

## **Clustering mikrokapsul silika-chlorhexidine 2% menggunakan kitosan dan sodium alginat**

**Denny Nurdin**

Bagian Konservasi  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas padjadjaran

**Angga Hudaya**

Laboratorium Proses material Teknik Fisika  
Fakultas Teknologi Industri Institut Tehnologi Bandung

**Bambang Sunendar**

Laboratorium Proses material Teknik Fisika  
Fakultas Teknologi Industri Institut Tehnologi Bandung

### **Abstrak**

Enterococcus faecalis merupakan bakteri penyebab utama persistensi infeksi saluran akar. Bakteri ini memiliki kemampuan menginvasi tubuli dentin sehingga menyebabkan sulitnya penetrasi obat saluran akar untuk mengeliminasi. Tubulus dentin berukuran sangat kecil antara 1-3 $\mu$ m. Mikroenkapsulasi obat saluran akar dengan ukuran kurang dari 1 $\mu$ m diharapkan menjadi jalan keluar untuk mengatasi masalah ini. Pada penelitian ini digunakan sodium silikat sebagai prekursor dan chlorohexidine 2% sebagai obat saluran akar yang dienkapsulasi. Metode yang digunakan adalah sol gel dengan proses stober. Clustering menggunakan bahan kitosan dan alginat dilakukan untuk mengenkapsulasi chlorhexidine 2% dalam jumlah yang lebih banyak. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan mikrokapsul silika dengan senyawa aktif chlorhexidine 2% yang berukuran kurang dari 1  $\mu$ m secara homogen dengan chlorhexidine 2% yang terenkapsulasi dalam jumlah yang lebih banyak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa urutan dan komposisi kitosan-alginat sangat berpengaruh terhadap pembentukan cluster, hasil terbaik pembentukan cluster didapatkan pada komposisi kitosan 2% sebanyak 6% volume dan alginat 0.5 M sebanyak 2% volume, dengan rata-rata ukuran cluster 0.7  $\mu$ m

**Kata kunci:** Clustering, Mikroenkapsulasi

### **Korespondensi:**

**Denny Nurdin**

Bagian Konservasi  
Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas padjadjaran  
Jl. Sekeloa Selatan No. 1  
Bandung 40132 Indonesia

## **Clustering silica-chlorhexidine 2% microcapsules using chitosan and sodium alginate**

### **Abstract**

*Enterococcus faecalis* is a leading cause of persistent bacterial infection of the root canal. These bacteria have the ability to invade dentinal tubule penetration making it difficult to eliminate root canal medications. Dentinal tubules are so small between 1-3 $\mu$ m. Microencapsulation of the root canal medicament with a size less than 1 $\mu$ m is expected to be the way out to solve this problem. In this study used sodium silicate as a precursor and chlorhexidine 2% as a root canal the encapsulated drug. The method used is the sol gel Stober process. Clustering using chitosan and alginate materials made to microencapsulation chlorhexidine 2% in higher numbers. The purpose of this study was to obtain silica microcapsules with chlorhexidine 2% of active compound which is less than 1  $\mu$ m homogeneously with chlorhexidine 2% of the active compound is encapsulated in greater numbers. The results showed that the sequence and composition of the chitosan-alginate affects the formation of clusters, the best results obtained on the composition of the cluster formation of chitosan 2% as much as 6% volume and 0.5 M alginate 2% volume, with an average cluster size of 0.7  $\mu$ m

**Key words:** Clustering, Microencapsulation

### **Pendahuluan**

*Enterococcus faecalis* merupakan bakteri yang biasa ditemukan dalam saluran akar gigi dan tetap bertahan di dalamnya meskipun telah dilakukan perawatan. Bakteri ini bertanggungjawab terhadap 80-90% infeksi saluran akar yang biasanya merupakan satu-satunya spesies *Enterococcus* yang diisolasi dari saluran akar yang telah selesai dilakukan perawatan.<sup>1</sup>

*Enterococcus faecalis* memiliki kemampuan untuk menginvasi tubulus dentin, dimana tidak semua bakteri memiliki kemampuan tersebut. Tubulus dentin berukuran sangat kecil yaitu antara 1-3 $\mu$ m,

sehingga menyebabkan sulitnya penetrasi obat saluran akar untuk mengeliminasinya.

Chlorhexidine 2% telah direkomendasikan sebagai obat saluran akar, biasa digunakan untuk membunuh kuman, bakteri, ataupun jamur. Pada pH 5,5-7,0 chlorhexidine akan berikatan dengan muatan negatif pada dinding sel bakteri. Chlorhexidine dengan konsentrasi rendah akan menyebabkan perubahan keseimbangan tekanan osmosis pada sel bakteri dan menyebabkan kebocoran kalium dan fosfor, sedangkan pada konsentrasi tinggi, chlorhexidine akan menyebabkan isi sitoplasma dari sel bakteri mengendap dan pada akhirnya menyebabkan kematian sel.<sup>2,3</sup>

Terdapat beberapa persyaratan yang harus dimiliki oleh obat saluran akar, salah satunya adalah bahwa obat saluran akar harus tetap stabil dalam larutan dan tetap aktif meskipun terdapat darah, serum dan derivat protein jaringan.<sup>4</sup> Berdasarkan hal tersebut diperlukan upaya untuk melindungi obat saluran akar dari pengaruh lingkungannya. Mikroenkapsulasi merupakan suatu usaha untuk melindungi obat dari pengaruh lingkungannya dan berfungsi untuk mengatur pelepasan obat melalui mekanisme *controlled release*. Teknologi *Drug Delivery System* (DDS) menjadi pasar yang berkembang di dunia saat ini.

Dalam proses enkapsulasi terjadi pembentukan lapisan luar (penyalutan) seluruh dinding kapsul dengan menggunakan material pelindung. Dikarenakan fungsinya sebagai pelindung, maka diharapkan tidak adanya interkasi antara inti dengan lapisan penyalut, dan enkapsulasi sendiri akan melindungi inti dari kondisi lingkungan, meningkatkan stabilitas, memperpanjang umur inti, dan mengatur laju pelepasan zat aktif.<sup>5</sup> Proses *clustering* didasarkan atas fenomena terbentuknya batu ginjal yang terjadi di dalam tubuh manusia, yang disebabkan oleh urin yang bersifat jenuh dan garam-garam pembentuknya seperti kalsium oksalat dan asam urat yang berikatan dengan *Hyaluronic Acid* (HA) dan tidak dapat diekskresikan melalui urin.<sup>6</sup>

Pada proses terbentuknya batu ginjal, HA berperan dalam menentukan konsentrasi urin, menghambat kristalisasi, dan penyimpan kristal.<sup>7</sup> Dilakukan analisis terhadap HA mengenai sifat-sifat dan gugus aktif yang bekerja pada saat proses *clustering*, yaitu gugus carboxyl (C-O-OH), hydroxyl (C-OH), dan amina (N-H<sub>2</sub>). Pada penelitian ini sebagai material *clustering* tidak digunakan *Hyaluronic Acid* (HA) tetapi digunakan material lain yang memiliki sifat dan gugus aktif yang sama, sedangkan untuk pembentuk mikrokapsul digunakan

silika karena silika memiliki struktur berpori sehingga dapat dimasukan zat aktif dan sangat cocok untuk dijadikan material DDS.<sup>8</sup> Silika juga memiliki sifat *biocompatible*, *biodegradable*, dan *nontoxic* sehingga aman digunakan.<sup>8,9</sup>

Kitosan adalah polisakarida yang didapatkan dari penghilangan asetil (*deacetylation*) material kitin, yaitu suatu material biopolimer terbanyak ke 2 di alam setelah selulosa. Kitin merupakan material yang biasa terdapat pada hewan berangka luar seperti kelas *arthropoda*, *crustacea*, serangga dan *mollusca*.<sup>10</sup> Berbagai kelebihan yang dimiliki kitosan membuat kitosan ini banyak digunakan di dunia medis. Bahan ini bersifat *biocompatible* dan *biodegradable* serta tersedia di alam dalam jumlah yang melimpah.<sup>11</sup> Pada kitosan, rantai yang rentan bereaksi adalah gugus bebas amina dan gugus hidroksil. Pada kondisi tertentu berbagai jenis reaksi dapat ditimbulkan dengan memodifikasi gugus amina.

Alginat adalah salah satu biopolimer yang paling sesuai untuk aplikasi mikrokapsul, komposisi dan strukturnya memiliki fungsi dan peran yang sesuai sebagai material enkapsulasi.<sup>12</sup> Pada alginat rantai yang rentan bereaksi adalah gugus aktif karboksil, sehingga dengan adanya alginat dan kitosan maka didapatkan gugus aktif dan sifat yang dimiliki hyaluronan. Di pasaran alginat banyak tersedia dalam bentuk sodium alginat Terdapat dua cara untuk menghasilkan nanomaterial, yaitu top down dan bottom up. *Top down*, yaitu memecah material yang besar hingga terbentuk material yang berukuran kecil menggunakan gaya mekanik, reaksi kimia, ataupun energi lainnya. Sedangkan *bottom up* merupakan sintesis dari bentuk atom atau molekul dengan menggunakan reaksi kimia hingga berbentuk ukuran nano.<sup>13</sup> Pada penelitian ini digunakan metode bottom up dengan proses sol-gel. Proses sol-gel dideskripsikan sebagai pembentukan ikatan oksida melalui

reaksi polikondensasi molekul prekursor dalam media cairan. Pada umumnya proses sol melibatkan transisi fase liquid sol menjadi fase solid gel.<sup>14</sup> Salah satu metode sol gel adalah proses stober. Proses stober pertama kali ditemukan oleh Werner Stober pada tahun 1968. Proses stober digunakan untuk mendapatkan partikel silika yang terdispersi secara merata. Proses stober didapatkan dari reaksi kimia prekursor silika dengan larutan alkohol dan air dengan katalis basa.<sup>15</sup>

Pengaturan porositas dari mikrokapsul akan membuat difusi dari senyawa aktif yang dienkapsulasi dapat dikontrol.<sup>16</sup> Dalam penelitian ini akan dilakukan sintesis mikrokapsul silika dengan senyawa aktif chlorhexidine 2% yang berukuran kurang dari 1 $\mu$ m dan *clustering* dari beberapa mikrokapsul yang terbentuk dengan menggunakan kitosan dan sodium alginat, sebagai upaya untuk meng*entrapment* senyawa aktif dalam jumlah yang lebih banyak, tetapi hasil *clustering* tersebut tetap berukuran kurang dari 1 $\mu$ m.

## Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang dilakukan di Lab Proses Material Jurusan Teknik Fisika Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Bandung. Digunakan beberapa sampel yang dibedakan berdasarkan pada komposisi kitosan dan alginat. Prosedur yang digunakan adalah solgel dengan proses Stober.

### A. Pembuatan Prekursor

Prekursor yang digunakan adalah sodium silikat 0,5 M. Prekursor didapat dari sodium silikat cair yang dilarutkan dalam air destilasi hingga konsentrasinya 0,5 M. Selanjutnya larutan tersebut diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit.

### B. Pembuatan Larutan Stober

Sebagai pelarut digunakan ethanol

sebanyak 150 ml. Air destilasi sebanyak 15 ml dan ammonia 25% sebanyak 3 ml ditambahkan ke dalam ethanol yang sudah disiapkan. Ammonia yang ditambahkan berperan sebagai katalis. Setelah semua larutan tercampur, ditambahkan sedikit demi sedikit sodium silikat sebanyak 9 ml.

### C. Sintesis Mikrokapsul Silika

Setelah prekursor dan larutan Stober tercampur, dilakukan emulsifikasi menggunakan *ultra turrax* dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Dalam kondisi emulsifikasi kitosan 1% ditambahkan sebanyak 0,7% dari volume total larutan. Selanjutnya dilakukan homogenasi menggunakan *ultrasonic homogenizer* selama 15 menit. Setelah homogenisasi selesai selanjutnya dilakukan proses pengeringan dengan cara divacuum menggunakan mesin vacuum sampai didapatkan serbuk mikrokapsul silika kering. Serbuk mikrokapsul silika yang telah kering direndam dalam chlorhexidine 2% selama 24 jam sehingga memungkinkan chlorhexidine masuk dan terperangkap di dalam mikrokapsul silika tersebut. Setelah 24 jam mikrokapsul silika kembali dikeringkan dengan cara divacuum menggunakan mesin vacuum. Hasil yang didapat dilakukan karakterisasi *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk mengetahui morfologi silika yang didapat.

### D. Enkapsulasi Mikrokapsul Silika

Dilakukan enkapsulasi tahap 2 terhadap sampel 2, 3, dan 4 (seperti terlihat dalam tabel 1) dengan menggunakan kitosan dan sodium alginat, hasil yang diharapkan adalah silika akan berkumpul membentuk *cluster* sehingga laju pelepasan zat akan semakin lama. Mikrokapsul silika sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam 25 ml air destilasi dan dicampurkan kitosan 2%, sodium alginat 2%, dan Ca<sup>2+</sup> 0,01 M. Tiap sampel dibedakan dari komposisi kitosan dan sodium alginat sehingga didapat bentuk *cluster*.

**Tabel 1. Komposisi sampel**

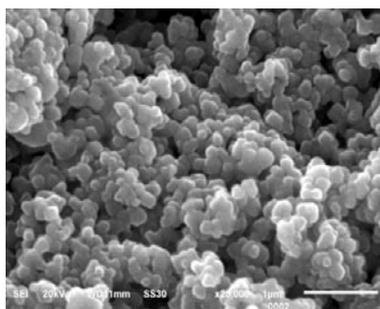
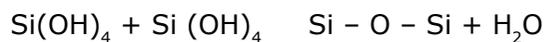
Sampel	Kitosan 2%	Sodium Alginat 0,5 %	Ca <sup>2+</sup> 0,01 M
1	-	-	-
2	2%	2%	2 mL
3	6%	2%	2 mL
4	6%	1%	2 mL

**Hasil Dan Pembahasan**

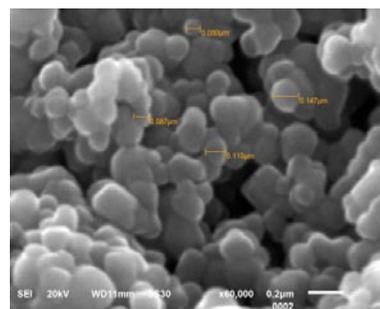
Untuk mengetahui bagaimana morfologi yang terbentuk maka dilakukan karakterisasi SEM. Pengujian SEM dilakukan di Basic Science Center A ITB dengan tipe mesin JSM-6510LA

Berdasarkan hasil karakterisasi SEM, pada sampel 1 diperoleh mikrokapsul silika yang memiliki ukuran partikel 80-

150 nanometer. Ukuran partikel yang diperoleh bergantung kepada prekursor yang digunakan, tipe media alkohol, dan rasio volume. Pada penelitian ini silika yang terbentuk didapatkan dari metode sol-gel dengan prekursor sodium silikat :



**a**

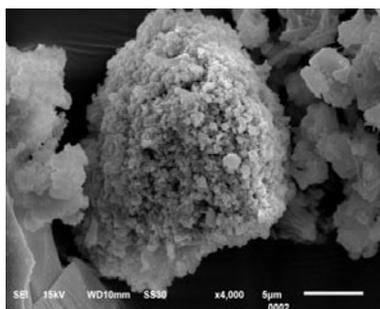


**b**

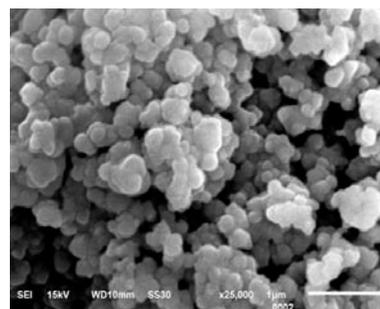
**Gambar 1. Sampel 1 (a) Mikrokapsul Silika (b) Perbesaran yang lebih tinggi.**

Dapat terlihat pada gambar 1, partikel yang dihasilkan terdispersi dan tersebar secara merata, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Werner Stober pada tahun 1968.<sup>15</sup>

Selanjutnya sampel 1 yang akan dijadikan variabel terkontrol dan diberikan variasi terhadap komposisi kitosan dan sodium alginat untuk sampel-sampel berikutnya.



**a**



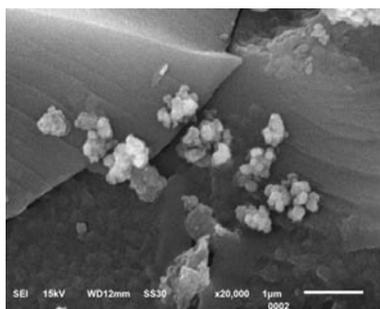
**b**

**Gambar 2. Sampel 2 (a) Mikrokapsul K:A = 2%:2% (b) Perbesaran yang lebih tinggi.**

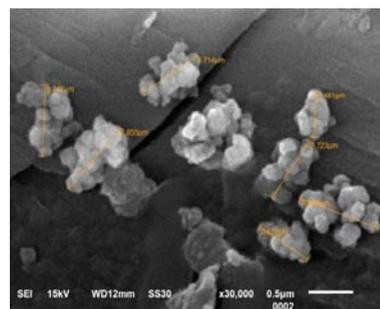
Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, proses *clustering* didasarkan pada pembentukan batu ginjal oleh hyaluronic acid (HA) yang berada di dalam tubuh. Untuk penelitian ini, fungsi HA akan digantikan oleh keberadaan kitosan dan sodium alginat. Yang menjadi dasar penelitian ini adalah berapa komposisi yang dibutuhkan dan urutan pencampuran sehingga didapatkan bentuk *cluster*. Dengan komposisi yang tepat akan didapat kondisi optimum (silika tersalut dan saling berkumpul membentuk *cluster*) dan

berpotensi sebagai media yang baik untuk penghantaran obat.

Pada sampel 2, menggunakan bahan sampel 1 tetapi dengan penambahan kitosan 2% sebanyak 2% dari volume, sodium alginat 0,5% sebanyak 2% dari volume, dan  $\text{Ca}^{2+}$  0,01 M sebanyak 2 ml. Terlihat pada gambar, silika yang terbentuk dari proses *stober* telah berkumpul dan membentuk *cluster*. Pembentukan *cluster* pada sampel dipengaruhi oleh adanya kitosan dan sodium alginat.



a



b

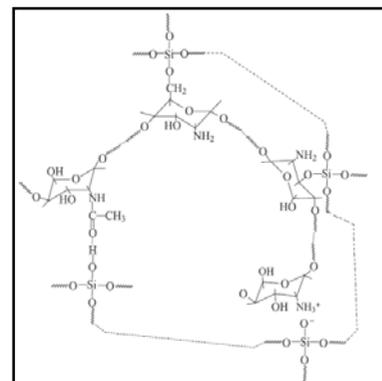
Gambar 3. Sampel 3 (a) Mikrokapsul K:A = 6% : 2% (b) Perbesaran lebih tinggi

Pada proses pemasukan kitosan, kitosan akan melingkupi silika dan silika yang telah terlindungi akan saling menempel dan membentuk *cluster* akibat pengaruh alginat. Terlihat pada gambar 2 telah terbentuk *cluster*, tetapi *cluster* yang terbentuk masih berukuran besar yaitu berkisar 10 mikrometer dan masih terdapat silika yang belum terdispersi secara merata. Hal ini dikarenakan komposisi kitosan yang masih sedikit, kitosan pada penelitian ini berfungsi sebagai dispersant.<sup>17</sup> Dengan menaikkan jumlah kitosan, diharapkan akan mengurangi jumlah aglomerat.

Pada sampel 3, menggunakan bahan sampel 1 tetapi dengan penambahan kitosan 2% sebanyak 6% dari volume, sodium alginat 0,5% sebanyak 2% dari volume, dan  $\text{Ca}^{2+}$  0,01 M sebanyak 2 ml. Gambar 3 memperlihatkan telah terbentuk *cluster*, dan terdapat *cluster* yang berukuran kurang dari 1 µm (berkisar 0,4-0,9 µm). Namun terdapat pula sisa kitosan yang belum

menyelimuti. Hal ini dapat disebabkan oleh proses pencampuran yang belum merata yaitu hanya dengan menggunakan ultra turrax selama 5 menit dan magnetic stirrer selama 30 menit, sehingga tumbukan antar silika dan kitosan cukup lemah.

Kitosan akan melingkari silika (Si-O-Si) akibat interaksi dari ikatan hydrogen dan ikatan Si-O-C. Selanjutnya gugus amin dari kitosan yang telah melingkupi akan bereaksi dengan senyawa lain yang ditambahkan.



Gambar 4. Ikatan Antara Silika dan Kitosan<sup>18</sup>

Kitosan akan menempel pada partikel silika akibat adanya ikatan hydrogen antara silanol pada ikatan silika dengan amina dan oksida pada kitosan (gambar 4).<sup>18</sup> Dengan adanya sifat unik yang dimiliki oleh sodium alginat yaitu kemampuan untuk melakukan cross link dengan hadirnya kation bervalensi seperti  $Ca^{2+}$ , alginat akan membentuk struktur reticulated akibat interaksi dengan  $Ca^{2+}$ . Interaksi elektrostatik yang kuat dari amina pada kitosan dengan karboksil pada alginat menghadirkan ikatan kitosan-alginat yang kompleks, mengakibatkan mikrokapsul lebih tahan terhadap pelepasan zat aktif.<sup>11</sup>

## Simpulan

Komposisi kitosan-alginat sangat berpengaruh terhadap pembentukan cluster, hasil terbaik pembentukan cluster didapatkan pada komposisi kitosan 2% sebanyak 6% volume dan alginat 0.5 M sebanyak 2% volume, dengan rata-rata ukuran cluster 0.7  $\mu m$ , sehingga *clustering* mikrokapsul silika dengan senyawa aktif chlorhexidine 2% menggunakan kitosan dan sodium alginat memungkinkan untuk masuk ke dalam tubulus dentin sebagai media *controlled release* chlorhexidine 2%. Namun demikian masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui *time release* dari mikrokapsul tersebut.

## Daftar Pustaka

1. Fisher K, Phillips C. The ecology epidemiology and virulence of enterococcus. *Microbiology* 2009;(155):1749-57.
2. Lennet BJ, Komorowski R, Huang J, Grad H, Lawrence HP, Friedman S. Antimicrobial Substantivity of Bovine Root Dentin Exposed to Different Chlorhexidine Delivery Vehicles. *J Endod* 2000;26(11): 652-55.
3. Ryan S. Chlorhexidine as a Canal Irrigant: A Review. *Compend Contin Educ Dent* 2010;31(5):338-42.
4. Grossman LI, Oliet S, Del Rio CE. Endodontic Practice 11<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Pennsylvania USA. 1995.
5. Kailasapathy K. Microencapsulation of Prebiotic Bacteria: Technology and Potential Applications. *Curr Issues Intest. Microbiol* 2002;3:39-48.
6. Batu Ginjal. [Online]. [Accessed: 25-Apr-2012]. Available from: <http://www.pharosindonesia.com/news-a-media/beritakesehatan/479-batu-ginjal>.
7. Verkoelen C. The Role of Hyaluronan in Renal Stone Disease. *Glycoforum* 2007. h. 19
8. Kleitz F. Ordered Nanoporous Materials: Synthesis, Characterization and Functionalization Methods. Department of Chemistry, University of Bergen, Bergen, Norway. 2009.
9. Patel MP, Patel RR, Patel JK. Chitosan Mediated Targeted Drug Delivery System: A Review. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2010:536-57.
10. Kumar C. Biofunctionalization of Nanomaterial. WILEY-VCH. 2005;1:69-71.
11. Couto DS, Hong Z, Mano JF. Development of Bioactive and Biodegradable Chitosan-based Injectable Systems Containing Bioactive Glass Nanoparticles. *Acta Biomaterialia* 2009;5:115-23.
12. Finotelli PV, Da Silva D, Sola-Penna M, Rossi AM, Farina M, Andrade LR. Microcapsules of Alginat/Chitosan Containing Magnetic Nanoparticles for Controlled Release of Insulin. *Biointerfaces* 2010;81:206-11.
13. Luther W. Bottom-up Methods for Making Nanotechnology Products. [Online]. [Accessed: 14-May-2012]. 2004. Available from: <http://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=1079>.
14. Sunnel SD. Wet Chemical Synthesis of Nanomaterials (Sol-gel process). [Online]. [Accessed: 14-May-2012].

- Available from: <http://www.gitam.edu/eresource/nano/nanotechnology/bottamup%20app.htm>.
15. Stober W, Fink A, Bohn E. Controlled Growth of Monodisperse Silika Spheres in the Micron Size Range. *Journal Of Colloid And Interface Science* 1968;26:62-9.
  16. Franjione J, Vasishtha N. The Art and Science of Microencapsulation. Southwest Research Institute. Texas: Technology Today. 1995.
  17. Zhang L, Tang P, Zhang W, Xu M, Wang Y. Effect of Chitosan as a Dispersant on Collagen-Hydroxyapatite Composite Matrices. *Tissue engineering. Part C, Methods* 2010;16:71-9.
  18. Silva GS, Oliveira PC, Giordani DS, de Castro HF. Chitosan/Siloxane Hybrid Polymer: Synthesis, Characterization and Performance as a Support for Immobilizing Enzyme. *J Braz Chem Soc* 2011;22(8):1407-17.