Terbit *online* pada laman web jurnal : http://inomet.ft.unand.ac.id

INoMeT: Jurnal Inovasi Rekayasa Mekanikal dan Termal

ISSN (Online) 3025-2598

Artikel Penelitian

Pengujian Sitotoksisitas Paduan Mg-1,6Gd Sebagai Bahan Implan Dengan Sel Osteoblast

Oknovia Susanti[a]

[a]*Mechanical Engineering Department, Andalas University, Kampus Limau Manis, Padang, 25163, Indonesia*

INFORMASI ARTIKEL

Sejarah Artikel:
Diterima Redaksi: 08 Desember 2023
Revisi Akhir: 22 Desember 2023
Diterbitkan *Online*: 29 Desember 2023

KATA KUNCI

Implan Tulang

Magnesium

Gadolonium

Sel Osteoblast

Sitotoksisitas

KORESPONDENSI

E-mail: oknovia.s@eng.unand.ac.id

A B S T R A C T

The high number of traffic accidents in Indonesia causes many victims which suffer from broken bones. Treatment which can be conducted is bone implants installation. Furthermore, magnesium is an attractive material for biodegradable bone implants since its physical properties are almost similar to human bone, but in the human body, magnesium experiences rapid dissolution before new tissue grows. Therefore, it needs to be combined with gadolonium in order to delay the solubility of magnesium. Before the Mg-Gd alloy was used as implant material, it is important to conduct a cytotoxicity test by using osteoblast cells. In order to obtain cell viability after it was given treatment, this study used the MTT Assay method. Furthermore, Mg-1,6Gd samples which had rolled with 80% and 95% reduction at various temperatures of 400° C, 450 ° C, 500° C, and 550° C were inserted into plates which contained osteoblast cells. After the samples were incubated for 3, 7, and 14 days, the MTT was dissolved into the plate and it was read with Elisa Plate Reader. The study shows that the sample which has rolled with 95% reduction is non- toxic since the average viability value is above 70%. In addition, samples which had rolled with 80% and 95% reduction at a temperature of 400 ° C have stable viability value which is above 70%.

1. PENDAHULUAN

Berdasarkan data dari Kepolisian Republik Indonesia tercatat pada tahun 2017 jumlah kecelakaan di Indonesia sebanyak 104.327 kasus menjadi 116.411 kasus pada tahun 2019. Dari kasus ini, jumlah korban cidera akibat kecelakaan menjadi cidera yang paling tinggi dan perlu penanganan yang serius [1]. Salah satu penanganan yang dapat dilakukan terhadap penderita patah tulang adalah melakukan implantasi dengan biomaterial.

Stainless steel, titanium, dan paduan kobalt-kromium adalah bahan yang paling sering digunakan dalam aplikasi medis dalam beberapa dekade terakhir. Akan tetapi bahan-bahan tersebut mempunyai kekurangan yaitu pertumbuhan tulang yang terhambat, paduan kobalt kromium memiliki kecenderungan untuk melepas racun akibat proses korosi atau, dan kebutuhan operasi kedua untuk pengangkatan implan[2]. Pembedahan yang berulang-ulang akan meningkatkan biaya kesehatan dan munculnya penyakit lain setelah pembedahan lebih lanjut dan bisa menyebabkan pasien mengalami komplikasi sehingga menyulitkan penyembuhan. Maka dari itu diperlukan suatu produk implan tulang *biodegradable* dengan bahan dasar material yang dapat diserap tubuh dan memiliki porositas yang baik, porositas sendiri diperlukan untuk memberi ruang yang cukup untuk migrasi dan pertumbuhan sel serta memudahkan transport nutrient dan produk buangan[3].

https://doi.org/10.25077/xxxxx
Attribution-NonCommercial 4.0 International. Some rights reserved

Logam berbasis magnesium menarik perhatian karena sifat mampu larutnya dalam tubuh dan mampu diserap maupun dikeluarkan dari tubuh. Unsur ini dibutuhkan oleh tubuh manusia sebanyak 375 Mg/hari yang disimpan pada jaringan tulang dan darah. Magnesium merupakan logam paling ringan yang memiliki massa jenis 1,738 gr/cm3 dengan modulus elastisitas 42 GPa yang sangat dekat dengan angka modulus elastisitas tulang manusia alami 10-40 GPa dan dapat terdegredasi melalui korosi yang terjadi pada cairan tubuh[2]. Namun tingginya sifat kelarutan magnesium juga menjadi kelemahan, dimana korosi bisa berlansung cepat dalam pH fisiologis (7,4-7,6) dan di lingkungan fisiologis klorida tinggi, dan mengakibatkan sifat mekanik menurun sebelum penyembuhan dan pertumbuhan jaringan baru[4].

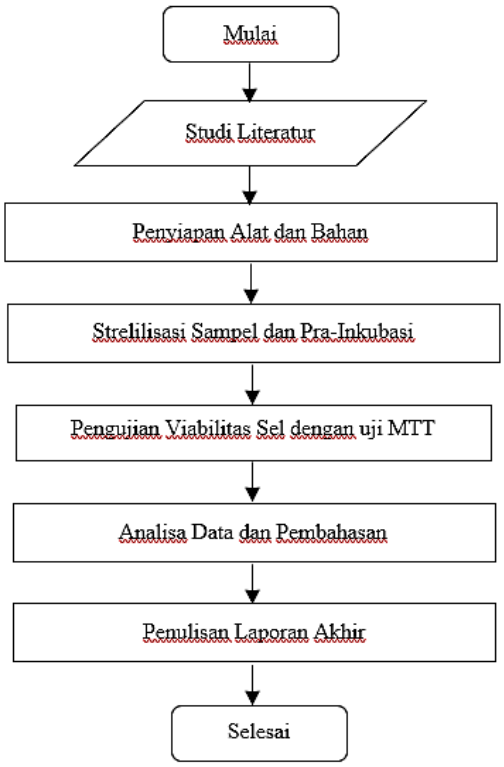
Menambahkan unsur tanah jarang ke magnesium dapat meningkatkan sifat mekanik dan memperlambat laju korosi, oleh karena itu akan sangat bermanfaat jika digunakan dalam tubuh selama proses pertumbuhan jaringan tulang[5]. Penambahan unsur Lanthanum (La) dan Cerium (Ce) secara efektif meningkatkan ketahanan korosi dan plastisitas paduan yang dihasilkan, tetapi uji in vitro menunjukkan bahwa bahan yang dibuat dengan La dan Ce menghasilkan toksisitas yang lebih tinggi daripada yang dibuat dengan unsur lain. Unsur Gd dan Dy memiliki daya larut 23,49% dan 25,3% lebih baik dari Nd sehingga membuat kedua unsur ini lebih baik sebagai unsur paduan. Dari penelitian Hort et al, penambahan unsur Gd pada Mg menghasilkan paduan yang memiliki nilai mekanik mendekati tulang dan elongasi lebih baik. Bian et al juga melaporkan, unsur Gd pada Mg-1,8Zn-0,2Gd menghasilkan paduan dengan laju korosi yang rendah. Karena kemampuan larut Gd yang baik saat dipadukan dengan Mg, hal ini memberikan kemungkinan penggunaan paduan Mg dengan Gd dalam lingkup yang lebih luas [6].

Paduan Mg-Gd yang mengalami deformasi secara rolling mengalami peningkatan sifat mekanik seperti nilai kekerasan, kekuatan tarik, kekuatan luluh dan elongasi. Berdasarkan keadaan tersebut, diperlukan pengujian lebih lanjut mengenai uji sitotoksisitas dari paduan Mg-Gd sehingga dapat dipertimbangkan sebagai material implan dan nantinya aman digunakan pada manusia. Penelitian ini akan mengkaji kompatibilitas paduan Mg-1.6Gd yang dihasilkan dari proses hot rolling reduksi 80% dan reduksi 95% serta selanjutnya melakukan perbandingan dari kedua uji mekanik tersebut.

2. METODOLOGI

2.1 Skema Penelitian

Langkah-langkah yang dilakukan dalam melakukan penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Diagram Penelitian

2.2 Prosedur Penelitian

2.1.1. Studi Literatur

Studi literatur dilakukan untuk memperoleh materi-materi yang berhubungan dengan penelitian. Studi literatur ini didapatkan dari penelitian sebelumnya, buku, jurnal ilmiah, internet dan juga konsultasi dengan pembimbing.

2.2.2. Penyiapan Alat dan Bahan

Material Mg-1.6Gd awalnya berbentuk lembaran (sheet type) hasil dari rolling dengan reduksi 80%

 https://doi.org/10.25077/xxxxx

yang memiliki ketebalan 1 mm. Pemotongan material dilakukan dengan gerinda tangan dan ragum sebagai alat bantu untuk memotong material sesuai dimensi sampel dibutuhkan untuk pengujian. 2.2.3 Sterilisasi Sampel dan Pra-Inkubasi.

Setelah dilakukannya pemotongan, kemungkinan terdapat partikel pengotor yang menempel pada sampel. Oleh karena itu, perlu dilakukan tahap pembersihan dengan menggunakan *ultrasonic cleaner*. Pada proses pembersihan ini sampel direndam dengan larutan methanol yang memiliki pH netral yaitu 7.33. Kemudian dilakukan pembersihan dengan memanfaatkan gelombang ultrasonic, sehingga partikel pengotor yang masih tersisa terlepas. Sebelum menyemai kultur sel, sampel diinkubasi terlebih dahulu untuk membentuk lapisan degradasi pelindung. Sampel disimpan pada suhu 37°C di 5% CO2 atmosfer selama 12 jam.

2.2.4 Pengujian MTT (Mikro Tetrazolium) Assay

Untuk menentukan viabilitas sel dilakukan uji MTT. Secara singkat, sel osteoblast dimasukkan ke dalam pelat sumur yang berisi sampel yang telah diinkubasi sebelumnya. Media sel diganti setiap hari selama percobaan. Setelah 24 jam, 7 dan 14 hari, larutan MTT ditambahkan ke media sel. Sel-sel kemudian diinkubasi dalam gelap selama 6 jam pada 37° C. Selanjutnya, media sel dibuang dan sel dilisiskan dengan 0,004 NHCl dalam isopropanol. Setelah lisis sel dipisahkan maka penyerapan pada sel akan dibaca dengan Mikroplate Reader.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Analisa Uji Biokompatibilitas Paduan Mg-1,6Gd

Sifat biokompatibiltas dari sebuah material bisa menggunakan metode *sitotoksisitas* (Pengujian tidak beracun). Untuk metode yang digunakan dalam penelitian ini ialah *Microtetrazolium Assay* sehingga bisa dilihat reaksi sel terhadap material. Sampel yang digunakan untuk pengujian biokompatibilitas adalah MG-1,6Gd dengan ekstrak 3,7 dan 14 hari dari larutan Ringers dengan lama inkubasi 24 jam. Data hasil uji biokompatibilitas Mg-1,6Gd dapat dilihat pada Tabel 3.1 dan Tabel 3.2 berikut.

Tabel 3.1 Data Hasil Uji MTT Sampel Mg-1,6Gd Rolling 80%

Suhu	Viabilitas sel setelah 3 hari (%)	Viabilitas sel setelah 7 hari (%)	Viabilitas sel setelah 14 hari (%)
400°C	77,11	85,55	94,35
450°C	30,89	17,11	78,14
500°C	30,67	34,14	78,27
550°C	44,71	36,03	103,43

Tabel 3.2 Data Hasil Uji MTT Sampel Mg-1,6Gd Rolling 95%

Suhu	Viabilitas sel setelah 3 hari (%)	Viabilitas sel setelah 7 hari (%)	Viabilitas sel setelah 14 hari (%)
400°C	96,22	103,17	109,55
450°C	84,98	98,38	90,26
500°C	94,69	101,89	88,25
550°C	99,63	107,97	88,74

Pada Tabel 3.1 dapat dilihat nilai viabilitas(kemampuan sel bertahan) Mg-1,6Gd rolling 80% pada temperatur 400°C pada hari ke-3 yaitu 77,11%, lalu pada hari ke-7 sebesar 85,55% dan pada hari ke-14 sebesar 94,35%. Pada temperatur 450°C hari ke-3 nilai viabilitas selnya 30,89%, lalu hari ke-7 menajdi 17,11% dan di hari ke-14 menjadi 78,14%. Ditemperatur 500°C pada hari ke-3 viabilitasnya 30,67%, selanjutnya pada hari ke-7 menjadi 34,14%, di hari ke-14 menjadi 78,27%. Pada temperatur 550°C nilai viabilitasnya di hari ke-3 ialah 44,71%, pada hari ke-7 sebesar 36,03% dan pada hari-14 menjadi 103,43%.

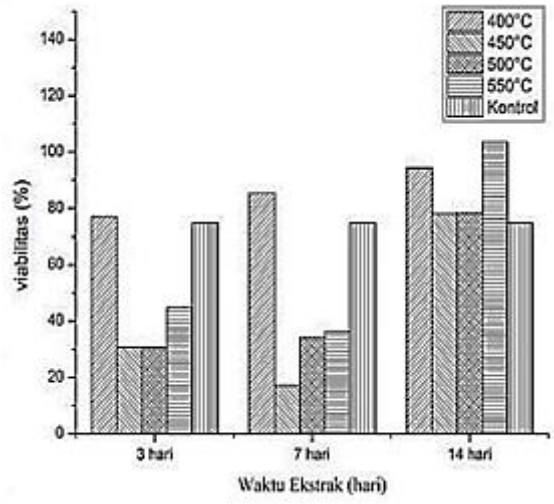
Dari Tabel 3.2 dapat dilihat viabilitas dari Mg-1,6Gd rolling 95%. Pada temperatur 400°C di hari ke-3 memiliki nilai viabilitas 96,22%, di hari ke-7 103,17% dan pada hari ke-14 sebesar 109,55%. Untuk temperatur 450°C pada hari ke-3 84,98%, lalu di hari ke-7 menjadi 98,38% dan pada hari ke-14 sebesar 90,26%. Pada temperatur 500°C di hari ke-3 nilai viabilitasnya 94,69%, di hari ke-7 sebesar 101,89% dan hari k-14 menjadi 88,25%. Ditemperatur 550°C pada hari ke-3 nilai viabilitasnya ialah 99,63%, di hari ke-7 sebesar 107,97% dan di hari ke-14 menjadi 88,74%.

Berdasarkan ketetapan dari ISO 10993-5,jika nilai persentase sel hidup kurang dari 75% maka material Mg-1,6Gd kemungkinan bersifat toksik. Bila nilai persentase sel hidup lebih dari 100% maka material Mg-1,6Gd tidak bersifat toksik terhadap sel uji yaitu sel *osteoblast.* Dari Tabel 3.1 dapat dilihat sampel Mg-1,6Gd yang direduksi 80% terlihat tidak biokompatibilitas karena nilai viabilitasnya berada dibawah 75% sehingga sampel ini bersifat beracun untuk sel hidup. Namun sampel yang proses pengerollannya pada temperatur 400°C terlihat anti toksik karena nilai viabilitasnya pada saat diekstrak selalu berada diatas 75%. Selanjutnya dari Tabel 3.2 sampel Mg-1,6Gd yang direduksi 95% terlihat anti toksik, dimana nilai viabiltiasnya diatas 75%.

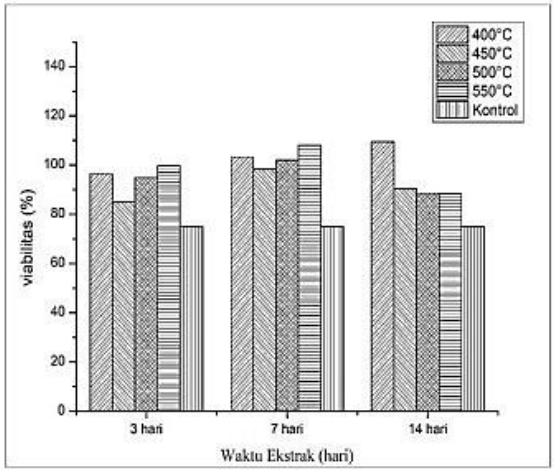
3.2. Perbandingan Hasil Pengujian Viabilitas Paduan Mg-1,6Gd

Pengujian biokompatibilitas paduan Mg-1,6Gd menggunakan metode MTT Assay. Data hasil uji biokompatibilitas dengan metode MTT Assay didapatkan grafik viabilitas pada masing-masing pengerollan. Grafik tersebut dapat dilihat pada gambar dibawah ini.

Gambar 3.3 dan 3.4 menunjukan viabilitas sel pada paduan rolling 80% dan 95%. Pada waktu ekstrak dihari ke-3 nilai viabilitas sel dari sampel yang dirolling 80% memiliki nilai dibawah 70% kecuali untuk sampel yang dirolling dengan temperatur 400°C .



Gambar 3.3 Viabilitas sel paduan Mg-1,6 Gd dalam ekstrak 3,7 dan 14 hari dalam larutan sel osteoblast (Rolling 80%).



Gambar 3.4 Viabilitas sel paduan Mg-1,6 Gd dalam ekstrak 3,7 dan 14 hari dalam larutan sel osteoblast (Rolling 95%)

Sedangkan pada sampel yang dirolling 95% nilai viabilitasnya diatas 70%. Pada hari ke-7 ekstrak sampel yang dirolling 80% rata-rata mengalami penurunan % viabilitas yang cukup jauh namun untuk sampel yang dirolling 95% mengalami kenaikan. Untuk hari ke-14 waktu ekstrak sampel 80% mengalami kenaikan nilai viabilitas diatas 70%, sedangkan sampel yang direduksi 95% mengalami penurunan nilai viabilitas meskipun masih berada diatas 70%.

Pada Gambar 3.3 untuk sampel yang dirolling dengan temperatur 400°C terlihat bagus karena nilai viabilitasnya berada diatas 70%, dimana pada hari ke-3 viabilitasnya 77,11%, lalu dihari ekstrak ke-7 mengalami kenaikan sebesar 8,44% sehingga viabilitasnya menjadi 85,55% dan pada hari ke-14 nilai viabiltasnya menjadi 94,35%. Pada sampel yang di rolling di temperatur 450°C yang diekstrak pada hari ke-3 sebesar 30,89% lalu mengalami penurunan yang sangat besar pada saat diekstrak hari ke-7 sebesar 13,78 sehingga %viabilitasnya 17,11. Namun pada hari ke-14 nilai viabilitasnya menjadi 78,14%.

Sampel yang dirolling pada temperatur 500°C pada hari ke-3 memiliki nilai viabilitas 30,67% dan mengalami sedikit peningkatan pada hari ke-7 menjadi 34,14%. Tetapi nilai viabilitasnya pada hari ke-14 meningkat sebesar 44,13% menjadi 78,27%. Untuk sampel yang dirolling dengan temperatur

 https://doi.org/10.25077/xxxxx

550°C pada awal ekstrak viabilitasnya hanya 44,71% dan menurun pada hari ke-7 menjadi 36,03%. Pada hari ke-14 viabilitas sel terlihat sangat baik dengan nilainya yang meningkat sangat besar menjadi 103,%.

Gambar 3.4 menunjukan viabilitas sel pada rolling 95% di temperatur 400°C ialah pada saat ektrak dihari ke-3 mempunya nilai 96,22%, lalu meningkat pada hari ke-7 dengan viabilitas sel sebesar 103,17% dan pada hari ke-14 memiliki persentase viabilitas 109,55%. Pada material yang sudah di rolling di temperatur 450°C mengalami peningkatan viablitas sel dari 84,98% menjadi 98,38% pada hari ke-7, namun pada hari ke-14 mengalami penurunan sehingga nilai viabilitas selnya 90,26%.

Nilai viabilitas sel untuk material yang dirolling dengan temperatur 500°C pada ekstrak 3 hari ialah 94,69% dan meningkat 7,20% menjadi 101,89% (hari ke-7), tapi pada hari ke-14 mengalami penurunan yang cukup drastis sehingga nilai viabilitas selnya menjadi 88,25%. Begitu juga yang terjadi pada temperatur rolling 550°C, diawal ekstrak 99,63% dan mengalami kenaikan tertinggi menjadi 107,97% pada ekstrak hari ke-7 tetapi juga mengalami penurunan %viabilitas yang besar pada hari ke-14 yaitu 88,74%.

Dari data diatas dapat diambil kesimpulan jika pengerolan dengan reduksi 95% memiliki nilai viabilitas tertinggi dibanding dengan pengerolan yang direduksi 80%. Nilai viabilitas juga telihat baik pada sampel yang direduksi dengan temperatur 400°C sehingga bagus untuk digunakan sebagai bahan implan. Hal ini dikarenakan persentase viabilitasnya selalu meningkat dan berada di atas 75%. Selanjutnya, pada sampel yang di rolling dengan reduksi 80% nilai viabilitasnya antara 17,11%-103,43%, dimana pada ektstrak hari ke-3 dan ke-7 banyak terdapat sampel yang bersifat toksik. Sedangkan pada sampel yang yang direduksi 95% nilai viabilitasnya berada di antara 84%-109% yang mana berarti sampel ini tidak beracun. Hal yang sama juga dijelaskan oleh Wen Yafeng,dkk bahwa paduan Mg-1Zn-1Sn memiliki biokompatibililitas yang bagus dan bahkan meningkatkan pertumbuhan sel baru pada tulang [7].

4. KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil sebagai berikut:

1. Pengujian biokompatibilitas pada sampel yang direduksi 80% bersifat toksik karena nilai viabilitasnya dibawah 75%. Sedangkan sampel yang direduksi 95% nilai rata-rata viabilitasnya diatas 75% sehingga bersifat non-toksik.
2. Sampel yang dirolling dengan reduksi 95% memiliki biokompatibilitas yang baik dibandingkan dengan sampel yang direduksi 80% sehingga dapat digunakan sebagai penelitian lebih lanjut untuk bahan implan
3. Sampel yang dirolling dengan temperatur 400°C mengalami peningkatan nilai viabilitas yang stabil sehingga bagus digunakan sebagai bahan implan tulang baik yang direduksi 80% maupun 95%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada laboratorium Metalurgi dan labor biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dalam mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

[1] B. P. Statistik, "'No Title,' 2019. [Online]. Available: https://www.bps.go.id/indicator/17/513/1/jumlah-kecelakaan-korban-mati-luka-berat-luka-ringan- dan-kerugian-materi.html.," p. 2019, 2019.

[2] H. Waizy *et al.*, "Biodegradable magnesium implants for orthopedic applications," *J. Mater. Sci.*, vol. 48, no. 1, pp. 39–50, 2013, doi: 10.1007/s10853-012-6572-2.

[3] C. De Liao, T. H. Liou, Y. Y. Huang, and Y. C. Huang, "Effects of balance training on functional outcome after total knee replacement in patients with knee osteoarthritis: A randomized controlled trial," *Clin. Rehabil.*, vol. 27, no. 8, pp. 697–709, 2013, doi: 10.1177/0269215513476722.

[4] B. Sofyan and M. Ariati, "Magnesium dan Paduannya Sebagai Biomaterial : Sebuah Kajian Literatur Please refer this paper as : Bondan T . Sofyan , Oknovia Susanti , Myrna A . Mochtar , Magnesium dan Paduannya Sebagai Biomaterial : Sebuah Kajian Literatur , Prosiding Seminar Material," no. December, pp. 1–16, 2016.

[5] N. Hort *et al.*, "Magnesium alloys as implant materials-Principles of property design for Mg-RE alloys," *Acta Biomater.*, vol. 6, no. 5, pp. 1714–1725, 2010, doi: 10.1016/j.actbio.2009.09.010.

[6] D. Liu, D. Yang, X. Li, and S. Hu, "Mechanical properties, corrosion resistance and biocompatibilities of degradable Mg-RE alloys: A review," *J. Mater. Res. Technol.*, vol. 8, no. 1, pp. 1538–1549, 2019, doi: 10.1016/j.jmrt.2018.08.003.

[7] Y. Wen *et al.*, "Improving in vitro and in vivo corrosion resistance and biocompatibility of Mg–1Zn–1Sn alloys by microalloying with Sr," *Bioact. Mater.*, vol. 6, no. 12, pp. 4654–4669, 2021, doi: 10.1016/j.bioactmat.2021.04.043.