

Research Article

The Effect of Hydroxyapatite Filling from Chicken Eggshells in the Formulation of Brown Algae (*Sargassum sp.*) Extract on Setting Time

¹Kadek Ayu Wirayuni, ¹Tri Purnami Dewi, ¹Ria Koesoemawati, ²Pande Luh Gede Lenny Wulandari.

¹Prosthodontia Department, Faculty of Dentistry, Universitas Mahasaraswati Denpasar, Indonesia

²Undergraduate Program Faculty of Dentistry, Universitas Mahasaraswati Denpasar, Indonesia

Received date: Januari 24, 2024

Accepted date: February 24, 2024

Published date: August 1, 2024

KEYWORDS

Brown algae, hydroxyapatite, setting time



DOI : 10.46862/interdental.v20i2.8500

ABSTRACT

Introduction: Alginate is often chosen in the impression process because it's easy to use, has good accuracy, easy to modify, and is comfortable for the patient. Alginate's setting time can be manipulated by adding calcium phosphate or calcium sulfate. Hydroxyapatite (HA) is a calcium phosphate compound and member of the apatite group of minerals.

Material and Methods: The experimental design of this study was Post Test Only Control Group Design with 21 total samples and consisting of 3 treatment groups. Treatment groups P1 and P2 with hydroxyapatite filling as much as 5 g and 7 g. Positive control group using Aroma Fine Plus® fast setting impression material. Setting time is measured using a stopwatch.

Results and Discussions: The results showed that the average setting time produced by the KP, P1 and P2 groups respectively was 1 minute 13 seconds, 2 hours 1 minute 27 seconds, and 2 hours 45 minutes 2 seconds. Analysis with Shapiro-Wilk Test and Levene's Test showed that the data was normally distributed and homogeneous. Data analysis with One Way ANOVA test showed a significance of <0.05 , which means that there is a significant difference in the average setting time results. The Post Hoc LSD test showed a significance of <0.05 in all treatment groups indicating that there were significant differences between groups.

Conclusion: It can be concluded from the results of this study is that the hydroxyapatite filling of chicken egg shells in the brown algae extract formulation (*Sargassum sp.*) did not affect the setting time acceleration.

Corresponding Author:

Kadek Ayu Wirayuni
Prosthodontia Department, Faculty of Dentistry
Universitas Mahasaraswati Denpasar, Indonesia
Email: wirayuni_kadek@unmas.ac.id

How to cite this article: Wirayuni KA, Dewi TP, Koesoemawati R, Wulandari PLGL. (2024). The Effect of Hydroxyapatite Filling from Chicken Eggshells in the Formulation of Brown Algae (*Sargassum sp.*) Extract on Setting Time.. Interdental Jurnal Kedokteran Gigi 20(2), 256-60. DOI: 10.46862/interdental.v20i2.8500

Copyright: ©2024 Kadek Ayu Wirayuni This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License. Authors hold the copyright without restrictions and retain publishing rights without restrictions.

Pengisian Hidroksiapatit Cangkang Telur Ayam Pada Formulasi Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*) Terhadap Setting Time

ABSTRAK

Pendahuluan: Alginat menjadi bahan yang sering dipilih dalam proses pencetakan karena mudah digunakan, memiliki keakuratan yang baik, mudah dimodifikasi dan nyaman bagi pasien. *Setting time* alginat dapat dimanipulasi dengan menambahkan kalsium fosfat atau kalsium sulfat. Hidroksiapatit (HA) adalah senyawa kalsium fosfat dan anggota kelompok mineral apatit.

Bahan dan Metode: Rancangan eksperimental penelitian ini adalah *Post Test Only Control Group Design* dengan jumlah sampel 21 dan terdiri dari 3 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan P1 dan P2 dengan pengisian hidroksiapatit sebanyak 5 gr dan 7 gr. Kelompok kontrol positif dengan menggunakan bahan cetak Aroma Fine Plus® *fast setting*. *Setting time* diukur menggunakan *stop watch*.

Hasil dan Pembahasan: Hasil penelitian menunjukkan rata – rata *setting time* yang dihasilkan kelompok KP, P1 dan P2 secara berurutan adalah 1 menit 13 detik, 2 jam 1 menit 27 detik, dan 2 jam 45 menit 2 detik. Analisis dengan Uji Shapiro-Wilk dan Uji *Levene's Test* menunjukkan data terdistribusi normal dan homogeny. Analisis data dengan uji *One Way ANOVA* menunjukkan signifikansi $< 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan hasil rata – rata *setting time* yang signifikan. Uji *Post Hoc LSD* menunjukkan signifikansi < 0.05 pada semua kelompok perlakuan yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok.

Simpulan: Kesimpulan dari penelitian ini pengisian hidroksiapatit cangkang telur ayam pada formulasi ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) tidak mempengaruhi percepatan *setting time*.

KATA KUNCI: Alga coklat, hidroksiapatit, setting time

PENDAHULUAN

Alginat seringkali menjadi bahan pilihan untuk digunakan dalam proses pencetakan rongga mulut. Bahan ini tergolong dalam bahan cetak *irreversible hydrocolloid* sehingga jika dicampur dengan zat lain akan terjadi reaksi kimia, *alginate* tidak dapat kembali ke bentuk semula. Alginat dipilih karena mudah digunakan, memiliki keakuratan yang baik, mudah di modifikasi dan nyaman bagi pasien. Penggunaan bahan cetak dalam jumlah yang tepat akan menghasilkan cetakan rongga mulut yang akurat, salah satu faktor yang harus diperhatikan dalam penggunaan bahan cetak adalah waktu pengerasan (*setting time*). *Setting time alginate* dapat dimanipulasi dengan menambahkan kalsium fosfat atau kalsium sulfat atau dengan mengubah suhu air.

Bahan cetak memiliki komponen utama natrium *alginate*, yang merupakan polimer yang terdiri dari dua unit monomer asam mannuronat dan asam guluronate. Penambahan air pada natrium alginat membentuk sol natrium *alginate*, kalsium sulfat dapat ditambahkan ke larutan ini untuk bertindak sebagai reaktan. Natrium

alginat pada alam dapat ditemukan pada alga. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa salah satu sumber daya laut yang paling melimpah di Indonesia adalah alga yaitu sekitar 8,6%.¹ Alga cokelat adalah alga yang mengandung natrium *alginate* dan dapat dengan mudah ditemukan melimpah di Laut Indonesia. Alga cokelat yang berpotensi sebagai sumber penghasil *alginate* antara lain *Macrocystis sp*, *Turbinaria sp*, *Padina sp* dan *Sargassum sp.*²

Pada pembuatan bahan cetak *alginate*, penambahan akselerator penting karena dapat mengatur waktu yang dibutuhkan untuk manipulasi bahan. Hasil uji penelitian menunjukkan bahwa peningkatan persentase akselerator kalsium sulfat (CaSO_4) dan kalium titanium florida (K_2TiF_6) menyebabkan *setting time* bahan cetak alginat menjadi lebih cepat.³ Kalsium fosfat (CaP) adalah kelas mineral biologis penting yang ditemukan di jaringan keras alami, dalam kalsium fosfat ditemukan fase mineral dominan berupa hidroksiapatit (HA).⁴

Penambahan nano-filler seperti HA ke matriks natrium *alginate* telah dilaporkan meningkatkan pertumbuhan sel dalam aplikasi rekayasa jaringan tulang.⁴ Selain itu, kalsium yang terdapat pada HA memiliki

afinitas terhadap guluronik dari asam guluronik yang terdapat dalam *alginate* kemudian akan membentuk gel. Ca²⁺ pada HA berfungsi sebagai cross linker alginat yang saling terhubung satu sama lain.⁵

BAHAN DAN METODE

Alat yang digunakan pada penelitian ini, antara lain *stopwatch*, *bowl*, spatula, blender, *magnetic stirrer* (Terumo), *rotary evaporator* (Eyela), *ultrasonic cleaner* (Branson), oven (Binder), seperangkat alat refluks (Pyrex), *centrifuge* (EBA 20), pH meter, corong pisah, *breaker glass* (Pyrex), labu erlenmeyer (Pyrex), pipet ukur (Pyrex), labu ukur (Pyrex), petri disk, ayakan 60 mesh (Retsch), penyaring *Buchner*, kertas saring Whatmann Ashless, tanur, timbangan analitik (Ohaus), statif dan klem, dan *hotplate*. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Sargassum sp.*, CaCl₂ 1%, HCl 1%, Na₂CO₃ 4%, NaOCl 12%, HCl 5%, Ca₂CO₃ 10%, Isopropanol 95%, *diatomaceous earth*, *zinc oxide*, *trisodium phosphate*, natrium sulfat, cangkang telur ayam ras, asam nitrat 65%, diammonium hidrogenfosfat, ammonium hidroksida, akuabides, dan akuades.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris (*true-experiment*) dengan rancangan penelitian *post test only control group design*, yang dilakukan dengan menguji *setting time* dari pengisian hidroksiapatit cangkang telur ayam pada formulasi ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*). Populasi dari penelitian ini adalah ekstrak alga cokelat dengan sampel penelitian formulasi hidroksiapatit cangkang telur ayam yang ditambahkan ke dalam formulasi ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*). Sampel dibagi menjadi dua kelompok perlakuan yang dibedakan berdasarkan bobot dari hidroksiapatit dan kelompok control.

Alur penelitian dimulai dengan ekstraksi asam *alginate* dari alga cokelat (*Sargassum sp.*) yang selanjutnya dikonversi menjadi bubuk natrium *alginate*. Formula ekstrak alga cokelat dibuat dengan menambahkan *diatomaceous earth*, *trisodium phosphate*, *zinc oxide* dan natrium sulfat pada bubuk natrium *alginate*. Ekselektor dibuat dengan cangkang telur ayam ras yang pertama – tama perlu dilakukan isolasi kalsium dari kalsium karbonat

pada cangkang telur ayam. Tambahkan 100 ml larutan fosfat kedalam larutan kalsium setetes demi setetes selanjutnya dikeringkan menjadi hidroksiapatit. Campurkan formula dengan hidroksiapatit dan ukur *setting time* yang diperlukan.

Penelitian ini menggunakan *stop watch* untuk mengamati waktu yang diperlukan dari pengisian hidroksiapatit cangkang telur ayam pada formulasi ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) hingga *setting*.⁶ Lokasi dilakukannya penelitian ini di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Udayana pada bulan Januari 2022. Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini yaitu Uji *Shapiro-Wilk* dan Uji *Levene's Test* untuk mengetahui normalitas dari distribusi data dan homogenitas data. Selanjutnya uji dilanjutkan menggunakan uji parametrik yaitu Uji *One Way ANOVA* dan Uji *Post-Hoc LSD*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Rata – rata, nilai maksimum dan nilai minimum *setting time*

	Kelompok	Mean	Nilai Minimum	Nilai Maksimum
Setting Time	Hidroksiapatit 5 gr	02:01:27	01:58:57	02:04:02
	Hidroksiapatit 7 gr	02:45:02	02:39:14	02:50:44
	Aroma Fine Plus® Fast Setting	00:01:13	00:00:55	00:01:13

Secara deskriptis Tabel 1 menunjukkan bahwa rata-rata *setting time* yang dihasilkan oleh pengisian 5 gr hidroksiapatit cangkang telur ayam pada formulasi ekstrak alga cokelat adalah selama 2 jam 1 menit 27 detik dan pengisian 7 gr hidroksiapatit selama 2 jam 45 menit 2 detik.

Tabel 2. Hasil uji *Shapiro-Wilk*

Kelompok Perlakuan	Saphiro-Wilk		
	Statistik	df	Sig.
KP	0,890	7	0,273
P1	0,920	7	0,471
P2	0,912	7	0,412

Ket: df (derajat kebebasan), Sig. (signifikan), KP (Kontrol positif berupa bahan cetak *fast setting* Aroma Fine Plus®), P1 (Pengisian 5 gr hidroksiapatit cangkang telur ayam pada formulasi ekstrak alga cokelat *Sargassum sp.*), P2 (Pengisian 7 gr hidroksiapatit cangkang telur ayam pada formulasi ekstrak alga cokelat *Sargassum sp.*)

Berdasarkan hasil uji Shapiro-Wilk pada Tabel 2, diketahui seluruh data kelompok perlakuan memenuhi asumsi normalitas data sebab seluruh data perlakuan memiliki harga probabilitas atau Sig. lebih besar daripada 0,05. Pengujian selanjutnya menggunakan uji parametrik yaitu *one way ANOVA*.

Tabel 3. Hasil uji *Lavene's Test*

Variabel	Levene Statistik	Sig.	Keterangan
<i>Setting time</i>	3,288	0,061	Homogen

Berdasarkan hasil uji homogenitas data pada Tabel 3, diketahui nilai probabilitas atau Sig. seluruh data sebesar 0,061 yang berarti nilai probabilitas ini lebih besar dibandingkan tingkat signifikansi 0,05 dan dapat diartikan asumsi homogenitas terpenuhi.

Tabel 4. Hasil uji *One Way ANOVA*

Kelompok	Rerata <i>Setting Time</i>	F	Sig.
KP	00:01:13		
P1	02:01:27	1,797	0,000
P2	02:45:02		

Berdasarkan hasil uji statistik pada Tabel 4 yang dilakukan menggunakan uji *One Way Anova* terlihat Sig. = lebih kecil dari 0,05 dapat dinyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan rata – rata *setting time* yang dihasilkan dari pencampuran bahan cetak dari ekstrak alga cokelat dengan hidroksiapatit cangkang telur ayam 5gr dan 7 gr .

Tabel 5. Hasil Uji *Post Hoc (LSD)*

Kelompok	KP	P1	P2
KP	0,001	0,001	0,001
P1	0,001	0,001	0,001
P2	0,001	0,001	0,001

Berdasarkan hasil Tabel 5.5 uji *Post Hoc (LSD)* menunjukkan signifikansi <0,05 pada semua kelompok perlakuan yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok.

Berdasarkan hasil pengukuran *setting time* yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa pencampuran bahan cetak dari ekstrak alga cokelat dengan hidroksiapatit cangkang telur ayam tidak dapat mempercepat *setting*

time. Penelitian ini membuktikan bahwa semakin banyak komposisi hidroksiapatit cangkang telur ayam yang digunakan, maka *setting time* bahan cetak dari ekstrak alga cokelat akan semakin lambat. Dari *setting time* yang dihasilkan juga dapat disimpulkan bahwa kalsium pada hidroksiapatit cangkang telur ayam tidak dapat berperan sebagai akselerator pada bahan cetak dari ekstrak alga cokelat.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan mendapatkan hasil berupa *setting time* bahan cetak dari ekstrak alga cokelat *Sargassum sp.* paling cepat yang dapat dihasilkan selama 3,112 menit dengan menggunakan 17 gr kalsium sulfat sebagai akselerator.³ Kalsium sulfat akan bereaksi dengan fosfat pada trisodium fosfat terlebih dahulu hingga trisodium fosfat habis bereaksi, setelahnya kalsium sulfat yang tersisa akan bereaksi dengan natrium alginat sehingga didapatkan *setting time* yang dibutuhkan.⁷ Reaksi tersebut jika ditambahkan dengan kalsium fosfat, yang merupakan retarder akan meningkatkan *setting time*. Selain akselerator, jumlah retarder yang ditambahkan selama proses pembuatan bahan cetak akan mempengaruhi *setting time* yang dihasilkan.⁶

Hidroksiapatit (HA) merupakan salah satu biomaterial yang bersifat bioaktif untuk tulang. Sebagai material kimia HA adalah senyawa kalsium fosfat dan anggota kelompok mineral apatit.⁸ Pencampuran alginat dan hidroksiapatit sebelumnya digunakan sebagai bahan *bone graft* yang merupakan bahan yang dipakai untuk menggantikan atau memperbaiki kerusakan jaringan. Metode untuk melakukan pencampuran hidroksiapatit dengan *alginate*, yang sering digunakan adalah metode pencampuran sederhana, metode *in-situ*, metode *ex-situ*, dan modifikasi dari metode ekstraksi *freeze*. Pada dasarnya semua metode tersebut sama dalam hal mencampurkan hidroksiapatit dan *alginate*, yang membedakan adalah larutan yang digunakan dalam pencampuran, variasi suhu, variasi pengadukan dan variasi waktu yang dibutuhkan. Hasil yang diperoleh relatif berbeda karena teknik yang dilakukan berbeda.⁹

Penelitian yang telah dilakukan pada *bone graft* hidroksiapatit-alginat dengan metode *ex-situ* mendapatkan karakterisasi serapan hidroksiapatit dan alginat bahwa tidak terdapat gugus baru yang terbentuk pada ikatan ini,

hal ini dapat diartikan bahwa pencampuran ini hanyalah pencampuran fisik dimana tidak terjadi ikatan antara hidroksiapatit dan alginat. Hidroksiapatit termasuk senyawa kalsium fosfat yang merupakan kristal apatit yang paling stabil. Ikatan stabil yang dimiliki membuat hidroksiapatit sulit dan memerlukan waktu yang lama untuk membentuk ikatan dengan senyawa atau zat lain.⁹

Reaksi yang sama diaplikasikan pada bahan cetak dari ekstrak alga cokelat, hidroksiapatit yang dicampurkan pada sampel bahan cetak dari ekstrak alga cokelat memerlukan waktu yang cukup lama dalam membentuk ikatan dengan alginat pada bahan cetak sehingga menghasilkan *setting time* yang jauh lebih lambat. Metode pencampuran alginat pada bahan cetak dengan hidroksiapatit yang digunakan pada penelitian ini, yang menggunakan metode pencampuran sederhana, juga dapat mempengaruhi hasil yang didapatkan.⁹

Hasil penelitian dan analisis data yang menunjukkan peningkatan *setting time* yang signifikan, serta adanya penelitian – penelitian terkait yang mendukung hasil tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa pengisian hidroksiapatit cangkang telur ayam pada formulasi ekstrak alga coklat (*Sargassum sp.*) tidak mempengaruhi percepatan *setting time*.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pengaruh pengisian 5 gr dan 7 gr hidroksiapatit cangkang telur ayam pada formulasi ekstrak alga coklat (*Sargassum sp.*) tidak mempengaruhi percepatan *setting time*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hamrun N, Taufiq A, Arifin, Tahir D. Studies on Surface Morphology of Irreversible Hydrocolloid Impression Material Based on Brown Algae Type *Padina sp.* IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 2019; 515(1):1-7. Doi: 10.1088/1757-899X/515/1/012025
2. Hamrun N, Thalib B, Tahir D, Asmawati, Hamudeng AM, Akbar FH. Physical properties of irreversible hydrocolloid dental impression materials obtained from brown algae species *Padina sp.* Journal of Physics: Conference Series 2018; 1073(5):1-7. Doi: 10.1088/1742-6596/1073/5/052018
3. Thalib B, Hamrun N, Utama MD, Machmud M, Arpa S, Asmawati, Hasyim R, Thalib AM. The analysis of accelerator concentration effect on setting time and morphology surface impression materials made of brown algae *Sargassum sp.* Medicina Clinica Practica 2020; 3(S1): 1-4. Doi: 10.1016/j.mcpsp.2020.100105.
4. Adhikari, J, Perwez S, Das A, Saha P. Development of hydroxyapatite reinforced alginate – chitosan based printable biomaterial-ink. Nano-Structures & Nano-Objects 2021;25(1):100630. Doi: [10.1016/j.nanoso.2020.100630](https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2020.100630)
5. Cuzzo RC, Leão MHMR, Gobbo LDA, Rocha DN, Ayad, NME, Trindade W, Costa A, Silva MHP. Zinc alginate-hydroxyapatite composite microspheres for bone repair. Ceramics International 2014;40(7):11369-11375. Doi: [10.1016/j.ceramint.2014.02.107](https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.02.107)
6. Cervino G, Fiorillo L, Herford AS, Laino L, Troiano G, Amoroso G, Crimi S, Matarese M, D'Amico C, Siniscalchi EN, Cicciu M. Alginate materials and dental impression technique: A current state of the art and application to dental practice. Marine Drugs 2018;17(1):18. Doi: [10.3390/md17010018](https://doi.org/10.3390/md17010018)
7. Manappallil JJ. Basic Dental Material. 3rd ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2010
8. Noviyanti AR, Haryono H, Pandu R, Eddy DR. Cangkang Telur Ayam sebagai Sumber Kalsium dalam Pembuatan Hidroksiapatit untuk Aplikasi Graft Tulang. Chimica et Natura Acta 2017;5(3):107-111. Doi: <https://doi.org/10.24198/cna.v5.n3.16057>
9. Mayenata T. Sintesis dan Karakterisasi Bone Graft Hidroksiapatit-Alginat dengan Metode *Ex-situ*. Tesis. Surabaya: Universitas Airlangga; 2014.