

PELEPASAN *CHLORHEXIDINE GLUCONATE* 0.2% YANG TERMUAT DALAM PERANCAH SINTETIK: *CARBONATE HYDROXYAPATITE*

Release of 0.2% Chlorhexidine Gluconate Loaded at Synthetic Scaffold: Carbonate Hydroxyapatite

Dila Rahmanida

Mahasiswa Program Studi Kedokteran Gigi FKIK UMY

Abstract : Tissue regeneration is one of the most important goals in periodontal treatment. Carbonate Hydroxyapatite (CHA) is a synthetic scaffold that can help bone healing process after a periodontal treatment. One of the main problem that can cause a failure in periodontal surgery is bacterial reinfection. In this case, bacterial control and bacterial elimination are very important. Chlorhexidine (CHX) is a broad-spectrum antimicrobial that works as an antiseptic that effectively kills various types of microbes including bacteria, fungi and virus. The combination of CHA membranes with antimicrobial CHX is expected to reduce the reinfection of periodontal treatment caused by microbes. Therefore, research on the potential of CHA in loading and release CHX needs to be done. The aim of this study is to find out the ability of Carbonate Hydroxyapatite scaffold to release antimicrobials, especially Chlorhexidine gluconate.

Keywords: Carbonate hydroxyapatite, Chlorhexidine, Release, Degradation, Delivery System, Periodontal Application

Abstrak : Regenerasi jaringan periodontal yang hilang merupakan salah satu tujuan perawatan periodontal. *Carbonate Hidroksiapatit (CHA)* merupakan salah satu perancah sintetik atau buatan manusia yang memiliki kemampuan dalam membantu proses penyembuhan tulang pasca operasi periodontal. Reinfeksi bakteri merupakan salah satu permasalahan utama penyebab gagalnya perawatan bedah periodontal, sehingga kontrol bakteri dan eliminasi bakteri sangat penting dilakukan. *Chlorhexidine (CHX)* merupakan antimikroba spektrum luas yang bekerja sebagai antiseptik yang efektif membunuh berbagai jenis mikroba, termasuk bakteri, jamur dan virus. Kombinasi antara membran CHA dengan antimikroba CHX diharapkan dapat meningkatkan keberhasilan perawatan bedah periodontal dan mencegah reinfeksi pasca perawatan. Oleh sebab itu, penelitian mengenai potensi CHA dalam memuat dan melepas CHX perlu dilakukan. Penelitian ini ingin mengetahui kemampuan perancah *Carbonate Hydroxyapatite* dalam melepas antimikroba, khususnya *Chlorhexidine gluconate* yang telah termuat.

Kata kunci : Carbonate Hydroxyapatite, Chlorhexidine, Pelepasan, Degradasi, Sistem Penghantar, Aplikasi Periodontal

PENDAHULUAN

Terapi korektif untuk memperbaiki deformitas anatomi yang diakibatkan oleh penyakit periodontitis sangat diperlukan. Lebih dari sekedar memperbaiki penampilan secara estetik, regenerasi tulang diharapkan dapat mengembalikan keadaan dan fungsi tulang yang telah mengalami defek menjadi normal kembali. Regenerasi jaringan periodontal yang hilang merupakan salah satu tujuan perawatan periodontal. Perawatan periodontal konvensional seperti skeling dan *root planing* belum dapat mendukung terjadinya regenerasi tulang periodontal yang hilang, sehingga diperlukan perawatan bedah regeneratif jaringan periodontal (Reynolds, *et al.*, 2010)

Terapi cangkok untuk merestorasi kerusakan tulang alveolaris telah dilaporkan sebagai metode transplantasi atau pengisi ruang tulang yang hilang akibat penyakit periodontal (Hartati, 2009). Menurut *North Americana Spine Society*, cangkok tulang merupakan pemindahan jaringan tulang dari suatu area ke area lain untuk membantu penyembuhan, penguat ataupun peningkatan fungsi dari tulang yang ditransplantasi tersebut. Material *bone graft* atau perancah dapat berasal dari diri sendiri, dari tubuh orang lain (pendonor), hewan ataupun bersumber dari perancah buatan manusia (sintetik). Hidroksiapatit merupakan salah satu perancah sintetik atau buatan manusia. Material ini telah banyak

dilaporkan sebagai perancah yang biokompatibel, memacu proses osteokonduksi dan dapat diserap oleh tubuh (Valiense, *et al.*, 2011).

Kegagalan tindakan regenerasi tulang dapat disebabkan oleh infeksi lokal dan inflamasi jaringan oleh bakteri. Reinfeksi dari bakteri patogen menjadi penyebab umum gagalnya perawatan, hingga dapat menimbulkan perkembangan penyakit baru, sehingga kontrol bakteri dan eliminasi bakteri sangat penting dilakukan. Penggunaan terapi antimikroba baik secara lokal maupun sistemik dalam perawatan periodontal luas digunakan sebagai terapi tambahan untuk mencegah pertumbuhan dan perkembangan bakteri patogen (Lovegrove, 2004). *Chlorhexidine* merupakan agen bakterisidal yang mampu membunuh semua jenis mikroba termasuk bakteri, virus dan jamur. Keunggulan antimikroba ini dibandingkan dengan antimikroba lain diantaranya sifatnya yang aman digunakan dan tidak menyebabkan berkembangnya mikroorganisme resisten. *Chlorhexidine* banyak digunakan dalam terapi jaringan periodontal termasuk dalam tindakan regenerasi tulang (Kaplowitz, *et al.*, 2005).

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti ingin mengetahui kemampuan dari perancah sintetik *Carbonate hydroxyapatite (CHA)* dalam melepas obat (*release of drugs*) berupa *Chlorhexidine gluconate* yang berkaitan dengan system penghantaran obat (*drug delivery system*). Penambahan antimikroba

berupa *Chlorhexidine gluconate* ke dalam perancah tersebut diharapkan dapat meningkatkan keberhasilan perawatan cangkok tulang periodontal.

METODE

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratoris *in vitro*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY. Populasi dan sampel dalam penelitian ini adalah *Chlorhexidine gluconate* 0.2 % (CHX) dan *Carbonate hydroxyapatite* (CHA).

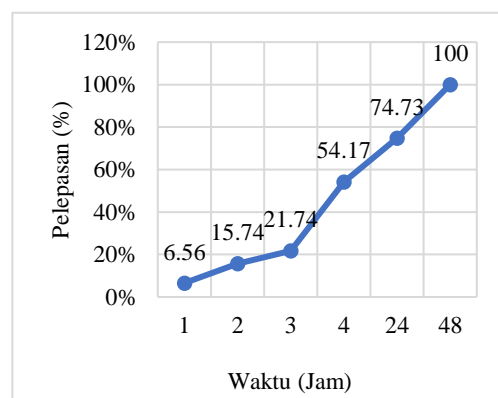
Membran CHA ditimbang dengan berat masing-masing 10 mg. Selanjutnya dilakukan pemuatan membran kedalam CHX 0.2% selama 30 menit. Membran kemudian diambil dan dimasukkan kedalam larutan PBS yang telah dimasukkan dalam microtube masing-masing sebanyak 2 ml untuk dilihat profil pelepasannya. Sampel dimasukkan kedalam incubator dengan suhu 37° C. Waktu perlakuan dibagi kedalam 5 kelompok waktu pelepasan yaitu; 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam dan 24 jam. Setiap kelompok dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat. Selanjutnya dilakukan pengukuran nilai absorbansi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan Panjang gelombang 255 nm untuk mengetahui nilai pelepasan CHX pada CHA.

Profil degradasi membran CHA juga diamati dengan merendam membran CHA ke dalam larutan PBS. Dalam interval waktu 1 jam, 2 jam, 3 jam, 6 jam, 24 jam, 48 jam dan 72 jam,

larutan PBS diganti dengan larutan PBS baru. Setelah 72 jam, larutan PBS diganti larutan asam kuat berupa HCL. Larutan PBS hasil perendaman diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan Panjang gelombang 255 nm untuk mengetahui nilai degradasi membran CHA.

HASIL PENELITIAN

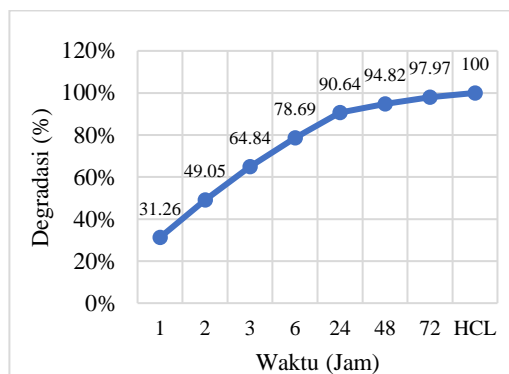
Grafik profil pelepasan CHX pada CHA menunjukkan terjadinya pelepasan pada setiap interval waktu. peningkatan nilai absorbansi CHX yang terlepas berbanding lurus dengan lama waktu pelepasan CHX pada membran CHA. Dalam waktu 1 jam hingga 4 jam, absorbansi mengalami peningkatan konsisten. Pada waktu pelepasan 24 jam, nilai absorbansinya menurun yaitu sebesar 1.313 abs dibandingkan nilai absorbansi pada waktu pelepasan 4 jam yaitu sebesar 1.471 abs. Namun demikian, angka tersebut tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Nilai absorbansi terbesar didapatkan pada waktu 48 jam yaitu sebesar 1.613 abs. Nilai rerata absorbansi diubah kedalam prosentase pelepasan dan didapatkan grafik sebagai berikut;



Grafik 1. Prosentase pelepasan Chlorhexidine

Dari grafik tersebut didapatkan hasil yaitu Chlorhexidine (CHX) yang termuat dalam membran CHA mengalami pelepasan berkelanjutan. Grafik pelepasan CHX terus mengalami peningkatan dan CHX masih terilis hingga 48 jam. Hasil uji statistik *One Way Anova*, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p \leq 0.05$). Nilai sig $p \leq 0.05$ menandakan ada perbedaan yang signifikan antar kelompok tersebut. Artinya, terdapat perbedaan jumlah CHX yang terlepas dari tiap waktu.

Profil degradasi membran CHA dilihat dari nilai absorbansi membran CHA yang direndam dalam *Phosphate Buffer Saline* (PBS) selama 1 jam, 2 jam, 3 jam, 6 jam, 24 jam, 48 jam hingga 72 jam. Pada masing-masing waktu tersebut, larutan PBS diganti dengan larutan baru, dan larutan PBS diukur nilai absorbansinya. Setelah 72 jam, larutan PBS diganti dengan asam kuat HCL. Data rerata nilai absorbansi tersebut diubah dalam bentuk grafik, dan didapatkan grafik sebagai berikut:



Grafik 2. Prosentase degradasi Chlorhexidine

Pada grafik 2, didapatkan informasi yang menunjukkan adanya degradasi yang berlangsung cukup signifikan pada tiap waktu. Dalam waktu 2 jam, hampir 50% membran CHA terdegradasi. Dalam waktu yang sama, 15.74% CHX terilis dari membran CHA ini.

Dari hasil uji statistik, didapatkan hasil signifikansi $p \leq 0.05$. Artinya H_0 ditolak, dimana terdapat perbedaan jumlah nilai degradasi dari tiap waktu.

Prosentase pelepasan Chlorhexidine dari membran CHA pada tiap waktu yang diikuti dengan degradasi membrane CHX tersebut. Hampir 50% membran terdegradasi dalam waktu 2 jam, disaat yang bersamaan, sebanyak 15.74% CHX terlepas dari membrane tersebut.

PEMBAHASAN

Berdasarkan uji statistik terhadap hasil penelitian, didapatkan informasi bahwa CHX mengalami pelepasan

berkelanjutan dan terjadi peningkatan jumlah CHX yang terlepas seiring dengan lama waktu pelepasan. Pada grafik 1 terlihat bahwa peningkatan nilai absorbansi CHX yang terlepas berbanding lurus dengan lama waktu pelepasan CHX pada membran CHA. Dalam waktu 1 jam hingga 4 jam, absorbansi mengalami peningkatan konsisten. Pada waktu pelepasan 24 jam, nilai absorbansinya menurun yaitu sebesar 1.313 abs dibandingkan nilai absorbansi pada waktu pelepasan 4 jam yaitu sebesar 1.471 abs. Namun demikian, angka tersebut tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Nilai absorbansi terbesar didapatkan pada waktu 48 jam yaitu sebesar 1.613 abs.

Terdapat kesesuaian hasil penelitian ini dengan penelitian yang dilakukan oleh Shubhra Malik, dkk. (2015), pada penelitian tersebut didapatkan informasi bahwa pelepasan CHX tanpa menggunakan membran penghantar mengalami pelepasan lebih cepat yaitu hampir 100% dalam 4 jam, sedangkan pada pelepasan CHX menggunakan membran penghantar berupa Chitosan, hanya 59% dari CHX yang terlepas. Grafik 2 menunjukkan prosentase pelepasan CHX terhadap waktu. Dalam 1 jam pertama, hanya 6.56% CHX terlepas dari membran. Dalam waktu 4 jam, tidak lebih dari 60% CHX terlepas dari membran. Hal ini menunjukkan bahwa membran CHA dapat memberikan pelepasan

secara berkelanjutan bagi *Chlorhexidine*.

Dalam penelitian Dinaryand et al., (2005) dijelaskan bahwa tingkat pembengkakan ditentukan oleh jumlah ikatan silang antara molekul gelatin, dimana semakin padatan jembatan ikatan silang antara molekul gelatin, maka semakin padat pula strukturnya. Berkaitan dengan pelepasan obat oleh membrane CHA, penelitian tersebut menyebutkan bahwa pembengkakan mikrosfer yang terjadi dapat mempengaruhi mobilitas rantai gelatin, sehingga dapat memfasilitasi pelepasan obat dengan difusi melalui polimer. Sehingga pelepasan obat dapat dikendalikan oleh membrane gelatin tergantung komposisi glutaraldehid dalam gelatin yang bertanggung jawab dalam pembentukan ikatan silang.

Prosentase pelepasan maupun degradasi membrane CHA juga dapat dipengaruhi oleh perbandingan Gelatin dengan Hidroksiapatit yang menjadi bahan dasar pembuatan membran. Menurut penelitian Nindyasari, et al. (2014), perancah dengan berbagai variasi konsentrasi gelatin akan berpengaruh pada struktur porositas hydrogel, dimana semakin kecil konsentrasi gelatin, akan meningkatkan porositas hydrogel yang berpengaruh pada perlekatan sel-sel disekitarnya, dalam penelitian tersebut sel *platelete rich plasma*.

Uji statistik terhadap profil degradasi membran CHA menunjukkan bahwa membran CHA mengalami degradasi dengan perbedaan hasil yang signifikan di tiap kelompok waktu. Dalam waktu 2 jam, 49.05% membran CHA mampu terdegradasi dan sebanyak 97.97% membran CHA mampu terdegradasi dalam waktu 72 jam. Seperti yang telah dipaparkan pada Grafik 5, dalam waktu 2 jam, sebanyak 15.74% CHX juga mengalami pelepasan dari membran CHA. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Retno Ardhani, dkk. (2015) dimana penelitian tersebut juga menggunakan membran Karbonat Apatit dengan berat 10 mg yang dikembangkan oleh tim peneliti rekayasa jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Didapatkan informasi bahwa membran CHA selain didesain sebagai perancah pada proses regenerasi jaringan periodontal, juga dapat berfungsi sebagai membran penghantar (*delivery system*).

Dari seluruh uji statistik pada profil pelepasan CHX dan profil degradasi membran CHA pada penelitian ini, menunjukkan terjadinya pelepasan *Chlorhexidine gluconate* (CHX) oleh membran *Carbonate hydroxyapatite* (CHA). Disaat yang bersamaan, pelepasan CHX diikuti pula dengan degradasi membran CHA. Membran CHA tidak hanya dapat digunakan sebagai sistem penghantar (*delivery system*), namun

juga bersifat *biodegradable* yang dapat digunakan secara aman dan tidak berbahaya bagi jaringan tubuh. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa membran CHA mampu melepas CHX secara berkelanjutan, sehingga berpotensi digunakan sebagai drug delivery membran.

Berdasarkan pembahasan tersebut, menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai dengan hipotesis dalam penelitian ini, yaitu *Carbonate hydroxyapatit* (CHA) mampu melepaskan *Chlorhexidine gluconate* (CHX) yang termuat dalam perancah sintetik tersebut.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan, didapatkan kesimpulan sebagai berikut;

1. Membran *Carbonate hydroxyapatit* (CHA) berpotensi melepaskan (*release*) *Chlorhexidine gluconate* (CHX) yang termuat dalam perancah sintetik tersebut.
2. Membran *Carbonate hydroxyapatit* (CHA) mengalami degradasi, sehingga aman bagi tubuh dan dapat digunakan sebagai *drug delivery system* bagi CHX dan berkolaborasi dengan CHX dalam perawatan penyakit periodontal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aguilar, Z. (2012). *Nanomaterials for medical applications*. Newnes.
2. Ardhani, R., Hafiyah, O. A., & Ana, I. D. (2016). Preparation of Carbonated Apatite Membrane as Metronidazole Delivery System for Periodontal Application. In *Key Engineering Materials* (Vol. 696, pp. 250-258). Trans Tech Publications.
3. Axelsson, P. (2002). *Diagnosis and risk prediction of periodontal diseases*. Quintessence Publishing Company.
4. Balagopal, S., & Arjunker, R. (2013). Chlorhexidine: The gold standard antiplaque agent. *Journal of Pharmaceutical sciences and Research*, 5(12), 270.
5. Bauer, T. W., & Muschler, G. F. (2000). Bone graft materials: an overview of the basic science. *Clinical Orthopaedics and Related Research*®, 371, 10-27.
6. Bloom, F., & Fawcett, D. W. (2002). Buku ajar histologi. Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC.
7. Bergman, R. A., Afifi, A. K., & Heidger, P. M. (1989). *Atlas of Microscopic Anatomy: A Functional Approach Companion to Histology and Neuroanatomy*. WB Saunders Company.
8. Dinarvand, R., Mahmoodi, S., Farboud, E., Salehi, M., & Atyabi, F. (2005). Preparation of gelatin microspheres containing lactic acid—Effect of cross-linking on drug release. *Acta pharm*, 55(1), 57-67.
9. Newman, M. G., Takei, H., Klokkevold, P. R., & Carranza, F. A. (2011). *Carranza's clinical periodontology*. Elsevier health sciences.
10. Geuli, O., Metoki, N., Zada, T., Reches, M., Eliaz, N., & Mandler, D. (2017). Synthesis, coating, and drug-release of hydroxyapatite nanoparticles loaded with antibiotics. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(38), 7819-7830.
11. Gomes, B. P., Vianna, M. E., Zaia, A. A., Almeida, J. F. A., Souza-Filho, F. J., & Ferraz, C. C. (2013). Chlorhexidine in endodontics. *Brazilian dental journal*, 24(2), 89-102.
12. Hassan, B. R. (2012). Overview on drug delivery system. *Pharm. Anal. Acta*, 3(10), 4172.
13. Jones, C. G. (1997). Chlorhexidine: is it still the gold standard?. *Periodontology* 2000, 15(1), 55-62
14. Junqueira, L. C., Carneiro, J., & Kelley, R. O. (1997). *Histologi Dasar Edisi Kedelapan*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC

15. Kaplowitz, G. J., & Cortell, M. (2005). Chlorhexidine: a multi-functional antimicrobial drug. *Peer reviewed publication. The Academy of Dental Therapeutics and Stomatology*.
16. Lovegrove, J. M. (2004). Dental plaque revisited: bacteria associated with periodontal disease. *Journal of the New Zealand Society of Periodontology*, (87), 7-21.
17. Malik, S., Taneja, S., Chadha, R., & Kumari, M. (2016). Effect of Chitosan on sustained release of chlorhexidine-an in vitro study. *Journal of Dental Specialities*, 4(1), 21-25.
18. Merry, J. C., Gibson, I. R., Best, S. M., & Bonfield, W. (1998). Synthesis and characterization of carbonate hydroxyapatite. *Journal of materials science: Materials in medicine*, 9(12), 779-783.
19. Ten Cate, A. R. (1998). Oral histology: development, structure and function. St. Louis: Mosby-Year Book.
20. Nicholson, J. W. (2002). *The chemistry of medical and dental materials* (Vol. 3). Royal Society of Chemistry.
21. Nindiyasari, F., Fernandez-Diaz, L., Griesshaber, E., Astilleros, J. M., Sanchez-Pastor, N., & Schmahl, W. W. (2014). Influence of gelatin hydrogel porosity on the crystallization of CaCO₃. *Crystal Growth & Design*, 14(4), 1531-1542.
22. O'brien, F. J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials today*, 14(3), 88-95.
23. Perrie, Y., & Rades, T. (2012). *FASTtrack Pharmaceuticals: Drug Delivery and Targeting*. Pharmaceutical press.
24. Prasanna, S. V., & Lakshamanan, R. (2016). Characteristics, uses and side effect of chlorhexidine: a review. *J Dent Med Sci*, 15(6), 57-59.
25. Reynolds, M. A., Aichelmann-Reidy, M. E., & Branch-Mays, G. L. (2010). Regeneration of periodontal tissue: bone replacement grafts. *Dental Clinics*, 54(1), 55-71.
26. Sculean, A., & Sculean, A. (2010). Periodontal regenerative therapy.
27. Suproyo, H. (2009). Penatalaksanaan penyakit jaringan periodontal. *Yogyakarta: Kanwa Publisher*.
28. Valiense, H., Fernandes, G. V. D. O., Moura, B., Calasans-Maia, J., Alves, A. T. N. N., Rossi, A. M., ... & Calasans-Maia, M. (2012). Effect of Carbonate-apatite on bone repair in non-critical size defect of rat calvaria. In *Key Engineering Materials* (Vol. 493, pp. 258-262). Trans Tech Publications.
29. Wacharanad, S., Sasimomthon, W., Wongyai, P., Vudhivanich, A., & Tippawan, K. (2016). Activity of Chlorhexidine Gluconate Loaded at Varying Polyelectrolyte Multilayers

- against *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*.
In *MATEC Web of Conferences* (Vol. 77, p. 11003). EDP Sciences.
30. Wilson, T. G., & Kornman, K. S. 2003. *Fundamental of Periodontics*. Hong Kong: Quintessence Publishing Co, Inc.
31. Wolf, H. F. (2005). *Color atlas of dental medicine periodontology*. New York: Thieme, 2005.
32. Zilberman, M., & Elsner, J. J. (2008). Antibiotic-eluting medical devices for various applications. *Journal of Controlled Release*, 130(3), 202-21

Dila Rahmanida | Pelepasan *Chlorhexidine Gluconate* 0.2% yang Termuat dalam Perancah Sintetik: *Carbonate Hydroxyapatite*

Dila Rahmanida | Pelepasan *Chlorhexidine Gluconate* 0.2% yang Termuat dalam Perancah Sintetik: *Carbonate Hydroxyapatite*

Dila Rahmanida | Pelepasan *Chlorhexidine Gluconate* 0.2% yang Termuat dalam Perancah Sintetik: *Carbonate Hydroxyapatite*

Dila Rahmanida | Pelepasan *Chlorhexidine Gluconate* 0.2% yang Termuat dalam Perancah Sintetik: *Carbonate Hydroxyapatite*