



## KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI HIDROKSIAPATIT (HAp) DARI KERABANG TELUR AYAM TERHADAP BAKTERI *Lactobacillus acidophilus*

### *Characterization and Antibacterial Activity Test of Hydroxyapatite (HAp) from Chicken Eggshell against Lactobacillus acidophilus Bacteria*

Imelda Wadu\*, Hartati Soetjipto, dan Margareta Novian Cahyanti

Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika  
Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga  
Jln. Diponegoro No. 52-60, Salatiga 50711, Jawa Tengah, Indonesia

\*Keperluan korespondensi, e-mail: 652012028@student.uksw.edu

Received: June 22, 2017

Accepted: December 06, 2017

Online Published: December 31, 2017

DOI : 10.20961/jkpk.v2i3.11862

#### ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah mengkarakterisasi biokeramik Hidroksiapatit (HAp) yang disintesa dari kerabang telur ayam kampung dan kerabang telur ayam broiler menggunakan FTIR. Selain itu juga menentukan aktivitas antibakteri HAp dengan kandungan kalsium dan fosfat tertinggi (HAp dari kerabang telur ayam broiler) menggunakan metode cakram kertas. Hasil karakterisasi HAp dari kerabang telur ayam kampung menggunakan FTIR menunjukkan puncak untuk gugus fungsi  $\text{PO}_4^{3-}$  pada panjang gelombang  $1040,08 \text{ cm}^{-1}$ ,  $608,46 \text{ cm}^{-1}$  dan  $568,67 \text{ cm}^{-1}$ ; gugus  $\text{OH}^-$  pada panjang gelombang  $3426,39 \text{ cm}^{-1}$  dan  $2880,46 \text{ cm}^{-1}$ ; gugus  $\text{CO}_2$  pada panjang gelombang  $2142,91 \text{ cm}^{-1}$ ; dan gugus  $\text{CO}_3^{2-}$  pada panjang gelombang  $1653,64 \text{ cm}^{-1}$ . Sedangkan untuk HAp dari kerabang telur ayam broiler adalah gugus  $\text{PO}_4^{3-}$  pada panjang gelombang  $1044,40 \text{ cm}^{-1}$ ,  $604,13 \text{ cm}^{-1}$  dan  $568,66 \text{ cm}^{-1}$ ; gugus  $\text{OH}^-$  pada panjang gelombang  $3419,61 \text{ cm}^{-1}$  dan  $2838,35 \text{ cm}^{-1}$ ; gugus  $\text{CO}_2$  pada panjang gelombang  $2086,69 \text{ cm}^{-1}$ ; dan gugus  $\text{CO}_3^{2-}$  pada panjang gelombang  $1653,64 \text{ cm}^{-1}$ . Antibakteri HAp terhadap bakteri karies *L. acidophilus* memberikan hasil yang positif baik pada dosis uji terendah ( $5 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) maupun dosis uji tertinggi ( $75 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ), ditandai dengan terbentuknya daerah daya hambat sebesar  $22,93 \pm 0,066 \text{ mm}$  dan  $33,08 \pm 0,031 \text{ mm}$  (kategori kuat yaitu  $>20 \text{ mm}$ ). Kesimpulan dari penelitian ini adalah hasil karakterisasi baik HAp dari kerabang telur ayam kampung maupun kerabang telur ayam broiler adalah benar senyawa HAp, dan hasil uji antibakteri dari HAp hasil sintesa kerabang telur ayam broiler menunjukkan daya antibakteri yang positif dan kuat.

**Kata Kunci:** hidroksiapatit, antibakteri, *L. acidophilus*.

#### ABSTRACT

The purposes of this study were to characterize Hydroxyapatite (HAp) bioceramics which synthesized from local chicken and broiler eggshell using FTIR, and to determine HAp antibacterial activity with the highest content of calcium-phosphate (HAp from broiler chicken eggshell) using paper disc method. Characterization of HAp from local chicken eggshell using FTIR showed peaks for  $\text{PO}_4^{3-}$  functional group on the wavelength  $1040.08$ ,  $608.46$  and  $568.67 \text{ cm}^{-1}$ ;  $\text{OH}^-$  functional group on the wavelength  $3426.39$  and  $2880.46 \text{ cm}^{-1}$ ;  $\text{CO}_2$  functional group on the wavelength  $2142.91 \text{ cm}^{-1}$ ; and  $\text{CO}_3^{2-}$  functional group on the wavelength  $1653.64 \text{ cm}^{-1}$ . Whereas broiler chicken eggshell HAp showed peaks for  $\text{PO}_4^{3-}$  functional group on the

wavelength 1044.40, 604.13 and 568.66  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\text{OH}^-$  functional group on the wavelength 3419.61 and 2838.35  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\text{CO}_2$  functional group on the wavelength 2086.69  $\text{cm}^{-1}$ ; and  $\text{CO}_3^{2-}$  functional group on the wavelength 1653.64  $\text{cm}^{-1}$ . HAp antibacterial activity test against caries bacteria *L. acidophilus* gives the positive results either for the lowest test dose ( $5\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) or the highest test dose ( $75\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ), which was characterized by the formation of diameter inhibitory area  $22.93\pm 0,066$  and  $33.08\pm 0,031$  mm (strong category of  $>20$  mm), respectively. The characterization of HAp from local chicken and broiler chicken eggshell using FTIR confirmed the presence of HAp compounds, and the antibacterial activity test result of HAp synthesized from broiler chicken eggshell indicates a positive and strong antibacterial power.

**Keywords:** *hydroxyapatite, antibacterial, L. acidophilus.*

## PENDAHULUAN

HAp adalah sebuah molekul kristalin yang intinya tersusun oleh kalsium dan fosfat dengan rumus molekul  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Sebanyak 65% molekul ini ditemui dalam tulang, dan juga terdapat pada struktur gigi manusia terutama dalam dentin dan enamel [1].

Pemanfaatan Hidroksiapatit (HAp) dalam bidang medis semakin luas, yaitu digunakan sebagai bahan penyambung tulang, penambal gigi, dan pembuatan gigi palsu, namun demikian hingga sekarang di Indonesia masih menggunakan HAp sintetis impor [2]. Untuk mengurangi import HAp sintetis, HAp dapat dibuat dari bahan alami yaitu dengan mensintesa kerabang telur ayam dengan memanfaatkan kalsium karbonat yang terkandung dalam kerabang telur ayam [3]. Pada penelitian ini digunakan kerabang telur ayam kampung dan kerabang telur ayam broiler sebagai bahan utama pembuatan HAp.

Komponen utama penyusun HAp adalah kalsium dan fosfat, dimana kalsium dan fosfat merupakan komponen utama mineral pada tulang dan gigi. Senyawa kalsium dan fosfat juga berperan sebagai pencegah karies. Karies adalah salah satu

penyakit infeksi yang merusak struktur gigi, sehingga menyebabkan gigi berlubang. Jika tidak ditangani, penyakit ini dapat menyebabkan nyeri, penanggalan gigi, infeksi, dan bahkan kematian. Karies disebabkan oleh aktivitas mikroba dalam mulut, antara lain oleh bakteri *L. acidophilus* [4].

Tujuan penelitian ini adalah mengkarakterisasi HAp yang disintesa dari kerabang telur ayam kampung dan broiler, juga bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri HAp hasil sintesa kerabang telur ayam broiler terhadap bakteri karies *L. acidophilus*.

## METODE PENELITIAN

### 1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet mikro, pipet ukur, cawan petri, autoklaf, oven, Spektrofotometer UV-VIS (Mini) dan Spektroskopi FTIR (Shimadzu, FTIR-8201 PC) (laboratorium MIPA Terpadu UNS)

Sampel yang digunakan adalah HAp dari sintesa kerabang telur ayam kampung dan kerabang telur ayam broiler, dan bahan kimia yang digunakan adalah *nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (NB), aquades steril, *muller hinton agar* (MHA), pipet mikro, *paper*

disc, paper disc tetrasiklin 30 $\mu$ g dan bakteri *L. acidophilus*.

## 2. Metode

### a. Karakterisasi HAp menggunakan FTIR

1 g serbuk HAp dicampurkan dengan KBr, dicetak pada *sample holder*, lalu diidentifikasi HAp pada bilangan gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ [5-6].

### b. Pembuatan Media dan Sterilisasi

Ditimbang 0,8 g medium NB dilarutkan dalam 50 mL akuades, dan medium MHA 19 g dilarutkan dalam 500 mL akuades, kemudian kedua medium masing-masing dipanaskan hingga mendidih sambil terus diaduk. Selanjutnya disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C [7].

### c. Pembuatan Suspensi Bakteri

Satu ose bakteri diinokulasikan ke dalam 10 mL NB, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi bakteri distandarisasi sesuai dengan larutan mc-Farland menggunakan spektrofotometer UV-Vis [7].

### d. Uji Aktivitas Antibakteri Metode *Paper Disc*

Suspensi bakteri yang terstandarisasi mc-Farland diinokulasikan secara taburan ke dalam medium MHA, lalu diputar agar medium dan bakteri tercampur. *Paper disc* diletakkan di atas media yang sudah padat dan dipipetkan 20 $\mu$ L masing-masing variasi konsentrasi HAp (5  $\mu$ g/ $\mu$ L; 25  $\mu$ g/ $\mu$ L; 50  $\mu$ g/ $\mu$ L; dan 75  $\mu$ g/ $\mu$ L) masing-masing diulang 6 kali.

Kontrol positif *paper disc* menggunakan tetrasiklin 30  $\mu$ g dan kontrol negatif menggunakan pelarut [7].

### e. Analisa Data

Uji antibakteri HAp dianalisis menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan. Sebagai perlakuan adalah variasi konsentrasi HAp 5  $\mu$ g/ $\mu$ L; 25  $\mu$ g/ $\mu$ L; 50  $\mu$ g/ $\mu$ L; dan 75  $\mu$ g/ $\mu$ L, dan sebagai kelompok adalah waktu analisis [8].

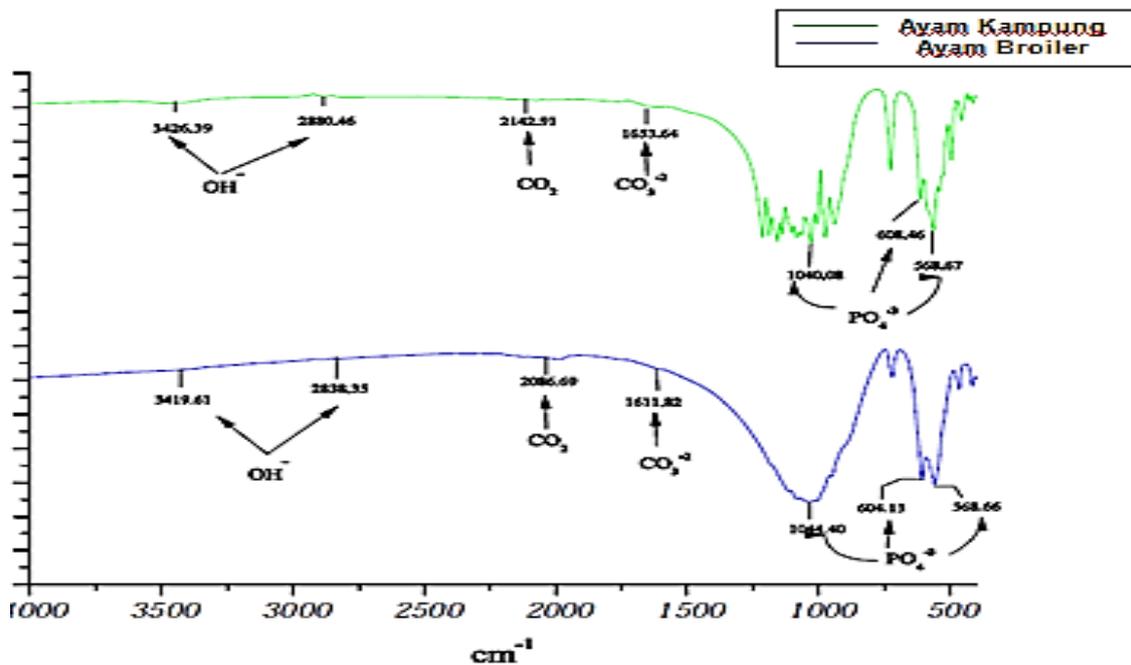
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Karakterisasi FTIR

Hasil pengukuran sampel HAp menggunakan FTIR ditampilkan pada Tabel 1. dan Gambar 1.

Tabel 1. Puncak yang terdeteksi dalam spectra FTIR dari masing-masing jenis kerabang telur.

No.	Puncak HAp Kerabang Telur Ayam Kampung ( $\text{cm}^{-1}$ )	Puncak HAp Kerabang Telur Ayam Broiler ( $\text{cm}^{-1}$ )
1	568,67	568,66
2	608,46	604,13
3	1040,08	1044,40
4	1653,64	1611,82
5	2142,91	2086,69
6	2880,46	2838,35
7	3426,39	3419,61



Gambar 1. Uji FTIR HAp dari sintesa kerabang telur ayam kampung dan broiler

Gugus fungsi yang teramati pada FTIR untuk HAp dari kerabang telur ayam kampung yaitu gugus fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) pada bilangan gelombang  $1040,08 \text{ cm}^{-1}$ ,  $608,46 \text{ cm}^{-1}$  dan  $568,67 \text{ cm}^{-1}$ ; gugus hidroksil ( $\text{OH}^-$ ) pada bilangan gelombang  $3426,39 \text{ cm}^{-1}$  dan  $2880,46 \text{ cm}^{-1}$ ; gugus karbon dioksida ( $\text{CO}_2$ ) pada bilangan gelombang  $2142,91 \text{ cm}^{-1}$ ; dan gugus karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) pada bilangan gelombang  $1653,64 \text{ cm}^{-1}$ . Sedangkan gugus fungsi yang teramati pada FTIR untuk HAp dari kerabang telur ayam broiler yaitu gugus fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) pada bilangan gelombang  $1044,40 \text{ cm}^{-1}$ ,  $604,13 \text{ cm}^{-1}$  dan  $568,66 \text{ cm}^{-1}$ ; gugus hidroksil ( $\text{OH}^-$ ) pada bilangan gelombang  $3419,61 \text{ cm}^{-1}$  dan  $2838,35 \text{ cm}^{-1}$ ; gugus karbon dioksida ( $\text{CO}_2$ ) pada bilangan gelombang  $2086,69 \text{ cm}^{-1}$ ; dan gugus karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) pada bilangan gelombang  $1653,64 \text{ cm}^{-1}$  [3,9].

Gugus karbonat dapat masuk ke dalam struktur hidroksiapatit dengan

menggantikan atau mensubstitusi ion hidroksi atau fosfat membentuk struktur karbonat-hidroksiapatit dengan rumus molekul  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_3(\text{CO}_3)_3(\text{OH})_2$  [10,11]. Terbentuknya karbonat-hidroksiapatit tidak mengganggu fungsi dari HAp karena senyawa paduan kalsium dan fosfat yang telah mengalami pemanasan di atas  $900^\circ\text{C}$  memiliki struktur yang stabil dan tidak berbahaya jika diaplikasikan dalam dunia medis [9,11]. Karena proses sintesa dilakukan pada suhu tinggi ( $170^\circ\text{C}$ ) dan suhu sintering  $1000^\circ\text{C}$  gugus karbonat yang terbentuk hanyalah sedikit, sehingga tidak akan mempengaruhi terbentuknya senyawa HAp, walau jumlahnya sedikit senyawa karbonat yang terbentuk tetap dinyatakan sebagai pengotor [1,3]. Banyaknya gugus  $\text{OH}^-$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$  yang teridentifikasi dikarenakan saat proses sintesa pH reaksi tinggi atau pada kondisi basa yaitu pH 10. Dimana semakin tinggi pH atau semakin basa pH

saat proses sintesa, maka semakin banyak terbentuk gugus  $\text{OH}^-$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$  [3]. Berdasarkan penelitian Tua dkk. [3] kandungan HAp murni diindikasikan dengan pita serapan gugus  $\text{OH}^-$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$ . Namun sampel HAp yang dikarakterisasi baik hasil sintesa kerabang telur ayam kampung dan telur ayam broiler menunjukkan adanya gugus  $\text{CO}_3^{2-}$  yang seharusnya tidak terdapat dalam HAp murni. Munculnya  $\text{CO}_3^{2-}$  dikarenakan adanya keterlibatan karbon-dioksida ( $\text{CO}_2$ ) bebas di udara, karena proses sintesa dilakukan di ruangan terbuka (noninert) proses.  $\text{CO}_2$  akan berinteraksi dengan akuades yang digunakan sebagai pelarut dalam proses sintesa, juga disebabkan oleh faktor saat proses penambahan asam yang terlalu lambat atau terlalu cepat, sehingga HAp yang diperoleh mengandung pengotor yaitu  $\text{CO}_3^{2-}$  [1,12]. Faktor lain yang menyebabkan terbentuknya gugus karbonat adalah faktor pemanasan saat proses larutan dikeringkan. Seharusnya proses pengeringan dilakukan pada suhu  $105\text{ }^\circ\text{C}$  ( $\pm 5$  jam), namun karena suhu pada *hotplate* yang digunakan tidak tepat maka mempengaruhi terbentuknya gugus  $\text{CO}_3^{2-}$  [11]. Bukti terbentuknya gugus karbonat pada senyawa HAp dapat dilihat pada hasil karakterisasi FTIR. Gugus  $\text{CO}_2$  juga terbaca pada pita spektrum, dikarenakan proses sintesa yang dilakukan tidak pada ruangan yang inert.

## 2. Uji Antibakteri HAp dengan Menggunakan Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

Hasil pengukuran uji antibakteri HAp terhadap bakteri *L. acidophilus* disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Purata  $\pm$  SE Diameter Daerah Hambat (DDH) uji antibakteri HAp dari kerabang telur ayam broiler.

Dosis Penambahan HAp ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )	$\bar{X}(\text{mm}) \pm \text{SE}$
5	22,93 $\pm$ 0,066
25	25,08 $\pm$ 0,031
50	29,10 $\pm$ 0,063
75	33,08 $\pm$ 0.031
Kontrol + (mm)	24,5
Kontrol - (mm)	0



Gambar 2. (a). Hasil DDH uji antibakteri senyawa aktif HAp dari kerabang telur ayam kampung, (b) hasil DDH dari kontrol (+) dan kontrol (-).

Tabel 2. menunjukkan bahwa DDH HAp kerabang telur ayam broiler dosis  $5\ \mu\text{g}/\mu\text{L}$  -  $75\ \mu\text{g}/\mu\text{L}$  berkisar antara  $22,93\pm 0,066$  -  $33,08\pm 0,031$ . Seiring dengan meningkatnya dosis HAp yang digunakan semakin luas DDH yang muncul. Bahkan pada dosis  $50\ \mu\text{g}/\mu\text{L}$  penambahan HAp, DDH yang muncul melebihi DDH kontrol (+) artinya aktivitas antibakteri HAp pada dosis ini sangat kuat melebihi kekuatan senyawa kontrol (+) (tetrasiklin  $30\ \mu\text{g}$ ). Kandungan kalsium (78,62%) dan fosfat (73,75%) dalam senyawa HAp hasil sintesa kerabang telur ayam broiler dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri karies. Pratama 2014, melaporkan bahwa senyawa kalsium dan fosfat merupakan komponen penting dalam

mencegah terjadinya karies sebagai akibat adanya aktivitas bakteri (*L. acidophilus*) [4].

Jika mengacu pada tabel kategori kekuatan aktivitas antibakteri berdasarkan DDH (Tabel 3.) [13], maka hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat.

Tabel 3. Kategori kekuatan aktivitas antibakteri.

Kode	DDH (mm)
(-)	≤10
(+)	11-15
(++)	16-20
(+++)	>20

Sumber: Greenwood, 1995 dalam Widyaningtias dkk. 2014 [13].

## KESIMPULAN

Karakterisasi HAp menggunakan FTIR menunjukkan senyawa hasil sintesa baik HAp dari kerabang telur ayam kampung maupun broiler adalah benar senyawa hidroksiapatit yang ditandai dengan adanya gugus OH<sup>-</sup> dan PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>.

Uji aktivitas antibakteri dari HAp hasil sintesa kerabang telur ayam broiler positif menunjukkan adanya zona hambat dengan kategori antibakteri kuat (> 20mm). Maka, HAp berpotensi sebagai agen antibakteri karies *L. acidophilus*.

## DAFTAR PUSTAKA

[1] Suryadi, "Sintesis dan Karakterisasi Biomaterial Hidroksiapatit dengan Proses Pengendapan Kimia Basah". Tesis. Program Studi Teknik Metalurgi dan Material, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, 2011.

- [2] Mahreni et al., "Pembuatan Hidroksiapatit dari Kulit Telur". Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia. Yogyakarta, 2012.
- [3] Tua, B., et al., "Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Kerang Darah dengan Proses Hidrotermal Variasi Suhu dan pH". Jom FTEKNIK Vol. 3, No. 2, 2016.
- [4] Pratama, R.N., "Efek Antibakteri Pasta Gigi yang Mengandung Baking Soda dan Pasta Gigi yang Mengandung Fluor Terhadap Pertumbuhan Bakteri Plak". Skripsi. Makassar: Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin, 2014.
- [5] Mulyaningsih, N. N., "Karakterisasi Hidroksiapatit Sintetik dan Alami pada Suhu 1400°C". Skripsi. Bogor : Institut Pertanian Bogor, 2007.
- [6] Prabaningtyas, R. A. J. M. Safanti., "Karakterisasi Hidroksiapatit dari Kalsit (PT. Dwi Selo Giri Mas Sidoarjo) sebagai Bone Graft Sintetis Menggunakan X-Ray Diffractomete (XRD) dan Flourier Transform Infra Red (FTIR)". Skripsi. Jember: Universitas Jember, 2015.
- [7] Niswah, L., "Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Menggunakan Metode Difusi Cakram". Skripsi. Jakarta: Universitas Negeri Syarif Hidayatullah, 2014
- [8] Steel, R. G., dan Toorie, J. H. Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik. Jakarta: Gramedia, 1980.
- [9] Yakin, K., "Perhitungan Energi Disosiasi Ca-O dan C-O pada Gugus Fungsi Hidroksiapatit Menggunakan Pemodelan Spektroskopi Inframerah". Skripsi. Program Studi Departemen Fisika, IPB, 2013.
- [10] Ahmiatri et al., "Pengaruh Karbonat dalam Proses Presipitasi Senyawa Kalsium Fosfat". Makara, Sains, Vol. 6, No. 2, 2002.

- [11] Purwasasmita, B. S., dan Ramos S. G., "Sintesis dan Karakterisasi Serbuk Hidroksiapatit Skala Sub-Mikron Menggunakan Metode Presipitasi". *Jurnal Bionatura*, Vol. 10, No. 2, pp 155-167, 2008.
- [12] Affandi et al., "Sintesis Hidroksiapatit dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) dengan proses Hidrotermal Variasi Rasio Mol Ca/P dan Suhu Sintesis". *Jom FTEKNIK* Vol. 2, No. 1, 2015.
- [13] Widyaningtias, N. M. S. R. et al., "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*". *Jurusan Farmasi, Universitas Udayana Bali*, Vol. 3, No. 1., 2014.