

Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Aluminium Fosfat (Agus Haryono)

Akreditasi LIPI Nomor : 395/D/2012

Tanggal 24 April 2012

PREPARASI DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL ALUMINIUM FOSFAT

Agus Haryono, Witta Kartika Restu dan Sri Budi Harmami

Pusat Penelitian Kimia (P2K)-LIPI

Kawasan Puspiptek, Serpong 15314, Tangerang Selatan

e-mail: haryonolipi@yahoo.com

Diterima: 13 April 2012

Diperbaiki: 14 Agustus 2012

Disetujui: 10 September 2012

ABSTRAK

PREPARASI DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL ALUMINIUM FOSFAT. Telah dilakukan penelitian pembuatan nanopartikel aluminium fosfat (AlPO_4) dengan disodium fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), aluminium klorida ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), dan natrium asetat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) yang digunakan sebagai material utamanya. Proses preparasi dilakukan dengan memasukkan larutan aluminium klorida/natrium asetat ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) pada konsentrasi 0,164 M ke dalam larutan disodium fosfat dengan konsentrasi 0,144 M. Pengadukan dilakukan pada putaran rendah yaitu 40 rpm hingga 60 rpm dan berlangsung pada suhu ruang. Nanopartikel AlPO_4 yang dihasilkan dikarakterisasi dengan *Particle Size Analyser (PSA)* untuk mengetahui ukuran partikelnya, *photo microscope* untuk melihat distribusi partikel pada permukaannya, dan *Transmission Electron Microscope (TEM)* untuk mengetahui morfologinya. Diperoleh ukuran partikel $225,9 \pm 64,0$ nm dengan indeks polidispersi 0,323, distribusi partikel yang merata pada permukaannya dan morfologi yang berpori. Nanopartikel AlPO_4 ini berpotensi untuk digunakan sebagai adjuvan vaksin. Diharapkan penggunaannya nanti sebagai adjuvan vaksin dapat meningkatkan efektivitas terhadap vaksin yang dibutuhkan dibandingkan dengan partikel AlPO_4 .

Kata kunci: Nanopartikel, Aluminium fosfat, Morfologi, Distribusi

ABSTRACT

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF ALUMINIUM PHOSPHATE NANOPARTICLES. Aluminum phosphate nanoparticles (AlPO_4) have been studied with disodium phosphate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), aluminum chloride ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), and sodium acetate ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) as main material. Preparation process was done by adding aluminum chloride/sodium acetate solution ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) at a concentration of 0.164M to disodium phosphate solution with a concentration of 0.144M. Stirring process was performed at low speed, 40-60 rpm, and at room temperature. AlPO_4 characterized by the means of Particle Size Analyzer (PSA) to determine particle size, photo microscope to see particles distribution on its surface, and Transmission Electron Microscope (TEM) to determine the morphology. Obtained particles size was about 225.9 ± 64.0 nm with polydispersity index 0.323, particles distribution was spread evenly on the surface, and have a porous morphology. AlPO_4 Nanoparticles have the potential to be used as a vaccine adjuvant. It is expected to be used as a vaccine adjuvant with higher effectiveness of the vaccine required as compared with AlPO_4 particles.

Keywords: Aluminum phosphate nanoparticles, Particle size, Distribution, Morphology

PENDAHULUAN

Aluminium fosfat (AlPO_4) adalah material inorganik penting yang memiliki karakteristik stabilitas kimia dalam suhu tinggi, resistensi kejutan termal, insulasi termal, resistensi oksidasi, dan kompatibilitas kimia dengan material seperti logam, silikon karbida dan aluminium oksida [1]. AlPO_4 memenuhi berbagai persyaratan khusus dan memiliki aplikasi yang luas dalam hal pelapisan, bahan tahan api, komposit dan

adjuvan vaksin [2-5]. Senyawa AlPO_4 merupakan adjuvan yang umum digunakan pada vaksin untuk manusia maupun hewan [5]. Adjuvan adalah *agent* farmakologis atau imunologis yang memodifikasi efek dari *agent* lain, seperti obat atau vaksin. Adjuvan sering dimasukkan dalam vaksin untuk meningkatkan respon kekebalan penerima terhadap antigen yang digunakan. Sehingga dapat meminimumkan bahan

asing yang disuntikkan, vaksin tersebut [6]. AlPO_4 telah cukup lama digunakan sebagai adjuvan pada vaksin manusia karena tingkat keamanan terhadap tubuh yang cukup tinggi, harga yang relatif murah, dan tingkat adjuvantisitas yang baik dengan berbagai variasi antigen [7-15].

Hasil penelitian telah menunjukkan bahwa vaksin dengan adjuvan aluminium memberikan respons antibodi yang lebih tinggi dan lebih lama dibandingkan dengan vaksin tanpa adjuvan. Efektivitas adjuvan umumnya diamati selama proses imunisasi awal dan bukan pada saat *booster* (peningkatan dosis) [6]. Efektivitas senyawa aluminium sebagai adjuvan juga tergantung pada karakteristik dari vaksin tertentu dan proses persiapan vaksin [16]. Agar dapat bekerja sebagai adjuvan, antigen harus dapat teradsorpsi ke dalam senyawa aluminium, yaitu mengelompok dengan aluminium untuk mempertahankan antigen pada area injeksi [17].

Di Jepang senyawa aluminium ini telah digunakan sebagai adjuvan pada vaksin untuk manusia seperti vaksin kombinasi *Diphtheria-Pertusis-Tetanus (DPT)*, *diphtheria-tetanus* dan hepatitis B.

Selain itu juga digunakan pada vaksin untuk hewan untuk mengatasi penyakit demam, Chuzan, Newcastle, infeksi radang tenggorokan, haemophilus, dan radang otak [18]. Sedangkan vaksin untuk anak-anak berbasis aluminium yang telah berlisensi Amerika adalah vaksin *DTP*, vaksin *Diphtheria-Tetanus-acellular Pertussis (DTaP)*, beberapa tapi tidak semua vaksin *Haemophilus influenzae type b (Hib)*, vaksin *pneumococcal*, vaksin hepatitis B, kombinasi vaksin *DTaP*, *Tdap*, *Hib*, atau hepatitis B, vaksin hepatitis A, vaksin *human papillomavirus*, vaksin antraks dan vaksin rabies [16].

Senyawa aluminium umum digunakan sebagai adjuvan vaksin untuk manusia maupun hewan, sehingga senyawa ini menjadi referensi untuk mengevaluasi formulasi adjuvan baru [5]. Untuk itu sangat penting dalam menyiapkan formulasi vaksin optimal yang dapat terserap ke dalam adjuvan aluminium ini untuk mengevaluasi adjuvan baru tersebut.

Dalam mengevaluasi kemampuan adjuvan agar dapat menyerap vaksin secara optimal, maka diperlukan preparasi yang baik pada senyawa aluminium fosfat (AlPO_4).

Pada penelitian ini akan dilakukan preparasi nanopartikel AlPO_4 dan untuk mengetahui efektivitas dari partikel ini jika dibandingkan dengan senyawa aluminium yang umum digunakan sebagai adjuvan. Untuk mengetahui sifat fisika dari nanopartikel AlPO_4 yang dibuat ini, maka perlu dilakukan karakterisasi. Selain itu, hal tersebut juga dimaksudkan untuk mengetahui komabilitasnya terhadap vaksin yang akan menggunakannya sebagai adjuvan.

METODE PERCOBAAN

Pada penelitian ini dilakukan proses preparasi dan karakterisasi dari nanopartikel aluminium fosfat (AlPO_4). Bahan yang digunakan yaitu Disodium fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Aluminium klorida (AlCl_3) dan Natrium asetat (CH_3COONa) dari Merck dengan *grade pure analysis*.

Proses Preparasi

Proses preparasi dari nanopartikel AlPO_4 dilakukan dengan memasukkan larutan disodium fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0,144M sebanyak 20 % volume akhir ke dalam wadah berpengaduk dengan kecepatan aduk 40 rpm hingga 60 rpm. Kemudian ditambahkan *aquadest* sebanyak 50 % hingga 55 % volume akhir dan larutan aluminium klorida/natrium asetat ($\text{AlCl}_3/\text{CH}_3\text{COONa}$) 0,164 M sebanyak 20 % dari volume akhir tetes demi tetes sampai habis. Selanjutnya menambahkan *aquadest* hingga mencapai volume akhir, yaitu 250 mL, dan proses dilanjutkan selama 2 jam dengan pengadukan pada suhu ruang. Pada penggunaannya sebagai adjuvan, proses adsorpsi *in situ antigen* dapat dilakukan setelah larutan disodium fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) dimasukkan ke dalam wadah berpengaduk [5].

Proses Karakterisasi

Pada nanopartikel AlPO_4 ini dilakukan beberapa jenis karakterisasi. Karakterisasi yang dilakukan adalah *Particle Size Analyser (PSA)* untuk mengetahui ukuran partikel nanopartikel aluminium, *photo microscope* untuk melihat distribusi partikel pada permukaannya dan *Transmission Electron Microscope (TEM)* untuk mengetahui morfologinya. Alat untuk menganalisis ukuran partikel adalah *Beckman Coulter Delsa nano particle analyzer* dengan diukur pada kondisi suhu kamar (25 °C) dan air sebagai pelarutnya. Alat untuk menganalisis distribusi partikel pada permukaan adalah *Axiomager Z2-Axiocam MRc photo microscope* dengan perbesaran 40 kali. Morfologi nanopartikel dianalisis dengan menggunakan alat *JEOL JEM 1400* dan diukur pada perbesaran seragam yaitu 100 nm.

Karakterisasi fisika yang dilakukan tersebut sangat berguna dalam mengoptimasi adsorpsi *antigen* ke dalam adjuvan aluminium dan untuk formulasi vaksin kombinasi. Dengan melakukan kontrol terhadap karakteristik yang dihasilkan adjuvan ini, maka dapat memudahkan dalam pembuatan vaksin. Karakteristik fisika kimia dari adjuvan aluminium dan efeknya terhadap adsorpsi protein oleh adjuvan yang dipreparasi dan karakterisasi ini [12]. Karakterisasi *Scanning Electron Microscope (SEM)* terhadap adjuvan aluminium yang dibuat. Hal ini bertujuan untuk melihat karakteristik fisika dari adjuvan aluminium yang dapat menjadi salah satu

faktor yang mempengaruhi reaktogenitas saat menjadi adjuvan vaksin [19].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses Preparasi

Proses preparasi ini diawali dengan dibuatnya larutan disodium fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) pada wadah berpengaduk dengan putaran aduk 40 rpm hingga 60 rpm. Pada larutan disodium fosfat yang memiliki pH basa ini, yaitu 8,5 hingga 9,5, ditambahkan *aquadest* dan larutan aluminium klorida/natrium setat ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} / \text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$). Larutan aluminium klorida/natrium asetat ini memiliki pH asam, yaitu 3 hingga 4. Larutan aluminium fosfat (AlPO_4) yang dihasilkan memiliki pH 5.

Pada peneliti sebelumnya adjuvan aluminium fosfat yang dihasilkan memiliki pH pada rentang 5,5 hingga 6,5 [5]. Selama proses preparasi ini dilakukan pengadukan pada putaran aduk 40 rpm hingga 60 rpm. Hal ini dimaksudkan agar dispersi larutan yang dihasilkan merata. Sehingga nanopartikel yang terbentuk akan seragam. Untuk melihat keseragaman partikel tersebut maka dapat dilihat pada karakterisasi yang dilakukan pada nanopartikel aluminium fosfat ini. Adapun larutan yang dihasilkan berwarna bening. Larutan aluminium fosfat ini disimpan pada kondisi penyimpanan yang sesuai yaitu pada suhu 2 °C hingga 8 °C.

Karakterisasi dengan Particle Size Analyser

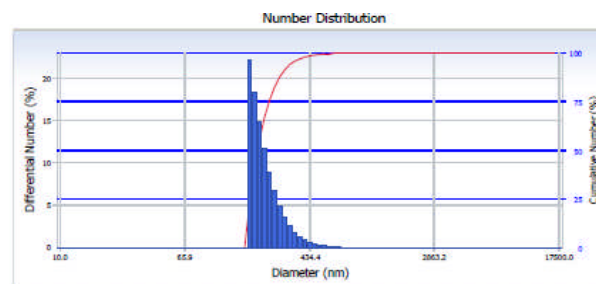
Berdasarkan hasil pengukuran yang dilakukan terhadap nanopartikel aluminium fosfat diperoleh ukuran partikel sebesar $225,9 \pm 64,0$ nm dengan indeks

polidispersitas sebesar 0,323. Hasil ukuran partikel tersebut menunjukkan bahwa partikel aluminium fosfat yang dibuat berada dalam rentang nanopartikel. Indeks polidispersitas adalah ukuran dari distribusi massa molekul dalam sampel tertentu. Nilai ini menunjukkan hasil perhitungan dari berat rata-rata berat molekul dibagi dengan jumlah rata-rata berat molekul. Semakin mendekati nol berarti distribusinya semakin baik.

Dengan telah berada dalam rentang nanopartikel, saat berfungsi sebagai adjuvan diharapkan vaksin yang dibutuhkan lebih sedikit dibandingkan dengan partikel aluminium fosfat pada umumnya. Hal ini dikarenakan pada ukuran nanometer dengan volume maupun massa yang sama jumlah partikel di dalamnya lebih banyak sehingga fungsi dari suatu partikel akan dapat lebih meningkat. Hal ini akan dapat dibuktikan dengan melakukan uji imunologi dengan menggunakan nanopartikel AlPO_4 yang telah dipreparasi ini.

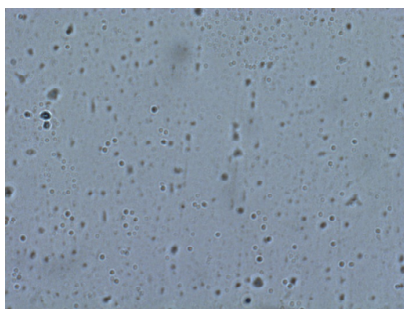
Karakterisasi dengan Photo Microscope

Karakterisasi dengan menggunakan *Photo Microscope* bertujuan untuk melihat distribusi dari nanopartikel AlPO_4 pada permukaannya. Nanopartikel ini dilihat dengan menggunakan alat *photo microscope* dengan bantuan cahaya halogen pada perbesaran 40 kali. Penggunaan perbesaran 40 kali dan cahaya halogen dimaksudkan agar dapat melihat distribusi partikel dengan jelas. Gambar 2 menunjukkan hasil dari alat tersebut dan terlihat bahwa distribusi nanopartikel pada permukaannya tersebar merata. Ukuran partikel yang terlihat pada permukaannya tersebut seragam. Untuk melihat lebih jelas morfologi dari nanopartikel AlPO_4 dapat dilihat pada hasil karakterisasi dengan *Transmission Electron Microscope (TEM)*.

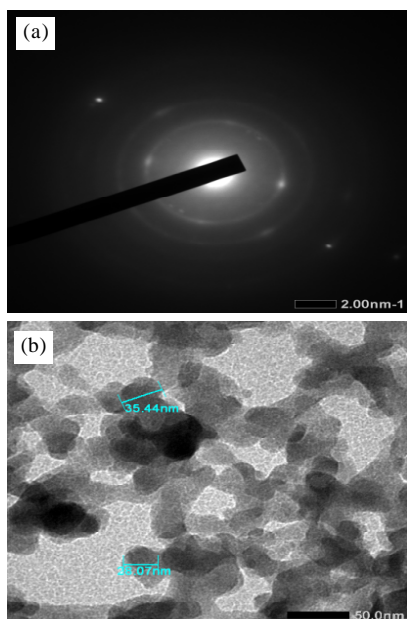


Distribution Results (Contin)			Cumulants Results		
Peak	Diameter (nm)	Std. Dev.	Diameter (d)	: 854.2	(nm)
1	225.9	64.0	Polydispersity Index (P.I.)	: 0.323	
2	0.0	0.0	Diffusion Const. (D)	: 5.759e-009	(cm ² /sec)
3	0.0	0.0	Measurement Condition		
4	0.0	0.0	Temperature	: 25.0	(°C)
5	0.0	0.0	Diluent Name	: WATER	
Average	225.9	64.0	Refractive Index	: 1.3328	
Residual	: 1.407e-002	(O.K)	Viscosity	: 0.8878	(cP)
			Scattering Intensity	: 9616	(cps)

Gambar 1. Distribusi ukuran partikel dari nanopartikel aluminium fosfat (AlPO_4)



Gambar 2. Mikrograf nanopartikel aluminium fosfat (AlPO_4)



Gambar 3. Hasil analisis TEM pada nanopartikel aluminium fosfat (AlPO_4) (a). pola difraksi dan (b). morfologi nanopartikel.

Karakterisasi dengan *Transmission Electron Microscope*

Dengan melakukan karakterisasi dengan TEM, maka akan diperoleh pola difraksi dan morfologi dari nanopartikel AlPO_4 . Berdasarkan hasil pola difraksinya, dapat dilihat bahwa nanopartikel AlPO_4 yang telah dipreparasi menunjukkan telah berbentuk kristal karena adanya pola diskrit atau diskontinyu seperti bentuk titik tersebut. Nanopartikel yang berbentuk kristal ini menunjukkan bahwa partikel penyusunnya tersusun teratur atau memiliki keteraturan yang sempurna. Keteraturan penyusunan ini juga dapat dilihat pada pada Gambar 2, berupa hasil *photo microscope*. Berdasarkan gambar selanjutnya, dapat dilihat bahwa nanopartikel AlPO_4 menunjukkan morfologi yang berbentuk silinder, berpori, dan saling berkaitan. Bentuk silinder tersebut memiliki diameter 28 nm hingga 35 nm. Bentuk seperti ini menjadikan aluminium fosfat yang dipreparasi jika difungsikan sebagai adjuvan vaksin akan dapat melakukan penetrasi pada tubuh manusia dengan lebih

baik sehingga semakin memicu terbentuknya respon antibodi yang diinginkan.

Dengan terbentuknya pori pada morfologinya tersebut, maka dapat memudahkan proses pelekatan atau penempelan *antigen*. Hal ini dikarenakan pori-pori tersebut merupakan tempat melekatnya atau masuknya *antigen*, baik dengan metode adsorpsi maupun metode pelekatan *antigen* lainnya. Gambar 3 menunjukkan hasil pengujian analisis dengan TEM.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa nanopartikel aluminium fosfat (AlPO_4) telah dipreparasi dengan baik dan hasil karakterisasi yang baik. Hal ini telah ditunjukkan oleh hasil karakterisasinya yaitu ukuran partikel yang berada pada rentang nanopartikel yaitu $225,9 \text{ nm} \pm 64,0 \text{ nm}$, distribusi partikelnya yang seragam pada permukaannya, serta nanopartikel yang telah berbentuk kristal dan berpori dengan morfologi silinder dengan diameter 28 nm hingga 35 nm. Dengan morfologi seperti itu maka nanopartikel aluminium fosfat ini sangat berpotensi sebagai adjuvan vaksin.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Program Kompetitif LIPI atas bantuan dana yang diberikan dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR ACUAN

- [1]. S. DENG, C. WANG, Y. ZHOU, F. HUANG and L. DU, *Materials Science and Engineering A*, **477** (2008) 96-99
- [2]. D. D. L. CHUNG, *Journal of Material Science*, **38** (2003) 2785-2791
- [3]. S. HOSHII, A. KOJIMA, T. TAMAKI and S. OTANI, *Journal of Material Science Letter*, **19** (2000) 557-560
- [4]. H. J. HAN and D. P. KIM, *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, **26** (2003) 223-228
- [5]. R. K. GUPTA, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **32** (1998) 155-172
- [6]. T. C. EICKHOFF and M. G. MYERS, *Vaccine*, **20** (3) (2002) S1-S4
- [7]. R. K. GUPTA, E. H. RELYVELD, E. B. LINDBLAD, B. BIZZINI, S. BEN-EFRAIM and C. K. GUPTA, *Vaccine*, **11** (1993) 293-306
- [8]. R. K. GUPTA and G. R. SIBER, *Vaccine*, **13** (1995) 1263-1276
- [9]. R. K. GUPTA, B. E. ROST, E. RELYVELD and G. R. SIBER, Adjuvant Properties of Aluminum and Calcium Compounds, in *Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach* (M. F. POWELL and M. J. NEWMAN, Eds.), Plenum, New York, (1995) 229-248

- [10]. E. B. LINDBLAD, Aluminium adjuvants, in *The Theory and Practical Application of Adjuvants* (D. E. S. STEWART-TULL, Eds.), Wiley, Chichester, (1995) 21-35
- [11]. R. K. Gupta, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **32** (1998) 155-172
- [12]. S. L. HEM and J. L. WHITE, Structure and Properties of Aluminum-Containing Adjuvants, in *Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach* (M. F. POWELL and M. J. NEWMAN, Eds.), Plenum, New York, (1995) 249-276
- [13]. M. A. APRILE and A. C. WARDLAW, *Canadian Journal of Public Health*, **57** (1966) 343-354
- [14]. W. NICKLAS, *Research in Immunology*, **143** (1992) 489-494
- [15]. J. D. VAN RAMSHORST, *Recueil Travaux Chimiques des Pays-Bas*, **68** (1949) 169-180
- [16]. N.W. BAYLOR, W. EGAN and P. RICHMAN, *Vaccine*, **20** (2002) S18-23
- [17]. I. Z. ROMERO, Y. SHI, H. HOGENESCH, *Vaccine*, **25** (2007) 825-833
- [18]. N. GOTO, H. KATO, J. I. MAEYAMA, K. ETO and S. YOSHIHARA, *Vaccine*, **11** (9) (1993) 914-918
- [19]. N. GOTO, H. KATE, J. MAEYAMA, M. SHIBANO, T. SAITO, J. YAMAGUCHI and S. YOSHIHARA, *Vaccine*, **15** (1997) 1364-1371