

Pengaruh tingkat pH larutan teri terhadap perubahan dimensi dan kelarutan kristal apatit

Harun A. Gunawan

Dep. Biologi Oral

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia
Jakarta

ABSTRAK

Ikan teri jengki mengandung 15,7-38,3ppm fluor, sehingga mungkin digunakan sebagai bahan fluoridasi topikal email. **Tujuan:** menganalisis perubahan dimensi kristal apatit email dan pengaruhnya terhadap tingkat kelarutannya setelah aplikasi larutan ikan teri **Metode kerja:** 10 buah spesimen kristal apatit dibuat dengan metode "wet-reaction". Larutan ikan teri dibuat dari 5g bubuk teri dalam 100ml aquadem, dibuat dengan 4 tingkat pH 7,0-5,5. 8 spesimen diaplikasi larutan teri, masing-masing 2 spesimen setiap tingkat pH dan 2 spesimen untuk kontrol. 4 spesimen perlakuan dan 1 kontrol diuji dimensi kristalit dengan metode XRD. 5 spesimen sisanya direndam dalam asam fosfat 10%, dan diukur kelarutannya dengan ISE-Ca. 1-way ANOVA dan Pearson digunakan untuk analisis data. **Hasil:** panjang sisi a spesimen kontrol $9,4207 \pm 0,002 \text{ \AA}$, untuk sisi c $6,8683 \pm 0,01 \text{ \AA}$. Pada pH 5,5 sisi a $9,3899 \pm 0,015 \text{ \AA}$ sedangkan sisi c $6,8898 \pm 0,002 \text{ \AA}$. Kelarutan apatit spesimen kontrol $82,7 \pm 1,6$ sedangkan spesimen pH 5,5 sebesar $53,3 \pm 0,8 \text{ ppmCa}$. Uji statistik menunjukkan adanya perbedaan bermakna panjang sisi a, sisi c dan kelarutan apatit antara kelompok kontrol dengan perlakuan. Uji korelasi menunjukkan adanya hubungan antara panjang sisi a dengan tingkat kelarutan apatit. **Kesimpulan:** Tingkat pH mempengaruhi perubahan ukuran dimensi dan terdapat hubungan antara penurunan panjang sisi a dengan kelarutan apatit dalam asam

Kata kunci : ikan teri, kristal apatit, XRD, ISE.

ABSTRACT

Anchovy is a common fish in Indonesia, it contains 15.7-38.3 ppm F, but the possibility to use it for topical fluoride application has not established yet. **Objective:** to analyze enamel apatite dimension and solubility changes after anchovy application **Methods:** 10 apatite crystal slabs were obtained using "wet-reaction" method. 5g of anchovy powder were diluted in 100ml deionized distilled-water to obtain the solution and adjusted to 7.0-5.5 pH level. 8 slabs were immersed in 4 different pH level solutions, and left 2 slabs untreated. Solubility test were performed by slab immersion in 10% phosphoric-acid. XRD method was used to analyze crystal dimension, and ISE method used for solubility measurements. **Results:** The a and c axes length of the control specimens were 9.4207 ± 0.002 and $6.8683 \pm 0.01 \text{ \AA}$, whilst 9.3899 ± 0.015 and $6.8898 \pm 0.002 \text{ \AA}$ for pH 5.5 specimens. Control specimen solubility was 82.7 ± 1.6 and $53.3 \pm 0.8 \text{ ppm Ca}$ for the pH 5.5 specimens. Statistical analysis showed there were significant reductions on a-axes and c-axes increase among groups following pH reduction. There was significant solubility difference between control compare to pH 5.5 group. Pearson test showed significant correlation between a-axes reduction with apatite solubility. **Conclusions:** application using anchovy solutions in various pH level caused apatite a-axis reduction.

Keywords: anchovy, apatite crystal dimension, XRD, ISE.

PENDAHULUAN

Email gigi merupakan suatu jaringan paling keras pada tubuh manusia, dimana unsur anorganiknya terutama tersusun dari kristal hidroksi apatit : $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Salah satu kelemahan email adalah bahwa email tidak tahan terhadap asam. Penyakit karies email dapat terjadi karena pelarutan jaringan email oleh asam yang dihasilkan oleh mikroba rongga mulut. Tingkat kepenyakit karies di Indonesia sangat tinggi, berdasarkan hasil SKRT 1997 didapatkan angka prevalensi karies sebesar 90,05%.¹

Salah satu upaya untuk meningkatkan ketahanan email terhadap asam adalah dengan fluoridasi, baik secara sistemik maupun secara topikal.^{2,3} Pada fluoridasi dilakukan pemberian ion fluor dengan tujuan mengubah kristal hidroksi apatit (HA) dari email akan menjadi fluoroapatit (FA) atau fluorohidroksi apatit (FHA). Pada pembentukan FA ini, terjadi substitusi ion OH^- dengan ion F^- .

Kristal HA terdiri dari unit sel berbentuk heksagonal dengan Ca berada pada posisi sudut unit. Unit sel kristal HA mempunyai ukuran sisi **a** sebesar 9.4207Å sementara sumbu **c** sebesar 6.8683Å.⁴

Fluor merupakan elemen halogen dengan sifat elektronegatif yang sangat kuat, dan mempunyai berat atom berbeda dengan ion OH^- . Dengan demikian substitusi ion OH^- oleh ion F^- mungkin membuat ukuran kristal menjadi berubah.

Salah satu bahan alam yang mengandung fluor cukup tinggi adalah ikan teri (*Stolephorus sp*) yang banyak terdapat di Indonesia dan umum dikonsumsi oleh masyarakat. Ikan teri mengandung fluor sebanyak 15,7 – 38,3 ppm yang terutama berbentuk senyawa CaF_2 .⁵

Sjögren⁶ menyatakan bahwa pada aplikasi larutan fluor pada pH netral, tidak memberikan hasil yang baik dalam pembentukan FA maupun FHA. Øgaard⁷ menyatakan bahwa sebaiknya aplikasi fluor dilakukan pada pH yang rendah, karena penarikan gugus hidroksil dari HA akan dapat dipercepat, dengan demikian substitusi hidroksil oleh fluor akan lebih meningkat. Gunawan⁸ menyatakan bahwa pH 5,5 merupakan tingkat pH optimal bahan aplikasi yang dapat memberikan intrusi dan retesi fluor yang paling baik di permukaan email.

Axelsson² dan Fejerskov⁹ menyatakan bahwa fluoridasi dengan bahan CaF_2 memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa fluor lainnya.

Pada penelitian ini dilakukan aplikasi kristal apatit dengan larutan teri pada pH 7.0 sampai pH

5.5. Perubahan dimensi kristal diukur, serta dilakukan analisa apakah perubahan dimensi tersebut diikuti dengan perubahan kelarutan kristal dalam asam.

BAHAN DAN CARA KERJA

Kristal apatit dibuat melalui proses “*wet-reaction*” (Donadel,¹⁰) dimana 0.09 mol $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ + 0.152 mol $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 125ml aquades, kemudian ditambahkan NH_4OH 25vol% Larutan yang terbentuk kemudian dipanaskan sambil diaduk pada 65°C selama 90 menit. Larutan kemudian dididihkan selama 2 jam, kemudian didinginkan pada suhu kamar dan disimpan semalam untuk mendapatkan endapan. Larutan disaring dan filtrat dibilas dengan aquades dan dijaga agar tingkat pH-nya netral, dan dikeringkan dalam pemanas pada suhu 60°C selama 4 jam. Kristal yang diperoleh kemudian ditimbang sebanyak 1 gram (OHAUS Explorer) kemudian dimasukkan dalam cetakan “*slab*” ukuran 1x2 cm dengan ketebalan 0,5 cm, kemudian di”*sinter*” selama 1 jam pada suhu 900°C. Proses diatas diulang untuk memperoleh 10 buah “*slab*” spesimen.¹¹

Larutan ikan teri diperoleh dari ikan teri jengki (*S insularis*) yang ada di pasaran. Ikan teri tersebut dipanaskan pada suhu 80°C selama 20 menit, dan dihaluskan menjadi bubuk sampai kehalusan 100 mesh. 5 gram bubuk teri dilarutkan dalam 100 ml aquadem untuk memperoleh larutan siap pakai. Untuk membuat larutan sesuai dengan tingkat pH yang telah ditentukan, larutan teri ditetesi dengan asam fosfat 10% sampai diperoleh tingkat pH yang dikehendaki, dengan dikontrol pada pH meter.(Mettler Toledo MP220) Tingkat pH yang dibuat adalah 7,0; 6,5; 6,0 dan 5,5.⁸

Aplikasi larutan teri sesuai kelompok pH dilakukan pada permukaan 8 spesimen apatit selama 10 menit. Untuk setiap tingkat pH dilakukan aplikasi terhadap 2 buah spesimen. 2 spesimen kristal lainnya tidak diaplikasi dan digunakan sebagai kontrol.

Empat (4) buah spesimen perlakuan dan 1 buah spesimen kontrol kemudian dianalisis untuk panjang sisi a dan sumbu c dari kristal dengan menggunakan X-ray diffraction.

Pemeriksaan X-ray Diffraction (XRD) dilakukan pada Diffractometer Philips PW 370 menggunakan Cu-tube, $\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$, tegangan 40 kV, 30 mA, dan $2\theta = 20 - 60^\circ$, besar step = $0,02^\circ$ pada 1,9 sekon/step. Analisa hasil dikontrol dengan data ICDD 1998. Hasil pengukuran adalah panjang sisi a dan sumbu c kristal apatit (dalam Å)^{12,13,14,15}.

Empat (4) spesimen perlakuan dan 1 spesimen kontrol yang lain kemudian dimasukkan masing-masing dalam 50 ml larutan asam fosfat 10% selama 30 menit untuk melarutkan kalsium dari spesimen. Larutan asam fosfat kemudian diuji dengan menggunakan Ion Selective Electrode Metrohm 692 (ISE) khusus untuk kalsium. Hasil pengukuran didapat dalam ppm Ca yang menunjukkan tingkat kelarutan spesimen. Semakin tinggi kadar kalsium terlarut, semakin tinggi tingkat kelarutan spesimen.¹⁶

Uji statistik 1-way ANOVA dilakukan untuk mengetahui perbedaan panjang sisi a dan sumbu c, serta perbedaan kelarutan dari masing-masing kelompok. Untuk mengetahui adanya hubungan antara perubahan dimensi kristal dengan kelarutan kristal digunakan uji Pearson.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari pengukuran panjang sisi a dan sumbu c serta kelarutan kristal apatit dari masing-masing kelompok pH diperoleh tabel hasil (Tabel 1)

Dari uji statistik terdapat perbedaan bermakna panjang sisi a diantara kelompok pH ($p < 0,05$). Untuk panjang sumbu c, perbedaan bermakna didapati antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, sedangkan diantara kelompok perlakuan tidak didapatkan perbedaan bermakna.

Dari uji kelarutan terdapat perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, ($p < 0,02$) sedang diantara kelompok perlakuan, terdapat perbedaan antara kelompok pH 5,5 dengan kelompok perlakuan lainnya. Perbedaan kelarutan antara kelompok pH 7 dengan pH 6.0 tidak berbeda bermakna. ($p > 0,05$)

Uji Pearson menunjukkan adanya korelasi cukup kuat antara perubahan panjang sisi a dengan kelarutan kristal apatit dalam asam, namun tidak cukup kuat antara panjang sumbu c dengan kelarutan kristal.

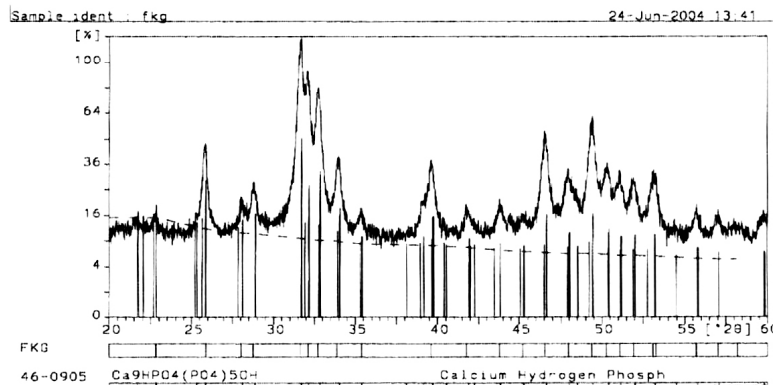
Ion F^- pada substitusi HA menjadi FA akan menempati posisi ion OH^- yang terletak di sumbu c. Penurunan panjang sisi a dapat terjadi karena sifat elektronegatif F^- yang kuat sehingga meningkatkan *binding force* diantara unsur pembentuk kristal FA. Disamping itu ukuran ion F^- berbeda dengan OH^- sehingga menyebabkan perubahan jarak atom.

Penurunan pH akan menyebabkan terjadinya protonisasi pada kristal HA, keadaan ini akan mengakibatkan adanya peningkatan penarikan ion OH^- . Pada pH 7,0 atau 6,5 protonisasi yang terjadi belum sempurna sehingga pada substitusi OH^- dengan F^- sebagian besar kristal HA belum berubah menjadi FA, namun berubah menjadi FHA.⁸

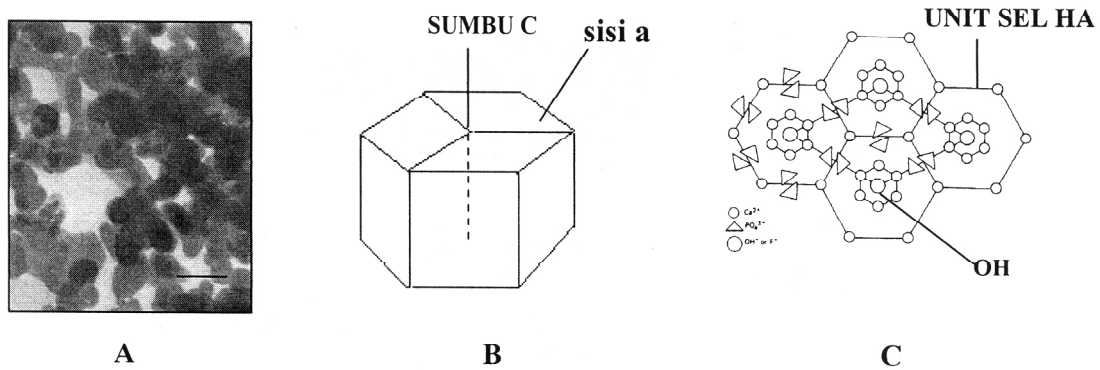
Pada pH 5,5 tersedia cukup banyak ion H^+ , dengan demikian protonisasi terjadi dengan baik, dan

Tabel 1: Hasil pengukuran panjang a dan c serta besar kelarutan apati dalam asam

	Kontrol	pH 5.5	pH 6.0	pH 6.5	pH 7.0
sisi a (Å)	9.4207±0.0017	9.3899±0.015	9.3901±0.0008	9.4012±0.0008	9.4023±0.0011
c axis (Å)	6.8683±0.009	6.8898±0.0017	6.8867±0.004	6.8863±0.023	6.8714±0.015
ppm Ca	82.7±1.6	53.3±0.8	56.1±1.4	62.5±1.7	64.2±0.4



Gambar 1 : grafik XRD dari kristal HA dari kelompok pH 7.0



**Gambar 2 : A : elektromikrograf kristal HA, (bar = 100 nm) (Gunawan)⁴
 B : skematik unit sel kristal HA, bentuk heksagonal. (Gunawan)⁴
 C : penampang unit sel kristal dengan kedudukan OH di sumbu c (Eastoe)¹⁵**

hal ini menyebabkan peningkatan pembentukan FA. Dengan semakin banyaknya pembentukan FA, pada penurunan pH, maka pada analisa XRD akan tampak sebagai semakin banyaknya penurunan panjang sisi a.

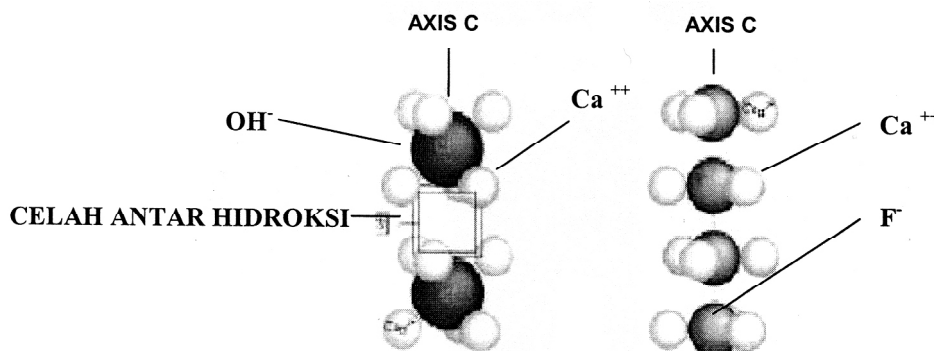
Pada beberapa keadaan penarikan ion OH⁻ yang cepat akan menyebabkan terbentuknya *brushite* (CaHPO₄·2H₂O) atau *monetite* (CaHPO₄).^{4,7,8.}

Peningkatan panjang sumbu c terjadi karena kedudukan F⁻ pada sumbu c (posisi z) terletak lebih tinggi (1½z) dibandingkan kedudukan OH⁻ pada sumbu c. Dengan demikian substitusi OH⁻ oleh F⁻ akan menyebabkan elongasi sumbu c. (gambar 3)¹⁷

Penambahan panjang sumbu c hanya bermakna pada perbandingan antara kontrol dengan spesimen perlakuan. Pada perbandingan panjang sumbu c antar kelompok perlakuan menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna. Peningkatan ion H⁺ (protonisasi) tidak mempengaruhi pengisian celah pada panjang sumbu c (gambar 3)¹⁷

Penurunan panjang sisi a akan menyebabkan kristal FA akan lebih kompak dibandingkan dengan kristal HA. Hal tersebut, menyebabkan peningkatan *binding force* diantara ion Ca⁺⁺ karena jarak antar atom mengecil. Keadaan ini akan membuat pemecahan kristal FA menjadi lebih sulit. Pada pemecahan kristal dalam asam (ion H) kristal FA menjadi lebih tidak reaktif. Hal ini menyebabkan kelarutan kristal FA menurun dibandingkan dengan HA. Semakin banyak kristal HA berubah menjadi FA, akan menyebabkan kelarutannya spesimen semakin menurun. Pada kelompok pH 7,0 dengan pH 6,5 perubahan HA menjadi FA belum banyak terjadi, sehingga kelarutan spesimen tidak berbeda bermakna.^{8,12,13,14.}

Senyawa CaF₂ yang terdapat pada ikan teri mudah terurai dalam bentuk cair, sehingga dapat menyediakan ion F dalam jumlah cukup pada lingkungannya. Dengan demikian penggunaan larutan teri yang mengandung senyawa CaF₂ akan menguntungkan dalam aplikasi topikal fluor.^{4,8,14,18}



**Gambar 3. Pada gambar kiri skematik kedudukan ion OH dalam kolom sumbu c
 Pada gambar kanan, substitusi F akan menyebabkan elongasi c, namun a mengecil,
 sehingga kolom menjadi kompak. (Calderý'n L)¹⁷**

KESIMPULAN

- Aplikasi larutan teri menyebabkan penurunan panjang sisi a dari kristal apatit dan meningkatkan panjang sumbu c.
- Aplikasi larutan teri pada pH 5,5 menghasilkan perubahan dimensi kristal paling besar.
- Penurunan panjang sisi a menyebabkan penurunan kelarutan kristal apatit
- Terdapat korelasi antara penurunan panjang sisi a dengan penurunan kelarutan apatit dalam asam.

KEPUSTAKAAN

1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Sensus Kesehatan Rumah Tangga, 1997.
2. Axelsson. *An Introduction to Risk Prediction and Preventive Dentistry*, Quintessence Publ, Chicago, 1999.
3. Thylstrup A, Fejerskov O. *Textbook of Cariology*, 2nd. ed. Munksgaard, Copenhagen 1998
4. Gunawan HA, Wulandari A, Cahyanti WS, Mutiara HD. Analisa senyawa fluor ikan teri dengan metoda XRD. *KPPIKG XII*, 2003.
5. Maharani DA, Irma, Gunawan HA. Fluoride measurement of Teri Fish using ISE Methods *APDSA Annual Meeting*, Adelaide, 2001
6. Sjögren K. *How to Improve Oral Fluoride Retention*, Munksgaard, Copenhagen, 2000.
7. Øogard B. Calcium Fluoride Formation : Cariostatic Properties and Factors of Enhancing the Effect, *Caries Res*, 40.2001
8. Gunawan HA. Pengaruh tingkat pH terhadap intrusi dan retensi fluor. *Prosidi 6th QIR FTUI*, 2003
9. Fejerskov Fejerskov O, Kidd EAM. *Dental Caries, Diseases and it's Clinical management*. Munksgaard: Blakwell Publ Co. 2003: 189-219
10. Donadel K, Laranjeira MCM, Goncalves VL, F´avere VT, Machado KD, de Lima JC, Prates L. Structural, Vibrational and Mechanical Studies of Hydroxyapatite produced by wet-chemical methods *arXiv: physics/0402002* v1 31 Jan 2004.
11. Chei W, Tai Roan R, Huey Chen. Sintering on Hydroxy Apatite by 10-6-1 nm on CO₂ Laser. *J Lasers in Surgery* . 2002; (333-338)
12. Goldstein JI et al. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. 2 nd ed. Plenum Press, New York, 1992
13. Suvorova EI, Buffar PA. Electron Diffraction and High Resolution Transmission Electron Microscopy in Characterization of Calcium Phosphate Precipitation from Aqueous Solution under Biomineralization Conditions. *European Cells and Materials*. 2001; 1 : 27-42
14. Goodhew PJ, Humphreys J, Beanland R. *Electron Microscopy and Analysis*, 3 rd ed. Taylor & Francis London, 2001.
15. Danilchenko SN, Moseke C, Sukhodub LF, Sulkiocleff B. X-ray diffraction studies of bone apatite under acid demineralization . *Cryst B. Res. Technol*. 39, No. 1, 71 – 77 (2004)
16. Gunawan HA, Priska LH, Astri SA. Pengukuran Intrusi Fluor pada Permukaan Email setelah Aplikasi NaF, *Jurnal Fakultas Kedokteran Gigi UI*, 2005
17. Calder´ın L, Stott MJ, Rubio A. Electronic and crystallographic structure of apatites. *Physical Review B* 67, 134106 ~2003
18. Toumba KJ. Slow Releasing Fluoride for Caries High Risk Individuals, *Caries Res*, 2001: 35 (suppl 1): 10-13.