

Pembentukan Hidroksikarbonat Apatit Oleh Pasta Injeksi Bioactive Glass Berbasis Silika Abu Ampas Tebu Dan Penambahan Karageenan Rumput Laut

(Apatite Hydroxycarbonate Formation By Bioactive Glass Injection Paste Based On Bagasse Ash Silica And Seaweed Carrageenan Addition)

Didin Erma Indahyani¹, Izzata Barid¹, Riris Aria Dewanti²

¹ Bagian Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia

² Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia

Abstrak

Karies akar banyak ditemukan pada lansia, biasanya terlambat dideteksi, melibatkan enamel, sementum, dentin dan terletak dibawah *cementoenamel junction* (CEJ). Reminerasisasi digunakan untuk merawatnya bila belum terjadi kavitas. Bioactive glass (BAG), memicu terjadinya remineralisasi dengan pembentukan hidroksikarbonat apatit pada tahap awalnya. Sediaan dalam bentuk pasta injeksi diperlukan untuk mengatasi permasalahan tersebut. Penggunaan polimer asam hialuronat dan karageenan mendukung sifat fisik dan mekanis sediaan pasta tersebut. Tujuan Penelitian Untuk menganalisis pembentukan HCA pada permukaan akar gigi dengan pemberian pasta injeksi BAG dengan penambahan karageenan rumput laut. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan tiga kelompok penelitian, yaitu kelompok perlakuan 1 (pasta BAG dan asam hialuronat), perlakuan 2 (pasta BAG, asam hialuronat dan karageenan), dan kelompok kontrol (BAG tanpa polimer). Seluruh kelompok direndam dalam saliva buatan, dinkubasi pada 37°C selama 6 hari kemudian dilakukan pengujian dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk melihat terbentuknya HCA dan diuji FTIR. Kuantifikasi HCA dilakukan dengan metode *scoring* sesuai kriteria skor yang telah ditentukan. Hasil SEM menunjukkan terjadi pembentukan HCA pada kedua kelompok perlakuan, dan tidak ada pembentukan HCA pada kelompok kontrol. Terjadi pembentukan HCA pada permukaan gigi dengan pemberian pasta injeksi BAG dengan penambahan karageenan rumput laut.

Kata kunci: *bioactive glass, hydroxycarbonate apatite, karageenan, pasta injeksi, remineralisasi*

Abstract

Root caries is common in the elderly, usually detected late, involving enamel, cementum, and dentin below the cementoenamel junction (CEJ). Remineralisation is used to treat it when cavitation has not occurred. Bioactive glass triggers remineralisation by forming hydroxycarbonate apatite (HCA) at an early stage. Injectable paste preparations are needed to overcome these problems. The use of hyaluronic acid and carrageenan polymers supports the physical and mechanical properties of the paste preparation. The purpose this research to analyse the formation of HCA on the tooth root surface by administering bioactive glass (BAG) injection paste with the addition of seaweed carrageenan. This study was a laboratory experimental study with three research groups, namely treatment group 1 (BAG paste and hyaluronic acid), treatment 2 (BAG paste, hyaluronic acid and carrageenan), and control group (BAG without polymer). All groups were immersed in artificial saliva, incubated at 37°C for six days and then tested by Scanning Electron Microscope (SEM) to see the formation of HCA and FTIR. HCA was quantified by a scoring method according to predetermined score criteria. SEM showed HCA formation in both treatment groups, not the control group. There is HCA formation on the tooth surface by administering BAG injection paste with seaweed carrageenan.

Keywords: *bioactive glass, carrageenan, injection paste, hydroxycarbonate apatite, remineralisation*

Korespondensi (Correspondence): Didin Erma Indahyani. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember. Jl.Kalimantan No. 37, Tegalboto, Jember. Email: didinermmae.fkg@unej.ac.id

Karies akar merupakan penyakit jaringan keras gigi yang lebih banyak ditemukan pada orang tua (lansia). Penelitian cohort menunjukkan adanya hubungan positif antara peningkatan umur dan terjadinya karies akar yang dikaitkan dengan latar belakang sosial ekonomi, xerostomia, kesehatan umum, resesi gingiva, kesehatan mulutnya dan kebiasaan lain yaitu merokok, dan sebagainya.⁽¹⁾ Karies akar menunjukkan rasa nyeri, ketidaknyamanan, kehilangan gigi dan berperan pada penurunan kualitas kesehatan mulut. Gejala awal sulit dikenali karena tidak menunjukkan adanya *white spot* seperti pada karies koronal, Karies di dahului lunaknya jaringan dipermukaan sementum, perubahan warna coklat gelap,⁽²⁾ bersifat progresif, tidak beraturan yang melibatkan sementum, dentin atau email di dekat *cementoenamel junction*.⁽³⁾ Biasanya terletak di sub gingiva, sehingga selain terjadinya demineralisasi juga

ditemukannya invasi berbagai spesies mikroorganisme yang tidak tergantung adanya karbohidrat, tetapi degradasi kolagen di daerah tubulus dentinalis dapat memberikan nutrisi. Kandungan mineral yang sedikit pada permukaan akar (sementum) mempercepat terjadinya demineralisasi.⁽⁴⁾

Deteksi dini dan remineralisasi adalah konsep kunci manajemen untuk lesi karies akar.⁽⁵⁾ Upaya mengembalikan mineralisasi menggunakan topical aplikasi fluor, aplikasi amorphous calcium phosphate dan casein phosphopeptide, pasta gigi berbasis arginin banyak digunakan. Akan tetapi demineralisasi yang sangat cepat, menyebabkan terjadinya kavitas lebih cepat dibandingkan remineralisasi aplikasi bahan tersebut. Keadaan ini memerlukan perawatan restorasi yang lebih agresif dengan menggunakan atraumatic restorative treatment (ART) maupun glass ionomer.⁽⁶⁾ Keterbatasan

keterbatasan pada bahan itu adalah sulit dipoles, ketahanan yang kurang, larut dalam saliva yang beresiko terjadinya kebocoran tepi dan estesisnya terbatas.⁽³⁾

Bioactive glass merupakan suatu bahan yang dapat bereaksi dengan saliva untuk membentuk ikatan yang kuat dengan tulang. Dalam kedokteran gigi, *bioactive glass* digunakan sebagai bahan semen dalam perawatan saluran akar, bahan untuk mengurangi hipersensitivitas dentin, dan *remineralizing agent*.⁽⁷⁾ Hal ini karena kandungannya yang terdiri dari silikon dioksida, kalsium oksida, natrium oksida, dan difosfor pentaoksida.⁽⁸⁾ Kandungan mineral tersebut bila berkontak dengan saliva akan melepaskan ion-ionnya dan membentuk *hydroxycarbonate apatite* (HCA) sehingga proses remineralisasi dapat terjadi.⁽⁹⁾

Bioactive glass adalah material yang berbahan dasar silika. Sumber silika dapat diperoleh dari sisa hasil pertanian seperti abu ampas tebu.⁽¹⁰⁾ Kandungan silika abu ampas tebu sangat tinggi.⁽¹¹⁾ Dalam Dirjen Perkebunan Tahun 2019 dijelaskan bahwa produksi tebu di Indonesia sangat tinggi, yaitu 2,45 juta ton, dan jumlah industri pabrik gula di Indonesia sangat banyak, sehingga pasti limbah ampas tebu yang dihasilkan juga sangat banyak.⁽¹²⁾

Pada kasus perawatan gigi di bagian akar gigi, dapat digunakan sediaan berupa pasta injeksi. Pasta memiliki *flowbility* yang sangat baik, minimal hingga tidak ada percikan saat penggunaannya.⁽¹³⁾ Kemampuan mengalirnya pasta di dalam defek tulang ataupun gigi sangat penting untuk proses penyembuhannya. Penggunaan *bioactive glass* dalam sediaan pasta injeksi sebagai bahan remineralisasi sesuai untuk mengatasi permasalahan lokasi defek yang sulit dijangkau pada saat treatment.^{(14),(15)} Selain itu penggunaan bahan tumpat *glass ionomer* maupun komposit membutuhkan retensi lebih luas dan sifatnya sedikit *brittle*.^{(16),(17)} Pembuatan pasta injeksi memerlukan polimer untuk mendapatkan komposisi pasta yang memiliki kemampuan mengalir ke daerah defek dan ketahanan yang baik setelah diinjeksikan pada lapisan gigi.⁽¹⁸⁾ Selain itu polimer dalam bentuk hidrogel yang berasosiasi dengan *bioactive glass*, dapat meningkatkan fungsi pada elastisitas, modulus Young, dan adhesi sel.⁽¹⁹⁾ Penggunaan polimer alami lebih menguntungkan. dibandingkan polimer sintesis. Polimer yang terdegradasi akibat absorpsi komponen air, protein dan ion ion di lingkungannya (tubuh), akan melepaskan produk produk polimer yang bersifat tidak toksik. Polimer alami tersebut misalnya kolagen, gelatin, fibroin sutra, asam hialuronat, kitosan, alginat, karagenan dan selulosa karena bersifat biokompatibel dan non-sitotoksik.^{(20),(21)}

Karagenan adalah polimer karbohidrat alami dengan berat molekul tinggi, yang berasal dari struktur dinding sel rumput laut

merah. Berat molekul tierniemy adalah (100-1000 kDa), terdiri dari pengulangan subunit disakarida dari dua galaktosa, tersulfasi secara tidak sempurna pada posisi spesifik karbon C2 dan/atau C4, C3, dan C6, yang dihubungkan bersama oleh ikatan α (1,3). Subunit ini dihubungkan bersama oleh ikatan β (1,4). Khususnya unit disakarida tersebut memiliki residu β (1,4) -D-galaktosa-4-sulfat dan α (1,3) -3,6-anhidro-D-galaktosa.⁽²²⁾ Oleh karena struktur kimia khusus ini, karagenan memiliki sifat fisikokimia yang ideal, gugus fungsi yang melimpah, batas retensi air yang tinggi, dan muatan negatif. Sifat ini diperlukan pada banyak aplikasi di industri farmasi, kosmetik, dan makanan.⁽²³⁾ Karagenan digunakan pada tissue engineering karena memiliki sifat gelasi, pembentukan gel dengan protein dan obat-obatan, serta merangsang pertumbuhan sel.⁽²⁴⁾ Selain itu juga menginduksi pembentukan lapisan apatit di permukaan tulang dengan meningkatkan bioaktivitas dan potensi osteogenik.⁽²⁵⁾

Asam hialuronat (HA), suatu asam mukopolisakarida dengan sifat antioksidan, membentuk gel, anti-inflamasi, dan penyembuhan luka yang kuat. Pada pembentukan pasta, HA dikenal mempunyai karakteristik viskoelastik, biokompatibilitasnya baik dan efek modifikasinya yang baik pada penanganan bahan yang berbentuk pasta.⁽¹⁸⁾ Selain itu HA berpartisipasi dalam memproduksi matriks ekstra seluler.⁽²⁶⁾

Berdasarkan uraian tersebut, tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh pasta injeksi *bioactive glass* abu ampas tebu dengan penambahan karageenan rumput laut sebagai bahan remineralisasi gigi, khususnya dalam pembentukan *hydroxycarbonate apatite*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris. Sampel penelitian menggunakan gigi sapi yang diperoleh dari tempat penyembelihan sapi dari 1 sapi.⁽²⁷⁾ Terdapat tiga kelompok penelitian, yaitu kelompok perlakuan 1 (permukaan akar gigi yang diberi pasta BAG dan asam hialuronat), perlakuan 2 (permukaan akar gigi yang diberi pasta BAG, asam hialuronat dan karageenan), serta kelompok kontrol (permukaan akar gigi dengan pasta tanpa hialuronat dan juga karageenan). Semua perlakuan dilakukan setelah gigi dilakukan proses demineralisasi menggunakan asam fosfat. Seluruh kelompok direndam dalam saliva buatan dan diinkubasi 37°C selama 6 hari kemudian dilakukan pengujian dengan *Scanning Electron Microscope* untuk melihat terbentuknya HCA yang menunjukkan adanya remineralisasi dan diuji FTIR. Kuantifikasi HCA dilakukan dengan metode *scoring* sesuai kriteria skor yang telah ditentukan yang menggunakan *image J*.

Pembuatan Bubuk *Bioactive Glass*

Pembuatan bubuk *bioactive glass* diawali dari pembakaran ampas tebu dan sintering abu ampas tebu pada suhu 600°C selama 4 jam kemudian abu hasil sintering diayak dan diambil 25gram, dilakukan pemurnian dengan HCl 150ml 0,1M dalam erlenmeyer, diaduk dengan pengaduk magnet dan dидiamkan selama 24 jam. Setelah itu dilakukan penyaringan dengan kertas saring, didapatkan residu, dibilas dengan akuades hingga PH netral, kemudian dikeringkan dalam oven 110°C selama 2 jam. Residu yang telah dikeringkan ditimbang 10 gram, dimasukkan dalam erlenmeyer ditambahkan 60 ml NaOH 2 M diaduk dengan pengaduk magnet selama 1 jam sampai mendidih. Kemudian ditunggu hingga mencapai suhu ruang, disaring dan dikeringkan dengan oven 110°C selama 2 jam didapatkan natrium silika. Natrium silika yang telah didapatkan ditimbang sebanyak 5 gram, dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditambahkan 15 ml akuades, diaduk. Kemudian ditambahkan 2,5 ml etanol 96% dan diaduk. Ditambahkan HNO₃ 2 M sampai pH netral dan diaduk selama 1 jam. Ditambahkan 0,5 gram P₂O₅ diaduk selama 45 menit. Ditambahkan 4,1 gram Ca(NO₃)₂·4H₂O selama 45 menit dan dидiamkan selama 5 hari dalam suhu ruang. Didapatkan silika gel, dikeringkan dalam oven 60°C selama 72 jam, dilanjutkan pengeringan dengan *furnace* 700°C selama 5 jam, dan didapatkan bubuk *bioactive glass*.⁽²⁸⁾

Ekstraksi Karageenan Metode Asam

Rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dicuci dengan air mengalir lalu direndam dalam larutan KOH 0,1% selama 1 jam, kemudian dicuci kembali dengan air mengalir. Tahap selanjutnya pengeringan sampel dengan metode oven 60°C selama 96 jam hingga kadar airnya <15%, lalu sampel dihaluskan dengan blender. 100 gram bubuk *Kappaphycus alvarezii* direndam dengan HCl 1% dengan rasio 1:30 (b/v) selama 1 jam, lalu dicuci bersih hingga pH netral. Setelah itu dilakukan ekstraksi menggunakan larutan Na₂CO₃ 2% (1:30;b/v) dalam *waterbath shaker* pada suhu 60-70°C selama 2 jam dan filtratnya diambil menggunakan saringan ukuran 150 *mesh*, lalu dipucatkan menggunakan NaOCl 10% sebanyak 4% dari volume filtrat hingga berwarna kuning gading selama 30 menit. Sampel di titrasi dengan HCl 10% sampai pH 2,8-3,2, kemudian endapan karageenan yang didapat, dipisahkan dan dicuci bersih, lalu dikonversi menjadi karageenan menggunakan Na₂CO₃ 10% hingga pH netral, dituang sedikit demi sedikit ke dalam isopropil alkohol (1:2, v/v) sambil diaduk dan dibiarkan 30 menit. Karageenan yang didapat dikeringkan selama 72 jam dengan oven suhu 60°C, lalu dihaluskan menggunakan blender dan disaring dengan saringan ukuran 60 *mesh*.⁽²⁹⁾

Identifikasi Gugus Fungsi Karageenan

Spektrum FTIR karageenan ditunjukkan oleh puncak-puncak serapan

Pembuatan Pasta Injeksi *Bioactive Glass*

Bubuk *bioactive glass* 1,2 gram ditambahkan dengan 2 ml likuid asam hialuronat 3% dan 2 ml karageenan 3%. Dicampurkan dalam *mortar* dan *pastle* hingga homogen, kemudian dimasukkan dalam *syringe* terumo.⁽¹⁸⁾

Pembuatan Saliva Buatan

Memasukkan reagen yaitu NaCl 0.47 gr, NaHCO₃ 9.8 gr, KCl 0.57 gr, Na₂HPO₄·12H₂O 9.3 gr, MgCl₂ 0.06 gr, CaCl₂ 0.04 gr ke dalam erlenmeyer 1 liter, kemudian ditambahkan akuades sampai penuh 1 liter dan diaduk dengan pengaduk magnet sampai homogen.⁽³⁰⁾

Pengaplikasian Pasta Injeksi *Bioactive Glass*

Prosedur aplikasi menggunakan metode Deng, dkk,⁽³¹⁾ yang dimodifikasi, dengan taMempersiapkan gigi insisif sapi yang bebas karies dan bebas fraktur, kemudian potong gigi tersebut pada bagian cemento-enamel junction dengan (menggunakan *diamond disc bur*, untuk memisahkan antara mahkota dan akar giginya. Akar gigi dipotong secara transvershapan sebagai berikut. al di sepertiga bagian apical dan di sepertiga bagian servikal, untuk mengambil sepertiga bagian Tengah akar), dengan ukuran 5mm x 10mm. Tandai bagian kelompok sampel A, B, dan C untuk membedakan bagian yang akan diberi perlakuan dan bagian kontrol. Melapisi seluruh permukaan labial, palatal, dan distal pada sampel A, B, dan C dengan menggunakan *nail varnish*. Dilakukan pengetsaan dengan etsa asam fosfat 37% selama 60 detik pada kelompok A, B dan C pada permukaan mesial. Aplikasikan pasta injeksi BAG pada sampel A dan B. Pada sampel C tidak dilakukan pengaplikasian pasta. Rendam ketiga sampel (A, B, dan C) ke dalam *tube* yang berisi saliva buatan. Masukkan *tube* tersebut ke dalam oven dengan suhu 37°C. Dilakukan penggantian saliva buatan dan pengulasan pasta kembali setiap 24 jam sekali, selama 6 hari.

Pengujian SEM dan FTIR

Setelah dilakukan perlakuan selama 6 hari, sampel diambil untuk dilakukan pengujian SEM untuk melihat terbentuknya *hydroxycarbonate apatite* dan uji FTIR untuk melihat gugus fungsi yang terbentuk apakah benar gugus fungsi *hydroxycarbonate apatite*. Karakterisasi dengan FTIR untuk HCA.

Scoring

Metode *scoring* digunakan untuk melakukan pengamatan pada area pembentukan HCA dari gambaran SEM, yaitu pada permukaan mesial akar gigi. Dalam melakukan *scoring* ini terlebih dahulu dibuat *grid* (kotak) untuk memudahkan perhitungan

jumlah HCA. Pembuatan *grid* ini dilakukan dengan menggunakan *software* Adobe Photoshop, dengan ketentuan *color grid* merah, *gridline* every 4 cm dan *subdivision* 10, sehingga nampak kotak berjumlah 768. Penginterpretasian metode *scoring* ini didasarkan pada acuan skor yang telah ditetapkan terlebih dahulu. Pada pengamatan pembentukan HCA, Peneliti membuat batasan skor yaitu:

- 0 : Tidak terdapat pembentukan HCA
- 1 : Terbentuk HCA sebanyak < 1/3 kotak
- 2 : Terbentuk HCA sebanyak 1/3 < HCA < 2/3 kotak
- 3 : Terbentuk HCA sebanyak 2/3 < HCA < penuh
- 4 : Terbentuk HCA secara penuh.

Dalam *scoring* ini, melibatkan tiga orang untuk melakukan agar mendapatkan hasil yang lebih akurat. Data yang terkumpul dilakukan analisis statistik menggunakan anova satu arah

HASIL

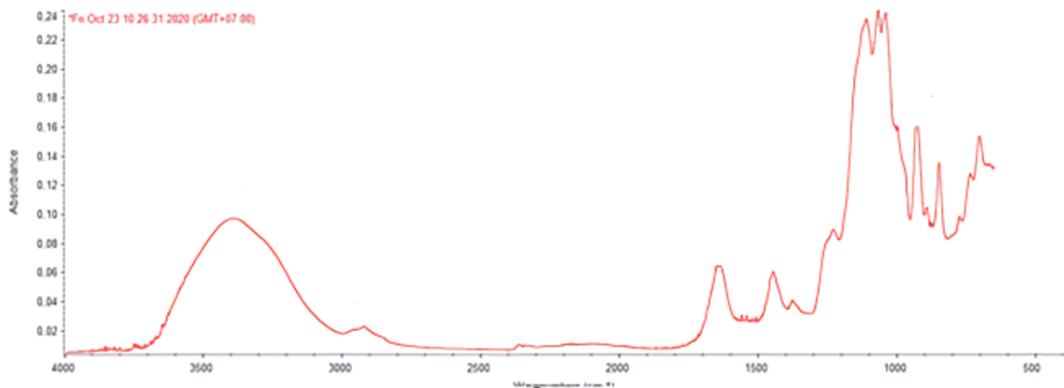
Untuk menguji hasil ekstraksi karageenan pada rumput laut merah dilakukan uji FTIR menunjukkan hasil yang mirip dengan penelitian Webber, dkk.(32) Hasil uji FTIR spectroscopy menunjukkan adanya puncak serapan yang kuat pada regio 1210-1260 cm⁻¹ (S=0 sulfat ester) dan regio 1010-1080 cm⁻¹ (glycosidic linkage) untuk semua tipe karageenan. Sinyal yang sangat kuat juga terlihat pada pada 803-805 cm⁻¹, yang spesifik untuk 3,6-anhidrogalaktosa-2-sulfat. Puncak serapan lainnya pada 840-850 cm⁻¹ (dikaitkan dengan D-galaktosa-4-sulfat) dan pada

dalam kristal apatit. Puncak serapan pada 558 dan juga 570 menunjukkan adanya ikatan bending O-P-O di dalam apatit yang mengindikasikan adanya beberapa kristalisasi. Pada kedua gambar hasil uji FTIR menunjukkan gambaran yang sama atau mirip. Pada kelompok kontrol, tidak diperoleh hasil uji FTIR, karena tidak ada pembentukan di permukaannya.

Pembentukan HCA dapat terlihat pada hasil foto SEM. Pada gambaran tersebut, Nampak perbedaan gambaran hidroksikarbonat apatit pada masing masing perlakuan dan control. Pada kelompok control, tidak nampak pembentukan HCA. Terlihat gambaran tubulus dentinalis yang terbuka oleh karena hilangnya lapisan sementum dan terlepasnya mineral dentin dipermukaan akar akibat etsa asam yang dilakukan pada penelitian ini. Pada kelompok perlakuan gambaran HCA terlihat dibebepa permukaan, walaupun tidak merata diseluruh permukaan. Nampak HCA menutupi beberapa tubulus dentinalis yang terbuka. (Gambar 3).

Pembentukan HCA pada permukaan gigi, dilakukan skoring, untuk mengetahui banyaknya HCA yang terbentuk. Hasil skoring dapat ditunjukkan pada Table 1.

Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen dengan p>0,05. Uji One Way Anova menunjukkan signifikansi ≤0,05 yang berarti bahwa kelompok penelitian memiliki perbedaan rerata jumlah skor HCA. Kemudian dilanjutkan dengan uji LSD yang menunjukkan hasil p≤0,05, artinya ada perbedaan yang bermakna yaitu perbedaan rerata jumlah skor HCA pada seluruh kelompok penelitian,

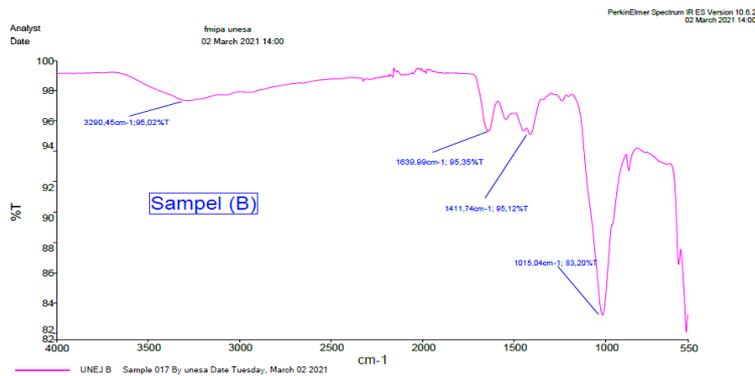


Gambar 1. Hasil Uji FTIR Ekstrak Karageenan Rumput Laut Merah

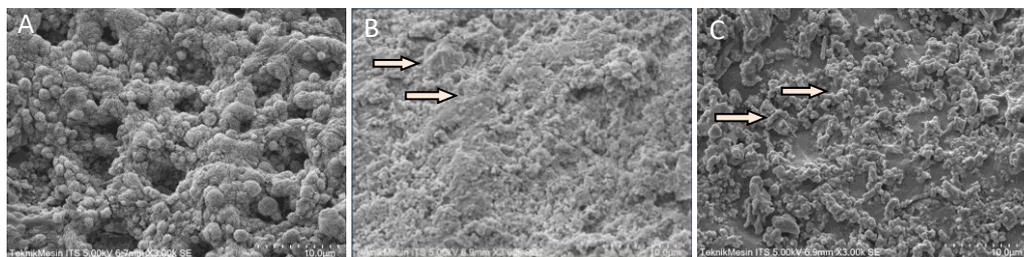
puncak 925-935 cm⁻¹ (3,6-anhydro-D galactose). Uji FTIR pada gambar 1.

Hasil uji pembentukan hidroksikarbonat apatit (HCA) berdasarkan uji FTIR puncak serapan pada 1012, 1411, 1450 menunjukkan adanya carbonate (CO₃²⁻) yang tergabung

dengan rerata jumlah HCA terbanyak adalah pada kelompok pasta dengan BAG dengan hialuronat dan karageenan. Hasil paling kecil pada kelompok yang diulas pasta BAG saja.



Gambar 2. Hasil Uji FTIR Hydroxycarbonate Apatite Gigi Sapi. A. Kelompok Perlakuan Dengan BAG Dengan Asam Hialuronat, B. BAG Dengan Hialuronat Dan Karageenan



Gambar 3. Hasil Uji SEM Kelompok Kontrol (A), Perlakuan 1 (B) Dan Perlakuan 2 (C) Dengan Pasta Injeksi BAG

Tabel 1. Rerata jumlah HCA pada permukaan gigi

	SKORING														
	Kontrol					Perlakuan 1					Perlakuan 2				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
Nilai skoring	768	0	0	0	0	235	185	209	117	22	79	158	174	197	160

Keterangan :

- 0 : Tidak terdapat pembentukan HCA;
- 1 : Terbentuk HCA sebanyak < 1/3 kotak;
- 2 : Terbentuk HCA sebanyak 1/3 < HCA < 2/3 kotak;
- 3 : Terbentuk HCA sebanyak 2/3 < HCA < penuh;
- 4 : Terbentuk HCA secara penuh.

PEMBAHASAN

Hidroksikarbonat apatit, terbentuk pada permukaan gigi yang diaplikasikan BAG dengan hialuronat dan BAG dengan hialuronat dan alginat setelah direndam saliva buatan. Sesuai penelitian sebelumnya pembentukan HCA terjadi ketika bioglass terlarut dalam *simulate body fluid* (SBF), yang diikuti dengan pelepasan ion Ca^{2+} , HPO_4^{2-} dan PO_4^{3-} , sehingga meningkatkan kejenuhan SBF terhadap apatit. Lapisan hidroksi-karbonat apatit (HCAp) mulai tumbuh oleh penyerapan ion kalsium dan fosfat dari SBF dan dengan penggabungan elektrolit lain seperti CO_3^{2-} dan Mg^{2+} .⁽³³⁾ Pembentukan HCA terdeteksi mulai 12 jam setelah berkontak dengan SBF dan 16 jam, HCA terdeteksi nyata, dengan adanya penyempitan pada serapan gugus fungsi uji FTIR.⁽³⁴⁾ Pada uji FTIR nampak terdeteksi serapan yang menandai adanya HCA yaitu pada, 1411, 1450, 558. Selain itu gugus yang menandai adanya ikatan Si-O-Si pada puncak 570 dan 1012 gugus fungsi pembentuk

hidrokarbonat apatit yaitu CO_3^{2-} dan ikatan bending P-O.

Ikatan Si-O-Si (silika) berperan sebagai prekursor dalam pembentukan HCA. Prekursor artinya adalah pendahulu. Silika ini menginisiasi terbentuknya HCA, akan tetapi tidak ikut dalam proses maupun reaksi di dalamnya. Silika akan tetap tinggal di permukaan gigi dan berfungsi sebagai kontrol kelembaban (*moisturing*) sehingga stabilitas dimensionalnya dapat terjaga. Dalam Fadhulloh⁽³⁵⁾ dijelaskan bahwa silika memiliki sifat stabilitas tinggi, fleksibilitas kimia, dan biokompatibilitas yang berperan penting bagi berbagai lingkup. Silika dapat dimanfaatkan diantaranya sebagai penyerap dan penopang katalis. Adanya gugus -OH yang mampu membentuk ikatan hidrogen dengan gugus yang sama dari molekul yang lain menyebabkan silika dapat digunakan sebagai adsorben.⁽³⁶⁾

Kandungan silika yang terdapat pada *bioactive glass* abu ampas tebu ini adalah sebesar 46,1%.⁽³⁷⁾ Menurut indeks bioaktivitas,

suatu bahan *bioactive glass* dengan kandungan silika sebesar 45-52% memiliki bioaktivitas yang tinggi dan mampu berikatan dengan tulang dengan baik. Peningkatan kandungan silika dari material kaca akan menurunkan laju pelarutan dan mengurangi jumlah ion Ca^{2+} dan HPO_4^- yang akibatnya pembentukan lapisan gel silika pada permukaan dihambat sehingga dapat dikatakan bahwa bioaktivitasnya menurun.⁽⁷⁾ Hal ini berarti dengan kandungan silika tersebut, pasta *bioactive glass* dapat berikatan baik dengan permukaan gigi.

Adapun mekanisme terjadinya remineralisasi dimulai dari substitusi ion Ca^{2+} dan Na^+ dari *bioactive glass* (BAG) dengan kation pada saliva, kemudian terbentuk ikatan antara Si dengan OH (silanol). Ikatan silanol terus terbentuk dan akan mengalami konsensasi dan polimerisasi membentuk *Amorphous Calcium Silicate* (silika gel). Kemudian terjadi migrasi ion kalsium dan fosfat ke lapisan tersebut membentuk *Amorphous Calcium Phosphate* (ACP) dan akan terjadi penggabungan ion karbonat membentuk *Crystalline Hydroxycarbonate Apatite*.⁽³⁸⁾ Dalam proses remineralisasi ini, yang terbentuk adalah mineral *hydroxycarbonate apatite* karena adanya penambahan gugus karbonat.

Karbonat adalah substituen minor utama pada apatit tulang (2,0–8,0% berat). Gugus karbonat dapat menggantikan ion hidroksil (tipe-A) dan ion fosfat (tipe-B) masing-masing atau menggantikan dua posisi pada saat yang bersamaan (Tipe AB). Rasio tipe A ke tipe B secara biologis apatit adalah antara 0,7 dan 0,9 tergantung pada usia individu. Keberadaan karbonat tipe B di kisi apatit terbukti menyebabkan penurunan kristalinitas dan peningkatan kelarutan baik uji *in vitro* maupun *in vivo*, menyebabkan bioresorbabilitas dan tingkat osteointegrasi yang lebih baik, sedangkan sel osteoblas trabekuler manusia memiliki afinitas yang lebih rendah untuk permukaan HCA dibandingkan dengan HA. Pengaruh substitusi karbonat pada struktur dan kinerja tergantung pada konten dan jenis substitusinya.⁽³⁹⁾ Pembentukan apatit atau proses remineralisasi oleh BAG melibatkan pertukaran ion-ion yang dilepaskan oleh BAG dengan cairan rongga mulut disekitarnya, yang berperan pada supersaturasi ion dalam cairan jaringan misalnya dentin, semenam, maupun enamel, yang menimbulkan presipitasi berulang dipermukaan BAG. Dengan demikian menimbulkan presipitasi pertumbuhan kalsium fosfat yang akan membentuk apatit yang stabil. Oleh karena pelepasan ion oleh HCA 6 x lipat lebih cepat dibandingkan tumpatan glass yang lain misalnya silikat, maka pembentukan remineralisasi jauh lebih cepat pada aplikasi BAG.⁽⁴⁰⁾

Asam hialuronat (HA) merupakan polimer terpenting dengan fungsi terapeutik untuk membuat pasta biokomposit. Asam hialuronat berfungsi seperti matriks

ekstraseluler, yang pada jaringan yang terhidrasi beroperasi sebagai inti pengorganisasian untuk menghubungkan agregat antar sel yang kompleks. Asam hialuronat telah dilaporkan dapat meningkatkan sifat anti hanyutnya (*washout*) pada semen kalsium fosfat dan meningkatkan kemampuan injeksi, kekuatan mekanik, serta bioaktivitasnya.⁽¹⁸⁾ Oleh karena itu sediaan BAG tanpa hialuronat tidak terbentuk HCA akibat terjadinya *washout*. Hal itu dapat terlihat pada hasil foto SEM sediaan gigi pada kelompok tanpa hialuronat nampak tubulus dentinalis yang terbuka berlubang tanpa ada BAG. Sebenarnya permukaan glass dan gigi ada sifat adhesi secara kimiawi melalui pertukaran ion-ion yang ada di bioglass dan semenam.⁽⁴¹⁾ Tidak adanya bahan yang mengorganisasikan pasta BAG yang bersifat mudah lepas, maka bahan yang sudah diinjeksikan di daerah tersebut akan mengalami *washout*.

Komposisi pasta injeksi terdiri dari bubuk BAG dan *liquid* berupa asam hialuronat dan karageenan. Asam hialuronat di dalam pasta dapat meningkatkan sifat kohesi pasta, meningkatkan stabilitas struktural pada pasta dan terutama berperan dalam flowabilitas pada pasta injeksi.⁽¹⁸⁾ Flowabilitas pada pasta ini terbentuk karena kemampuan asam hialuronat dalam mengurangi *shear stress* dan *compressive stress* pada pasta ketika diinjeksikan sehingga energi yang diperlukan untuk mengalirkan pasta melalui pipa menjadi berkurang. Penambahan karageenan pada pasta ini bertujuan mengatasi sifat *washout*. Untuk menambah sifat *anti-washout* dari sebuah pasta dapat dilakukan dengan menambahkan beberapa promotor kohesi seperti polimer misalnya karageenan.

Karageenan yang merupakan polisakarida yang mampu mengatasi sifat *washout* pada pasta injeksi karena kemampuannya sebagai bahan pengemulsi dan *gelling agent*. Kemampuan tersebut membuat pasta injeksi yang dihasilkan memiliki viskositas yang tinggi sehingga sifat *washout* yang ada akan berkurang. Sodium hialuronat telah dilaporkan meningkatkan sifat *anti-washout* semen kalsium fosfat dan meningkatkan kemampuan pasta injeksi, kekuatan mekanik dan bioaktivitasnya. Hal ini digambarkan seperti di dalam matriks ekstraseluler, hialuronat dapat berpartisipasi sebagai pengorganisasi yang menghubungkan antar sel yang kompleks dan agregat.⁽⁴²⁾ Penambahan karageenan dalam pembuatan pasta ini dapat memberikan sifat *thixotropic* (pengurangan viskositas walaupun laju gesernya meningkat) dan membuat pasta menjadi lebih stabil dalam keadaan dinamik. Sesuai penelitian Gonzales dan Ossa adalah penambahan karageenan pada pasta injeksi menyebabkan pengurangan fase terpisahnya bahan-bahan dalam pasta, sehingga jumlah bahan ketika di keluarkan dari dalam syring mempunyai volume dan kekuatan yang tetap dan konstan.⁽⁴³⁾

Adapun kombinasi *liquid* asam hialuronat dan karageenan menjadi sebuah perpaduan yang sangat baik dalam pasta. Kedua polimer ini memiliki gugus fungsional COO⁻ dan OH⁻ yang dapat berinteraksi secara elektrostatis dengan ion Ca²⁺ pada permukaan Bioactive glass sehingga dapat terbentuk suatu pasta dengan stabilitas struktural yang sangat baik. Kompleks ini dapat melindungi pasta dari disintegrasi saat bersentuhan dengan saliva. Hal tersebut menunjukkan bahwa ada korelasi langsung antara thixotropy pasta dan sifat anti-washout. Dengan kata lain, stabilitas pasta meningkat dengan meningkatnya thixotropy yang dihasilkan dalam pasta anti-washout. Waktu berkontaknya pasta *bioactive glass* yang lebih lama juga menyebabkan pembentukan HCA yang lebih banyak. *Hench mechanism* menjelaskan bahwa semakin banyak material *bioglass* yang berkontak dengan saliva, maka semakin banyak pula terbentuknya lapisan *amorphous calcium phosphate* (ACP) yang akan mengalami maturasi membentuk HCA.⁽³⁴⁾

Berkurangnya sifat *washout* dalam pasta injeksi menyebabkan waktu kontak pasta dengan saliva di daerah lokal tersebut menjadi lebih lama. Waktu kontak yang lebih lama menyebabkan terjadinya pembentukan HCA lebih banyak. Lamanya waktu perendaman juga memberikan pengaruh pada proses terbentuknya HCA. Pada seluruh sampel penelitian sama-sama dilakukan perendaman dalam waktu 6 hari pada inkubator dengan suhu 37°C. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kontonasaki⁽⁴⁴⁾ pembentukan HCA dimulai pada 12 jam setelah perendaman. Pada 12 jam pertama, HCA yang terbentuk adalah berupa HCA amorf yang kemudian akan mencapai fase kristalin pada 24-48 jam. Dalam Sohrabi^{(18),(45)} juga dijelaskan bahwa puncak pembentukan HCA mulai terjadi pada hari ke-3.

KESIMPULAN

Terjadi pembentukan *hydroxycarbonate apatite* pada permukaan akar gigi dengan pemberian pasta injeksi *bioactive glass* abu ampas tebu dengan penambahan karageenan dari rumput laut. Karageenan meningkatkan sifat mekanis, gelling yang mencegah terjadinya *washout bioactive glass*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Institusi LP2M yang telah memberikan kesempatan melalui dana hibah internal keris dan eksternal DRTPM, seluruh tim peneliti dan anggota Keris Safreh yang telah berusaha keras menyelesaikan semua target dengan hebat.

DAFTAR PUSTAKA

- Zhang J, Chin E, Lo M. Epidemiology of dental root caries : a review of risk factors. 2020;(4):1–9.
- Fee PA, Macey R, Walsh T, Clarkson JE, Ricketts D. Tests to detect and inform the diagnosis of root caries. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;2021(1).
- Gonzalez ACC, Zuluaga DJM. Clinical outcome of root caries restorations using ART and rotary techniques in institutionalized elders. *Braz Oral Res*. 2016;30(1):1–8.
- Alqranei MS, Balhaddad AA, Melo MAS. The burden of root caries : Updated perspectives and advances on management strategies. 2020;(June):1–18.
- Sleibi A, Ozel B, Anderson P, Baysan A. Comparison of different bioglass applications on root caries – A laboratory-based study. *Saudi Dent J* [Internet]. 2022;34(7):572–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2022.07.002>
- Tan H, Richards L, Walsh T, Hv W, Je C, Wang L, et al. Interventions for managing root caries (Protocol). 2017;(8).
- Krishnan V, Lakshmi T. Bioglass : A novel biocompatible innovation. 2013;4(2).
- Farooq I, Imran Z, Farooq U, Leghari A, Ali H. Bioactive Glass : A Material for the Future. 2012;3(June):199–201.
- Madan N, Madan N, Sharma V, Pardal D, Madan N. Tooth remineralization using bio-active glass - A novel approach. *J Adv Oral Res*. 2011;2(2):45–50.
- Ismayana A, Maddu A, Saillah I, Mafquh E, Indrasti NS. Sintesis nanosilika dari abu ketel industri gula dengan metode ultrasonikasi dan penambahan surfaktan synthesis of nanosilica from boiler ash of sugar cane industry with ultrasonication method and addition of surfactant. 2017;27:228–34.
- Kazmi SMS, Abbas S, Saleem MA, Munir MJ, Khitab A. Manufacturing of sustainable clay bricks: Utilization of waste sugarcane bagasse and rice husk ashes. *Constr Build Mater* [Internet]. 2016;120:29–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2016.05.084>
- Wicaksana A, Rachman T. 濟無 No Title No Title No Title. *Angew Chemie Int Ed* 6(11), 951–952 [Internet]. 2018;3(1):10–27. Available from: <https://medium.com/@arifwicaksana a/pengertian-use-case-a7e576e1b6bf>
- Peterson KS. (12) Patent Application

- Publication (10) Pub . No .: US 2011 / 0059420 A1. 2011;1(19).
14. Shivaprasad BM, Padmavati P, Sanghani NN. Chair side application of NovaMin for the treatment of dentinal hypersensitivity- a novel technique. *J Clin Diagnostic Res.* 2014;8(10):ZC05-8.
 15. Dai LL, Mei ML, Chu CH. Mechanisms of Bioactive glass in Caries Management. 2019;1-14.
 16. Prabhakar A, Basappa N, Paul M J. Comparative Evaluation of the Remineralizing Effects and Surface Microhardness of Glass Ionomer Cements Containing Bioactive Glass (S53P4): An in vitro Study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2010;3(2):69-77.
 17. Kinasih CP, Indahyani DE, Barid I, Probosari N. Analisis Kebocoran Tepi pada Glass Ionomer Kaca dengan Penambahan Bioactive Glass Berbasis Silica dari Ampas Tebu. *STOMATOGNATIC - J Kedokt Gigi.* 2018;15(2):37.
 18. Sohrabi M, Hesaraki S, Kazemzadeh A, Alizadeh M. Development of injectable biocomposites from hyaluronic acid and bioactive glass nano-particles obtained from different sol-gel routes. *Mater Sci Eng C [Internet].* 2013;33(7):3730-44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.05.005>
 19. Costaa HS, Diasa MR. Alginate/Bioactive glass beads: Synthesis, morphological and compositional changes caused by SBF immersion method. *Mater Res.* 2021;24(4).
 20. Sergi R, Bellucci D, Cannillo V. A review of bioactive glass/natural polymer composites: State of the art. *Materials (Basel).* 2020;13(23):1-38.
 21. Sathain A, Monvisade P, Siriphannon P. Bioactive alginate/carrageenan/calcium silicate porous scaffolds for bone tissue engineering. *Mater Today Commun [Internet].* 2021;26(January):102165. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102165>
 22. Blakemore WR. Polysaccharide Ingredients: Carrageenan [Internet]. Reference Module in Food Science. Elsevier; 2016. 1-8 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03251-0>
 23. Boukhatem A, Bouarab K, Yahia A. Kappa (κ)-carrageenan as a novel viscosity-modifying admixture for cement-based materials – Effect on rheology, stability, and strength development. *Cem Concr Compos [Internet].* 2021;124(January):104221. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2021.104221>
 24. Li L, Ni R, Shao Y, Mao S. Carrageenan and its applications in drug delivery. *Carbohydr Polym [Internet].* 2014;103(1):1-11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.12.008>
 25. Roshanfar F, Hesaraki S, Dolatshahi-Pirouz A, Saeidi M, Leal-Marín S, Glasmacher B, et al. Reinforcement of Calcium Phosphate Cement with Hybrid Silk Fibroin/Kappa-Carrageenan Nanofibers. *Biomedicines.* 2023;11(3).
 26. Wolf KJ, Kumar S. Hyaluronic Acid: Incorporating the Bio into the Material. *ACS Biomater Sci Eng.* 2019;5(8):3753-65.
 27. Zhang A, Chen R, Aregawi W, He Y, Wang S, Aparicio C, et al. Development and calibration of biochemical models for testing dental restorations. *Acta Biomater [Internet].* 2020;109:132-41. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.04.014>
 28. Falk G, Shinhe GP, Teixeira LB, Moraes EG, de Oliveira APN. Synthesis of silica nanoparticles from sugarcane bagasse ash and nano-silicon via magnesiothermic reactions. *Ceram Int.* 2019;45(17):21618-24.
 29. Jaya A, Sumarni NK, Ridhay A. EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KARAGENAN KASAR RUMPUT LAUT *Eucheuma cottoni.* *KOVALEN J Ris Kim.* 2019;5(2):146-54.
 30. Krämer N, Möhwald M, Lücker S, Domann E, Zorzin JI, Rosentritt M, et al. Effect of microparticulate silver addition in dental adhesives on secondary caries in vitro. *Clin Oral Investig.* 2015;19(7):1673-81.
 31. Deng M, Wen HL, Dong XL, Li F, Xu X, Li H, et al. Effects of 45S5 bioglass on surface properties of dental enamel subjected to 35% hydrogen peroxide. *Int J Oral Sci.* 2013;5(2):103-10.
 32. Webber V, Carvalho SM de, Ogliari PJ, Hayashi L, Barreto PLM. Optimization of the extraction of carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* using response surface methodology. *Food Sci Technol.* 2012;32(4):812-8.
 33. Kontonasaki E, Chatzistavrou X, Savu B, Sandulescu I, Paraskevopoulos K,

- Koidis P. Investigation of the hydroxyapatite growth on bioactive glass surface. *J Biomed Pharm Eng* [Internet]. 2007;1(January):34-9. Available from: [http://www3.ntu.edu.sg/bmerc/contents/JBPE/J001/JBPE 1\(1\); 34-39.pdf](http://www3.ntu.edu.sg/bmerc/contents/JBPE/J001/JBPE 1(1); 34-39.pdf)
34. Yu Y, Bacsik Z, Edén M. Contrasting in vitro apatite growth from bioactive glass surfaces with that of spontaneous precipitation. *Materials* (Basel). 2018;11(9):20-2.
 35. Fadhlulloh MA, Rahman T, Nandiyanto ABD, Mudzakir A. Review Tentang Sintesis SiO₂ Nanopartikel. *J Integr Proses*. 2014;5(1):30-45.
 36. Karimullah R, Elvia R, Amir H. Penentuan Parameter Adsorpsi Silika Sintetik Dari Cangkang Kelapa Sawit Terhadap Kandungan Ammonium Pada Limbah Cair Tahu. *Alotrop*. 2018;2(1):66-71.
 37. Indahyani DE, Barid I, Probosari N, Praharani D, Vincēviča-Gaile Z, Setyobudi RH. Effect of temperature on hydroxyl carbonated apatite from ash bagasse. *Ann Trop Med Public Heal*. 2020;23(8):1233-7.
 38. Skallevoid HE, Rokaya D, Khurshid Z, Zafar MS. Bioactive glass applications in dentistry. *Int J Mol Sci*. 2019;20(23):1-24.
 39. Zhu QX, Li YM, Han D. Co-substitution of carbonate and fluoride in hydroxyapatite: Effect on substitution type and content. *Front Mater Sci*. 2015;9(2):192-8.
 40. Fernando D, Attik N, Pradelle-Plasse N, Jackson P, Grosogeat B, Colon P. Bioactive glass for dentin remineralization: A systematic review. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2017;76:1369-77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.083>
 41. Kim HJ, Jang JH, Woo SU, Choi KK, Kim SY, Ferracane JL, et al. Effect of novel bioactive glass-containing dentin adhesive on the permeability of demineralized dentin. *Materials* (Basel). 2021;14(18).
 42. Sohrabi M, Hesaraki S, Kazemzadeh A. The influence of polymeric component of bioactive glass-based nanocomposite paste on its rheological behaviors and in vitro responses: Hyaluronic acid versus sodium alginate. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2014;102(3):561-73.
 43. Rix M V., Baker M, Whiting MJ, Durman RP, Shatwell RA. An improved silicon carbide monofilament for the reinforcement of metal matrix composites. *Minerals, Metals and Materials Series*. 2017. 317-324 p.
 44. Kontonasaki E, Zorba T, Papadopoulou L, Pavlidou E, Chatzistavrou X, Paraskevopoulos K, et al. Hydroxy carbonate apatite formation on particulate bioglass in vitro as a function of time. *Cryst Res Technol*. 2002;37(11):1165-71.
 45. Ravarian R, Moztaizadeh F, Hashjin MS, Rabiee SM, Khoshakhlagh P, Tahriri M. Synthesis, characterization and bioactivity investigation of bioglass/hydroxyapatite composite. *Ceram Int*. 2010;36(1):291-7.