₂O] yang berperan sebagai intermediet. Perubahan *brushite* menjadi HA dapat berlangsung apabila konsentrasi ion [OH]⁻ yang tersedia di sekitar *brushite* mencukupi. Namun, apabila kondisi yang terjadi adalah sebaliknya, maka ion HPO₄³⁻ lebih stabil sehingga terbentuknya *brushite* lebih mendominasi. Pembentukan HA secara rinci sesuai dengan ilustrasi pada Gambar 2.



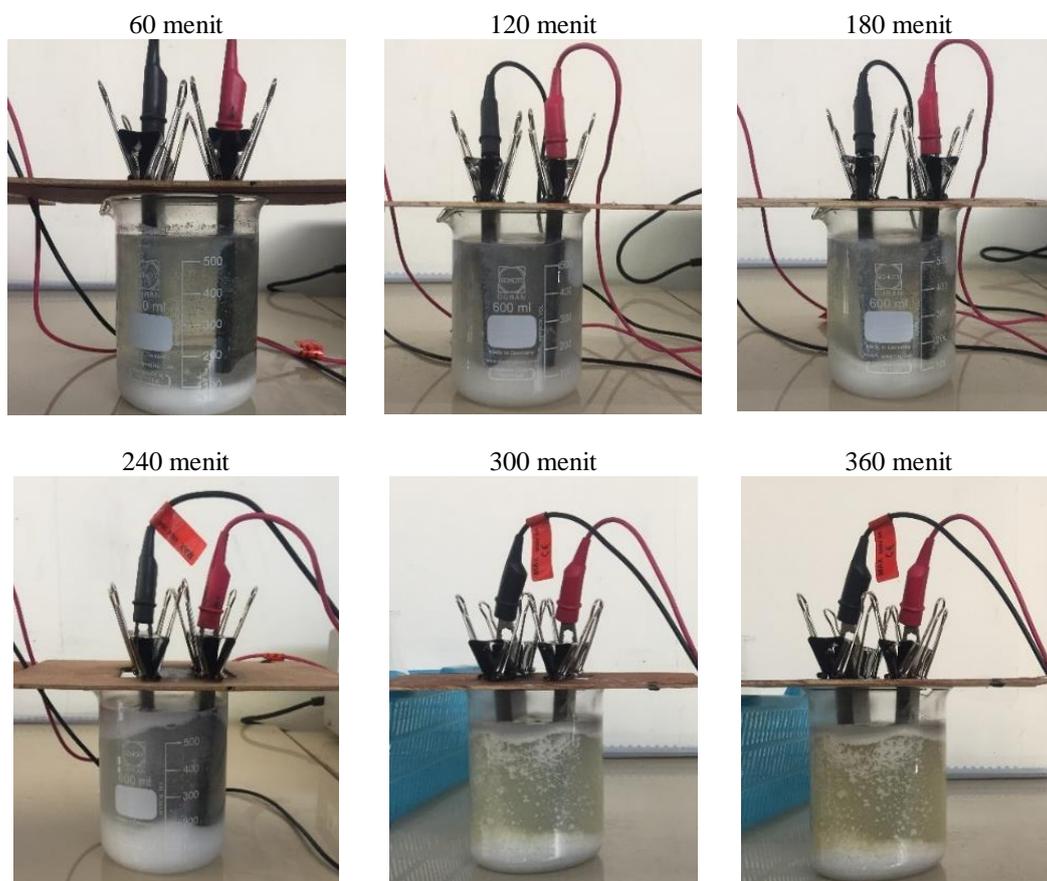
Gambar 2. Mekanisme reaksi pembentukan nHA.

Perbedaan pH pada katoda dan anoda juga menjadi standar terbentuknya *brushite* dan HA. Pada katoda (tepat pada belakang katoda) dengan pH yang lebih basa menandakan terbentuknya ion [OH]⁻ yang menjadi tanda keberadaan HA. Sedangkan untuk anoda (tepat pada belakang anoda) dengan pH < 7 atau tidak menghasilkan ion [OH]⁻ menandakan munculnya *brushite*. Pernyataan tersebut sesuai dengan hasil eksperimen laboratorium seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Distribusi pH pada anoda dan katoda variabel 4, 5, dan 6 V dari hasil elektrolisis.

Mekanisme perubahan *brushite* menjadi HA terjadi akibat ion $[\text{OH}]^-$ berdifusi ke dalam permukaan *brushite*, kemudian terjadi reaksi antar *brushite* dan ion $[\text{OH}]^-$ untuk membentuk HA. Reaksi yang terjadi dianggap sangat cepat sehingga laju reaksi pembentukan HA tersebut dikontrol oleh difusi massa. Hal ini menyebabkan konsentrasi ion $[\text{OH}]^-$ yang ada pada permukaan *brushite* menjadi 0.



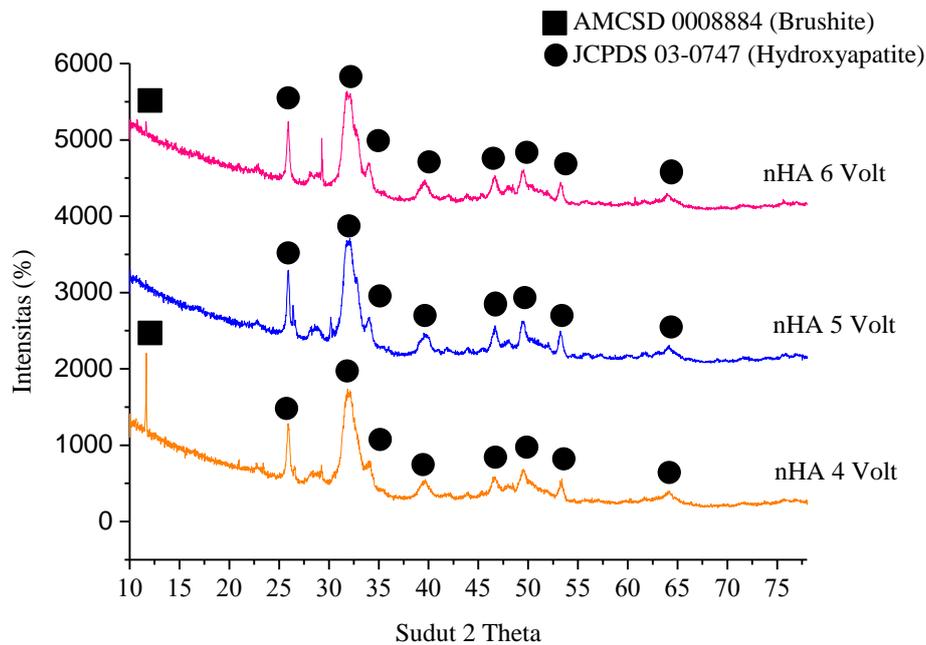
Gambar 4. Proses elektrolisis nHA dari 0 – 360 menit disertai perubahan warna.

Perubahan warna larutan elektrolit yang lebih signifikan dalam proses sintesis nHA ditunjukkan pada [Gambar 4](#) mulai menit ke-300. Elektrolisis nHA pada waktu tersebut menghasilkan pH elektrolit yang lebih basa, artinya telah terbentuk ion $[\text{OH}]^-$ pada katoda yang kemudian berdifusi ke daerah yang berkonsentrasi lebih rendah untuk membentuk ion CaEDTA^{2-} dari *brushite* ([Montero *et al.*, 2006](#)).

Pola Difraksi Serbuk nHA Sintesis

Perubahan *brushite* menjadi HA ditunjukkan oleh pola difraksi dari uji XRD sesuai [Gambar 5](#). Pola difraksi yang dihasilkan mengindikasikan terbentuknya HA 100% murni atau tidak adanya *brushite* yang tersisa, sehingga keberadaan ion $[\text{OH}]^-$ pada katoda cukup untuk mengubah *brushite* menjadi HA melalui mekanisme disolusi-presipitasi pada pH basa ([Štulajterová and Medvecký, 2008](#)). Kemurnian HA tersebut sesuai dengan data difraksi JCPDS 09-0432 pada sudut 2θ dengan parameter kisi kristal $a = b = 9.432 \text{ \AA}$ dan $c = 6.881 \text{ \AA}$ serta tidak adanya data difraksi JCPDS 72-0713 yang mengarah kepada *brushite*. HA pada puncak tersebut memiliki bentuk struktur kristal hexagonal pada *space group* $P6_3/m$ dengan nomor atom per unit sel adalah $\text{Ca}_1 = 4$, $\text{Ca}_2 = 6$, $\text{P} = 6$, $\text{O}_1 = 6$, $\text{O}_2 = 6$, $\text{O}_3 = 12$, dan $\text{H} = 2$.

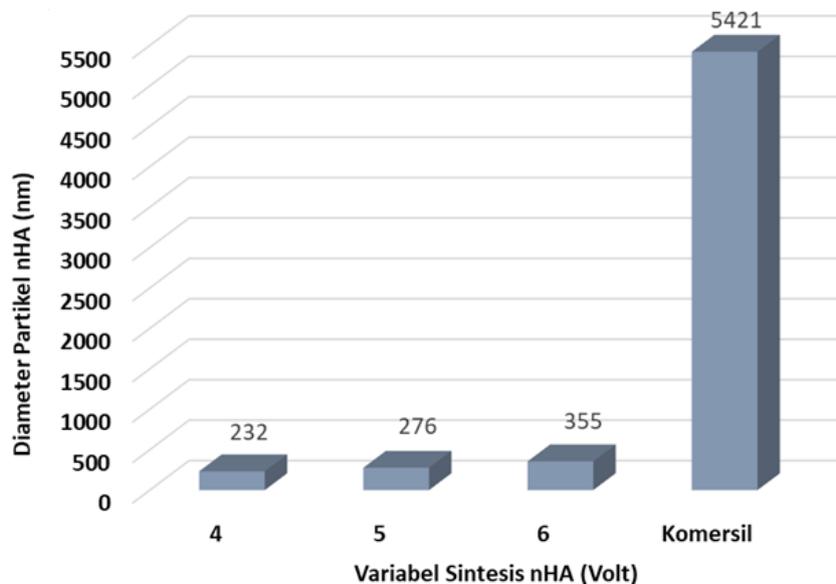
Uji XRD yang dilakukan pada rentang sudut $10^\circ - 60^\circ$ menghasilkan informasi mengenai struktur yang dimiliki oleh HA sintesis. Pada ketiga variabel voltase, fasa yang ditunjukkan berupa kristal, yakni susunan ion dengan pola yang teratur. Ditunjukkannya bentuk kristal dari hasil uji XRD tersebut dikarenakan terdapatnya intensitas serapan yang tinggi. Bentuk kristal pada HA dapat mengindikasikan telah berhasilnya proses sintesis untuk mencapai partikel berukuran nano. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan bahwa HA merupakan biokeramik, yaitu zat anorganik padat non logam yang dapat tergolong dalam nanopartikel dalam bentuk kristalnya ([Khan *et al.*, 2019](#)).



Gambar 5. Pola difraksi nHA hasil elektrolisis.

Diameter Partikel Hidroksiapatit dalam Nanometer

Ukuran partikel HA dalam nanometer dikontrol melalui proses elektrolisis dan diuji menggunakan *Particle Size Analyzer* sesuai dengan [Gambar 6](#). Hasil menunjukkan bahwa pada variabel 4 V ukuran partikel HA mencapai 232 nm, variabel 5 V memiliki ukuran partikel 276 nm, dan variabel HA pada voltase 6 V berada dalam ukuran 355 nm. Nilai diameter partikel HA sintesis yang didapatkan melalui proses elektrolisis berhasil memberikan ukuran partikel yang lebih kecil dibandingkan dengan ukuran diameter partikel HA komersil yang masih berada pada ukuran 5421 nm. Hal ini menunjukkan bahwa proses elektrolisis dapat menjadi kunci untuk mengontrol ukuran partikel hingga nanometer ([Nur *et al.*, 2018](#)). Penggunaan metode elektrolisis dalam proses sintesis HA seperti yang telah diuraikan sebelumnya dapat dibuktikan lebih unggul dari pada beberapa proses sintesis lainnya. Keefektivan yang ditampilkan oleh metode elektrolisis didasarkan pada ukuran partikel HA yang didapatkan dan kondisi operasi yang digunakan sesuai dengan [Tabel 1](#).



Gambar 6. Diameter partikel hidroksiapatit dalam ukuran nanometer pada setiap variabel.

Tabel 1. Perbandingan performa metode sintesis HA.

Metode	Ukuran Partikel HA (nm)	Kondisi Operasi	Sumber
<i>Solid-state</i>	>2000	t >24 jam; T = 1050 – 1250 °C	
Emulsi	>1000	t >24 jam; T = 20 – 50 °C	(Cox <i>et al.</i> , 2014)
SPCS (<i>Self-propagating combustion synthesis</i>)	>450	t <24 jam; T = 170 – 500 °C	
Elektrolisis	232 – 355	t = 6 jam; T = 25 – 40 °C	(Penelitian ini)

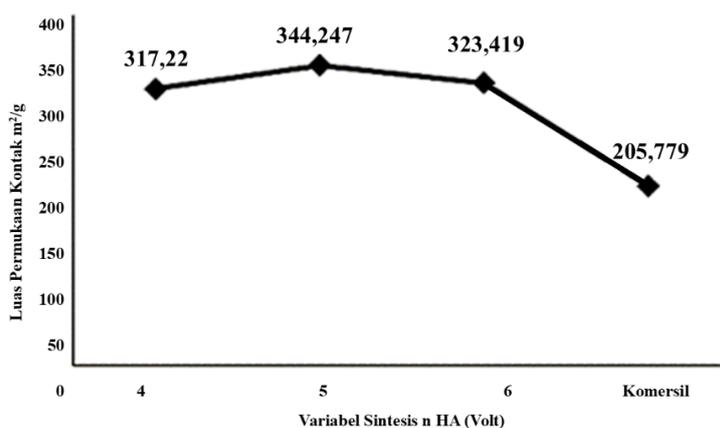
Voltase yang lebih besar belum memengaruhi ukuran partikel secara signifikan, meskipun ukuran ketiga HA sintesis masih lebih kecil daripada komersil. Hal ini karena masih terdapatnya partikel yang teraglomerasi sehingga munculnya gaya dorong gas H₂ dari elektrolisis air belum mampu mendorong secara maksimal ion [OH]⁻ dari katoda untuk keluar melewati celah-celah nanopartikel HA. Hasil uji XRD mengenai kemurnian HA sintesis berkorelasi erat dengan ukuran partikel yang dihasilkan. Pada HA sintesis variabel 4 V, kemunculan *brushite* terbilang cukup jelas dan signifikan jika dibandingkan dengan HA sintesis variabel 6 V. Masih terdapatnya senyawa *brushite* pada produk HA tersebut menyebabkan kerancuan pembacaan ukuran partikel hidroksiapatit.

Pada dasarnya *brushite* dan HA merupakan bagian dari mineral CaP (kalsium fosfat) yang sering digunakan sebagai prekursor dalam aplikasi biomedis dan tergolong ke dalam senyawa apatit. Senyawa *brushite* yang terbentuk pada kondisi asam kemudian akan terdegradasi pada pH yang lebih tinggi membentuk senyawa stabil seperti hidroksiapatit bergantung kepada rasio Ca/P. Pada senyawa HA, rasio Ca/P adalah $\geq 1,5$ sedangkan senyawa *brushite* memiliki rasio Ca/P 1. Nilai rasio Ca/P yang lebih kecil akan menurunkan ukuran partikel, menyebabkan suasana asam, dan partikel mudah larut (Wardani *et al.*, 2020). Hal tersebut sejalan dengan ukuran partikel yang dihasilkan oleh HA sintesis terutama variabel 4 V yang masih memiliki kandungan *brushite* lebih kecil daripada HA sintesis 5 V.

Perbandingan Luas Permukaan Kontak Partikel nHA

Pemberian variasi voltase pada proses elektrolisis HA dapat dihubungkan dengan luas permukaan kontak partikel HA. Masing-masing variabel memberikan nilai yang berbeda dan cukup signifikan dibandingkan dengan HA komersil. Pada HA sintesis 4 V luas permukaan kontak yang didapat yaitu 317,22 m²/g; variabel 5 V menunjukkan luas permukaan kontak 344,247 m²/g; dan variabel HA sintesis 6 V memiliki luas permukaan kontak sebesar 323,419 m²/g. Sedangkan pada HA komersil memiliki luas permukaan kontak yang cukup berbeda yaitu 205,779 m²/g, merupakan HA dengan luas permukaan kontak paling kecil di antara variabel sintesis.

Ukuran luas permukaan kontak partikel dapat dihubungkan dengan pemberian voltase selama proses elektrolisis. Pada voltase yang semakin besar maka luas area dari partikel akan semakin besar karena diameter partikel HA yang dihasilkan semakin kecil dalam ukuran nanometer (Can-Herrera *et al.*, 2021). Hal tersebut sesuai dengan uji BET untuk variabel 5 V, 6 V, dan komersil yang tertera pada Gambar 7 kemudian dibandingkan ukuran partikel yang didapat sesuai dengan uji PSA pada Gambar 6.

**Gambar 7.** Perbandingan luas permukaan kontak Partikel nHA.

Rendahnya luas permukaan kontak variabel HA sintesis 4 V yang memiliki ukuran partikel lebih kecil berdasarkan uji PSA dapat dikaitkan dengan porositas partikel. Pada variabel HA sintesis 4 V keberadaan *brushite* yang signifikan menyebabkan komponen yang terdapat di dalam produk hasil elektrolisis bersifat heterogen, yaitu *brushite* dan HA. Kedua komponen memiliki nilai porositas yang berbeda, porositas *brushite* terdapat pada nilai ($13 \pm 2\%$) dan HA memiliki porositas yang lebih tinggi yaitu ($38 \pm 7\%$) (Ajaxon *et al.*, 2015). Variasi nilai porositas tersebut mengacu kepada luas permukaan kontak yang dihasilkan, porositas intrapartikel yang besar akan memberikan luas permukaan kontak yang besar pula (Martin *et al.*, 2016). Namun, terdapatnya impuritis dalam jumlah yang cukup besar pada HA sintesis memberikan efek pada penurunan luas permukaan kontak, sesuai dengan fenomena variabel HA 4 V.

Efektivitas Membran nHA/PVA-AgCl terhadap Pertumbuhan Fibroblas

Pada Tabel 2 telah diuji sel fibroblas untuk *scaffold tissue* dengan variabel komersial dan *scaffold tissue* dari sintesis elektrolisis 5 V. Penggunaan variabel 5 V sebagai membran yang diujikan karena hasil XRD menunjukkan bahwa sintesis nHA pada variabel tersebut menunjukkan perubahan *brushite* menjadi HA dengan kemurnian 100%.

Statistik deskriptif

Statistik deskriptif merupakan langkah awal dalam analisis statistika untuk mengetahui karakteristik data. Statistik deskriptif berupa ukuran rata-rata dan standar deviasi dan *range* data. Analisis statistik deskriptif pada jumlah fibroblas tikus jantan pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata pertumbuhan fibroblas (per nm^2 *scaffold*).

Perlakuan	Rata-rata pertumbuhan fibroblas (per nm^2 <i>scaffold</i>)	Range
Komersil	$41,00 \pm 9,53$	27 – 61
5 V	$47,30 \pm 4,53$	35 – 55
Kontrol positif	$27,95 \pm 10,60$	12 – 52
Kontrol Negatif	$29,05 \pm 5,47$	19 – 37

Statistik deskriptif pada Tabel 2 menunjukkan bahwa sebagian jumlah besar fibroblas tikus jantan yang diberi *scaffold* komersial ialah antara 31,47 hingga 50,53 dengan jangkauan 34. Sebagian besar jumlah fibroblas tikus jantan yang diberi *scaffold* 5 V adalah antara 42,77 hingga 51,83 dengan jangkauan 20. Sebagian besar jumlah fibroblas tikus jantan sebagai kontrol positif ialah antara 17,35 hingga 38,55 dengan jangkauan 40. Terakhir, sebagian besar jumlah fibroblas tikus jantan sebagai kontrol negatif ialah antara 23,58 hingga 34,52 dengan jangkauan 18.

Tabel 3. Perbandingan performa *scaffold* terhadap rata-rata fibroblas.

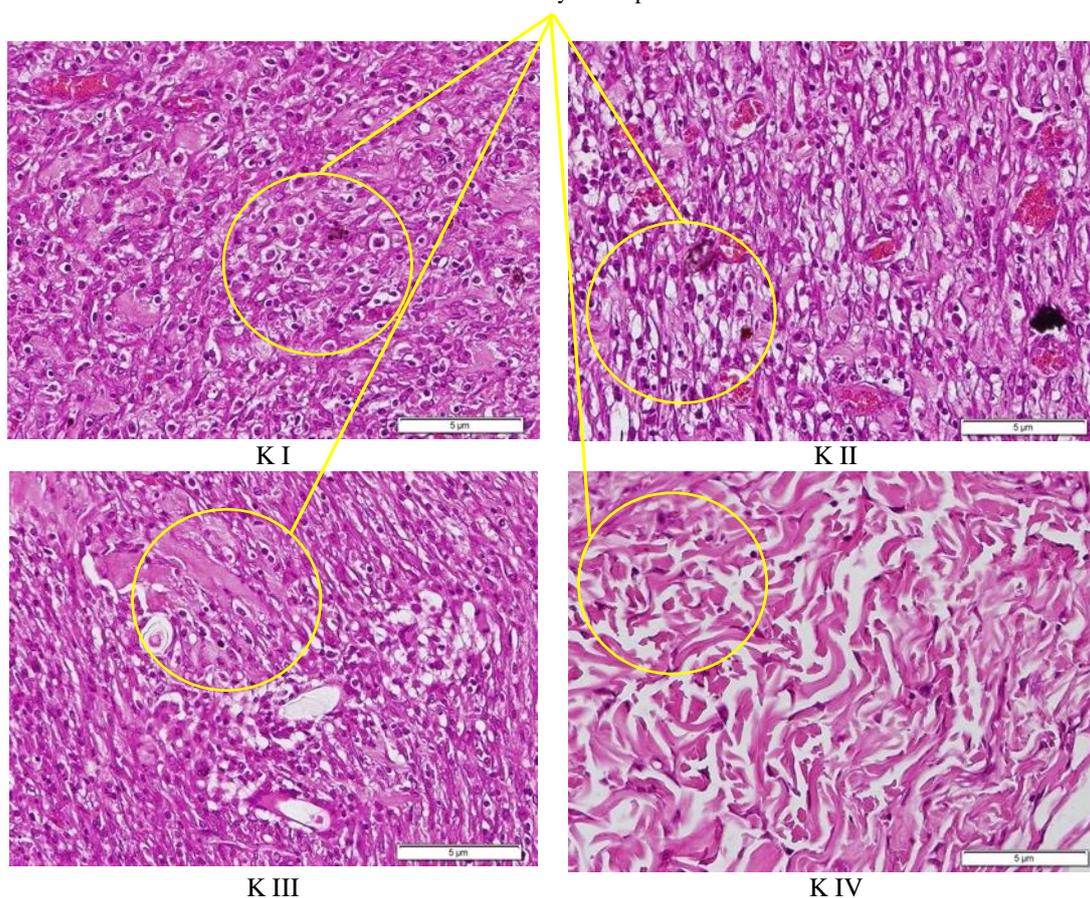
<i>Scaffold</i>	Ukuran Diameter Partikel	Rata-Rata Fibroblas	Referensi
CNCs/bFGF-GMs <i>scaffold</i>	100.000 nm	$0,024 \pm 5$ per nm^2	(Li <i>et al.</i> , 2015)
Hidroksiapatit (HA) <i>scaffold</i>	276 nm	$47,30 \pm 4,53$ per nm^2	(Penelitian ini)

Penelitian sebelumnya oleh Li *et al.* (2015) menunjukkan bahwa penggunaan *scaffold* dengan besar diameter partikel yaitu 100.000 nm untuk proses penyembuhan luka dengan melihat hasil pertumbuhan sel fibroblastis dalam pengamatan histologi didapatkan sebanyak $0,024 \pm 5$ per nm^2 . Sedangkan berdasarkan dari tabel di atas didapatkan untuk jumlah rata-rata *scaffold* 5 V (perlakuan) dengan diameter partikel 276 nm menunjukan angka $47,30 \pm 4,53$ per nm^2 sehingga jumlah sel fibroblas dihasilkan lebih banyak dibandingkan dari penelitian oleh Li *et al.* (2015). Penggunaan *scaffold tissue* dari hidroksiapatit (HA) dengan ukuran nano partikel seperti yang telah diuraikan sebelumnya dapat dibuktikan lebih unggul daripada *scaffold* dengan bahan dan ukuran lainnya. Keefektivan yang ditampilkan dari hasil rata-rata fibroblastis yang lebih tinggi, yaitu sebesar $47,30 \pm 4,53$ per nm^2 yang digunakan sesuai dengan Tabel 3.

Gambar 8 menunjukkan histopatologi hari ke-7 dengan pewarnaan fibroblas KI (hidroksiapatit komersial), KII (hidroksiapatit hasil sintesa 5 V), KIII (kontrol positif, tanpa diberi *scaffold tissue*) dan KIV (kontrol negatif, tanpa diberi perlakuan/dilukai) diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Kondisi

jaringan sampel pada hari ke-7 menunjukkan fibroblas terlihat banyak sementara pada kontrol negatif KIV masih terlihat jarang.

Contoh area yang menunjukkan jumlah fibroblas pada KI dan KII secara visual lebih banyak daripada KIII dan KIV



Gambar 8. Hasil uji preparat Histologi hari ke-7 dengan pewarnaan fibroblas.

Pengaruh perlakuan bahan scaffold terhadap jumlah fibroblas tikus jantan

Pengujian Asumsi Normalitas Residual dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan bahan *scaffold* terhadap jumlah fibroblas tikus jantan. Asumsi normalitas residual diperiksa melalui uji Saphiro Wilk dengan hipotesis H_0 adalah residual berdistribusi normal, dan H_1 adalah residual tidak berdistribusi normal. Kriteria pengujiannya adalah apabila *p-value* lebih dari 5%, maka nilai terima H_0 . Hal ini mengindikasikan residual berdistribusi normal. Residual berdistribusi normal berarti asumsi ANOVA terpenuhi. Hasil pemeriksaan normalitas residual ditunjukkan pada [Tabel 4](#).

Tabel 4. Uji normalitas residual.

Variabel	<i>p-value</i>	Keputusan	Keterangan
Banyak fibroblas Tikus	0,289	Terima H_0	Residual berdistribusi normal

Residual yang dihasilkan pada ANOVA dengan variabel selisih kadar gula darah tikus jantan sebelum dan setelah induksi berdistribusi normal dikarenakan *p-value* (0,289) lebih dari taraf nyata 5%. Artinya, residual berdistribusi normal dan asumsi terpenuhi.

Untuk memenuhi tujuan yang sama, digunakan asumsi lain yaitu homogenitas ragam residual diperiksa melalui uji Levene dengan hipotesis yakni H_0 adalah ragam residual homogen, dan H_1 adalah ragam residual tidak homogen. Kriteria pengujiannya ialah apabila *p-value* lebih dari 5%, maka diputuskan untuk menerima H_0 . Hasil uji Levene ditunjukkan pada [Tabel 5](#).

Tabel 5. Uji homogenitas ragam residual.

Uji Levene	Derajat bebas 1	Derajat bebas 2	<i>p-value</i>
5.206	2	57	0,008

Berdasarkan uji Levene sebagai uji homogenitas ragam residual, didapatkan *p-value* (0,008) kurang dari taraf nyata 5% sehingga disimpulkan untuk menolak H_0 . Hal ini mengindikasikan ragam residual tidak bersifat homogen dan asumsi tidak terpenuhi. Meskipun tidak terpenuhi, ANOVA masih tetap bisa digunakan untuk standar deviasi yang kecil dan moderat dari *homogeneity of variance*.

Signifikansi Parameter

Signifikansi parameter digunakan untuk melihat pengaruh suatu perlakuan terhadap respon sesuai dengan hipotesisnya. Hipotesis pada kasus ini yakni H_0 menunjukkan tidak ada pengaruh perbedaan penggunaan bahan *scaffold* terhadap rata-rata jumlah fibroblas tikus jantan, dan H_1 : Ada pengaruh perbedaan penggunaan bahan *scaffold* terhadap rata-rata jumlah fibroblas tikus jantan. Hasil ANOVA pada kasus ini ditunjukkan pada [Tabel 6](#).

Tabel 6. Uji homogenitas ragam residual.

<i>Tests of Between-Subjects Effects</i>					
Source	Type III Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3896,100	2	1948,050	26,120	0,000
Intercept	90093,750	1	90093,750	1207,989	0,000
Perlakuan	3896,100	2	1948,050	26,120	0,000
Error	4251,150	57	74,582		
Total	98241,000	60			
Corrected Total	8147,250	59			

R Squared = 0,478 (*Adjusted R Squared* = 0,460)

[Tabel 6](#) merupakan ringkasan hasil ANOVA, dapat diketahui bahwa *p-value* pada dosis (0,000) kurang dari taraf nyata sebesar 5%. Sehingga didapatkan dengan kepercayaan sebesar 95%, didapatkan bahwa ada pengaruh perbedaan penggunaan bahan *scaffold* terhadap rata-rata jumlah fibroblas tikus jantan. Selain itu, didapatkan R^2 sebesar 0,478. Artinya, sebesar 47,8% sumber keragaman telah dijelaskan oleh model, sisanya dijelaskan oleh faktor lain di luar model ini.

Uji Lanjut Student-Newman-Keuls

Uji lanjut digunakan untuk mengetahui perbedaan rata-rata jumlah fibroblas tikus jantan di setiap perlakuan. Hasil yang didapatkan diringkas sesuai dengan [Tabel 7](#).

Tabel 7. Uji lanjut *Student-Newman-Keuls*.

Bahan Scaffold	N	Jumlah Fibroblas Tikus Jantan		
		1	Subsset 2	3
<i>Student-Newman-Keuls</i>	Kontrol Positif	20	27,95	
	Kontrol Negatif	20	29,05	
	Komersil	20		41,00
	5 V	20		47,30
	Sig.		0,664	1,000

[Tabel 7](#) menunjukkan bahwa pemberian bahan *scaffold* komersil, 5 V, dan kontrol positif memberikan pengaruh yang berbeda terhadap rata-rata jumlah fibroblas tikus jantan. Perlakuan kontrol positif dengan pemberian perlakuan bahan *scaffold* memiliki rata-rata yang jauh berbeda. Akan tetapi, kontrol positif dan negatif memberikan perlakuan yang sama terhadap rata-rata jumlah fibroblas tikus jantan.

KESIMPULAN

Pembuatan membran nHA/PVA-AgCl yang digunakan sebagai bahan *scaffold tissue* dilakukan dengan metode pencampuran, dimana HA sintesis didapat melalui proses elektrolisis menggunakan variabel voltase 4, 5, dan 6 V sebagai kontrol ukuran partikel. Pengukuran pH dan pencatatan arus yang dialirkan dari catu daya pada masing-masing voltase digunakan sebagai parameter kontrol. Perubahan pH pada larutan elektrolitnya menjadi basa pada menit ke-300 merupakan indikasi terbentuknya HA dari produk intermediet *brushite*. Berdasarkan analisis XRD, HA murni didapatkan pada voltase 5 V. Sementara itu, analisis PSA menunjukkan bahwa elektrolisis pada voltase 4 V menghasilkan HA dengan ukuran partikel terkecil, yaitu 232 nm. Uji BET menunjukkan bahwa HA yang disintesis secara elektrolitik dengan voltase 5 V memiliki luas permukaan terbesar. HA murni hasil elektrolisis 5 V menunjukkan performa pertumbuhan fibroblas rata-rata yang paling baik, yaitu sebesar 47,3 sel fibroblas dalam 7 hari. Ukuran diameter partikel pada nilai nanometer terkecil dimiliki oleh variabel HA 4 V berdasarkan uji PSA. Uji BET menunjukkan bahwa HA murni 5 V memiliki luas partikel terbesar. HA murni hasil elektrolisis 5 V menunjukkan performa pertumbuhan fibroblas rata-rata yang paling baik sebesar 47,3 sel fibroblas dalam 7 hari.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam artikel ini.

KONTRIBUSI PENULIS

SS: Konseptualisasi, Metodologi; BP: Software; SS, DW, UAY: Analisis Data; SS, MW, IJT: Penulisan Draf Manuskrip; MA: Supervisi; NW: Telaah dan Penyuntingan Manuskrip.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Brawijaya yang telah memfasilitasi untuk penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajaxon, I., Maazouz, Y., Ginebra, M. P., Öhman, C., and Persson, C., 2015. Evaluation of A Porosity Measurement Method for Wet Calcium Phosphate Cements. *Journal of Biomaterials Applications*, 30(5), 526–536. <https://doi.org/10.1177/0885328215594293>.
- Bakhshayesh, R. D., A., Annabi, N., Khalilov, R., Akbarzadeh, A., Samiei, M., Alizadeh, E., Alizadeh-Ghods, M., And Davaran, S., 2018. Recent Advances on Biomedical Applications of Scaffolds in Wound Healing and Dermal Tissue Engineering. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(4), 691–705. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1349778>.
- Can-Herrera, L. A., Oliva, A. I., Dzul-Cervantes, M. A. A., Pacheco-Salazar, O. F., and Cervantes-Uc, J. M., 2021. Morphological and Mechanical Properties of Electrospun Polycaprolactone Scaffolds: Effect of Applied Voltage. *Polymers*, 13(4), 662. <https://doi.org/10.3390/polym13040662>.
- Chaudhari, A. A., Vig, K., Baganizi, D. R., Sahu, R., Dixit, S., Dennis, V., and Pillai, S. R., 2016. Future Prospects for Scaffolding Methods and Biomaterials in Skin Tissue Engineering: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12), 1974. <https://doi.org/10.3390/ijms17121974>.
- Cox, S. C., Walton, R. I., and Mallick, K. K., 2015. Comparison of Techniques for The Synthesis of Hydroxyapatite. *Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials*, 4(1), 37–47. <https://doi.org/10.1680/bbn.14.00010>.
- Khan, I., Saeed, K., and Khan, I., 2019. Nanoparticles: Properties, Applications and Toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908–931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>.
- Li, W., Lan, Y., Guo, R., Zhang, Y., Xue, W., and Zhang, Y., 2015. In Vitro and In Vivo Evaluation of A Novel Collagen/Cellulose Nanocrystals Scaffold for Achieving The Sustained Release of Basic Fibroblast Growth Factor. *Journal of Biomaterials Applications*, 29(6), 882–893. <https://doi.org/10.1177/0885328214547091>.
- Martín, M., Eden, M. R., and Chemmangattuvalappil, N. G., 2016. *Tools for Chemical Product Design: From Consumer Products to Biomedicine*. Elsevier, Amsterdam.
- Milla, E., L., Indrani, D. J., and Irawan, B., 2018. Sintesis dan Uji Porositas Scaffold Hidroksiapatit/Alginat. *ODONTO Dental Journal*, 5(1), 49–53. <https://doi.org/10.30659/odj.5.1.49-53>.
- Montero, M. L., Sáenz, A., Rodríguez, J. G., Arenas, J., and Castaño, V. M., 2006. Electrochemical Synthesis of Nanosized Hydroxyapatite. *Journal of Materials Science*, 41(7), 2141–2144.

<https://doi.org/10.1007/s10853-006-5231-x>.

- Nur, A., Martasari, D. L., Nurwijayanti, D., Affandi, S., Widjaja, A., and Setyawan, H., 2018. Sintesis Hidroksiapatit Berukuran Nano dengan Metode Elektrokimia Dibantu EDTA. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*, 11(4), 199–207. <https://doi.org/10.5614/jtki.2013.12.1.4>.
- Ribeiro, M., Ferraz, M. P., Monteiro, F. J., Fernandes, M. H., Beppu, M. M., Mantione, D., and Sardon, H., 2017. Antibacterial Silk Fibroin/Nanohydroxyapatite Hydrogels with Silver and Gold Nanoparticles for Bone Regeneration. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 13(1), 231–239. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.08.026>.
- Štulajterová, R. and Medvecký, L., 2008. Effect of Calcium Ions on Transformation Brushite to Hydroxyapatite in Aqueous Solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 316(1-3), 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.08.036>.
- Wardani, S. C., Hapsari, D. N., and Fatima, F., 2020. Perbandingan Morfologi dan Rasio Ca/P Serbuk Hidroksiapatit dari Tulang Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*) dengan Hidroksiapatit Sisik Ikan. *E-Prodenta Journal of Dentistry*, 4(2), 314–320. <http://dx.doi.org/10.21776/ub.eprodenta.2020.004.02.2>.