

Sintesis dan Karakterisasi Komposit Hidroksiapatit-Kolagen-Kitosan (HA/Coll/Chi) dengan Metode Ex-situ

SYNTHESIS AND CHARACTERITATION HYDROXYAPATITE-COLLAGEN-CHITOSAN (HA/Coll/Chi) COMPOSITE BY EX-SITU METHOD

Meita Kurniasari* dan Sari Edi Cahyaningrum

Departement of Chemistry, Faculty of Matematics and Natural Sciences
State University of Surabaya

Jl. Ketintang Surabaya (60231), telp 031-8298761

*Corresponding author, email: meita_kurniasari@yahoo.com

Abstrak. Komposit hidroksiapatit-kolagen-kitosan (HA/Coll/Chi) sebagai material substitusi tulang telah berhasil disintesis dengan metode ex-situ. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui karakteristik kimia berupa gugus fungsional dan fasa dari komposit HA/Coll/Chi. Karakterisasi FTIR menunjukkan adanya pita adsorpsi PO_4^{3-} dan OH dari HA, serta pergeseran bilangan gelombang pada gugus C=O dan NH_2 dari kitosan dan kolagen yang menunjukkan telah terjadi ikatan antara HA dengan kitosan dan kolagen. Hasil karakterisasi XRD menunjukkan hadirnya fasa HA dan kitosan pada komposit HA/Coll/Chi. Puncak kolagen tidak dapat teramati karena bergabung dengan puncak yang dimiliki kitosan.

Kata Kunci: Komposit HA/Coll/Chi, XRD, FTIR, SEM

Abstract. Composite of hydroxyapatite-collagen-chitosan (HA / Coll / Chi) as a bone substitute material has been synthesized by the ex-situ method. The aim of this research is to determine of chemical characteristics such as functional group and phase of composite HA / Coll / Chi. FTIR characterization indicates ribbon adsorption PO_4^{3-} and OH of HA, and a shift wave number in the group C = O and NH_2 of the chitosan and collagen which shows there has been a bond between HA with chitosan and collagen. XRD characterization results showed the presence of the phase HA and chitosan in the composite HA / Coll / Chi. Collagen peak can not be observed due to join the summit held chitosan.

Keywords: HA/Coll/Chi Composite, XRD, FTIR, SEM

PENDAHULUAN

Tulang merupakan bagian utama yang menyusun kerangka tubuh. Fungsi tulang diantaranya sebagai pelindung organ-organ vital, memberi bentuk tubuh, tempat melekatnya otot dan jaringan lunak lainnya [1]. Tulang sebagai jaringan pada tubuh manusia memiliki peranan yang sangat penting, sehingga apabila terjadi kerusakan tulang akan menyebabkan masalah kesehatan yang serius, sehingga diperlukan teknik penyembuhan tulang yang tepat. *Bone graft* sintetik merupakan alternatif teknik penyembuhan tulang sebagai material substitusi tulang, salah satunya yang berasal dari biomaterial.

Hidroksiapatit merupakan salah satu biomaterial keramik yang paling banyak dimanfaatkan sebagai material substitusi tulang. Hidroksiapatit memiliki beberapa keunggulan diantaranya mempunyai kesamaan fasa mineral dengan tulang dan gigi sehingga memiliki sifat biokompatibilitas dan bioaktif [2]. Hidroksiapatit memiliki kekuatan mekanik yang kurang baik, yakni getas dan mudah patah [3], sehingga perlu dikompositkan dengan material lain. Komposit matriks polimer memiliki beberapa keuntungan diantaranya menghindari masalah stress shielding dan menghilangkan prosedur pembedahan kedua untuk menghilangkan implan [4].

Dalam tulang tersusun dari 69 % kalsium fosfat (terutama hidroksiapatit), 21% kolagen, 9% air and 1% komponen lain [1]. Menurut hasil penelitian [5,6,7] cakar ayam dapat dijadikan sebagai sumber kolagen, sehingga dalam penelitian ini digunakan kolagen yang digunakan berasal dari cakar ayam. Fase mineral terutama yang mengandung hidroksiapatit berfungsi memberikan ketangguhan dan kekakuan, sedangkan matriks organik memberikan kekuatan tarik dan fleksibilitas tulang [8]. Kolagen memiliki sifat biokompatibilitas yang baik, mudah terdegradasi dan diserap oleh tubuh [9]. Dalam material komposit, kolagen dan hidroksiapatit memainkan peran yang sama seperti pada tulang alami [8].

Berbagai penelitian telah mencoba membuat komposit hidroksiapatit-kolagen, Penelitian [10] mensintesis komposit kolagen-hidroksiapatit, setelah dikarakterisasi dengan SEM, terlihat butiran mikro hidroksiapatit tertanam pada matriks kolagen berpori. Saat ini sistem komposit dengan tiga komponen telah dikembangkan, salah satunya dengan penambahan kitosan, komposit kitosan hidroksiapatit kolagen spons laut [11], komposit kitosan nano hidroksiapatit kolagen [12], *scaffold* kolagen termineralisasi kitosan hidroksiapatit [13].

Kitosan adalah polisakarida alami yang dihasilkan dari deasetilasi kitin. Kitin sebagai sumber kitosan terdapat melimpah di alam, sehingga dapat menjadi sumber yang potensial. Kitosan adalah salah satu polimer alami yang sering dimanfaatkan dalam bidang medis. Kitosan memiliki sifat biokompibel dan biodegradabel [14]. Selain itu kitosan memiliki sifat antimikroba, mendukung aktivitas ostoblas dan menghambat efek fibroblas, dan sifatnya yang polikationik mendukung interaksi elektrostatis dengan protein, sehingga dapat meningkatkan kekuatan mekanik [15].

Dalam penelitian ini akan dilakukan sintesis komposit hidroksiapatit-kolagen-kitosan (HA/Coll/Chi) sebagai material substitusi tulang dengan metode ex-situ. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik kimia berupa gugus fungsional dan fasa dari komposit HA/Coll/Chi.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas, *magnetic stirrer* dan *hot plate* (VWR VMS-C7-2, pH meter (Mi 150), dan neraca analitik (OHAUS). Instrumen yang digunakan yaitu *Fourier transform infrared* (Perkin Elmer), *Scanning Electron Microscopy* (JEOL JSM 6510LA) dan *X-ray Diffraction* (Bruker 3090409081).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan meliputi hidroksiapatit yang disintesis dari penelitian sebelumnya [16], kitosan yang berasal dari PT.Cathay Indo Chitin (derajat deasetilasi 85%, cakar ayam, asam asetat 2%, padatan NaOH p.a., dan akuademin.

PROSEDUR PENELITIAN

Ekstraksi Kolagen

Tahap ekstraksi kolagen seperti cara yang digunakan [17], cakar ayam tekumpul dicuci sampai bersih, kemudian dipisahkan dari tulangnya, dipotong hingga ukuran kurang lebih 3 cm. Cakar ayam dicuci kembali dengan air mengalir dan dibilas dengan akuademin. Selanjutnya dihaluskan dengan blender. Sebanyak 100 gram cakar ayam yang telah dihaluskan direndam dalam larutan CH_3COOH 5 % selama 24 jam dengan volume 8 kali berat sampel. Selama perendaman, sampel disimpan dalam kulkas. Setelah perendaman selesai, sampel disaring menggunakan kain mori untuk diambil filtratnya. Filtrat dinetralkan dengan NaOH 1 N, kemudian dibiarkan sampai kolagen menggumpal. Gumpalan kolagen disaring dengan kertas saring dan disimpan dalam wadah tertutup di dalam kulkas.

Sintesis Komposit HA/Coll/Chi

Sebanyak 0,375 g kitosan dilarutkan dalam 10 mL asam asetat 2 % (v/v). Larutan diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai homogen. Sebanyak 1,75 g HA yang telah dilarutkan dengan air ditambahkan tetes demi tetes ke dalam larutan kitosan sampai homogen dilanjutkan dengan penambahan larutan kolagen. Komposit HA/Coll/Chi yang dihasilkan di *Freeze Dry*. Selanjutnya dilakukan penetralan pada komposit dengan cara merendam komposit dengan

larutan NaOH, untuk mendapatkan komposit HA/Coll/Chio kering maka dilakukan *Freeze Dry* kembali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

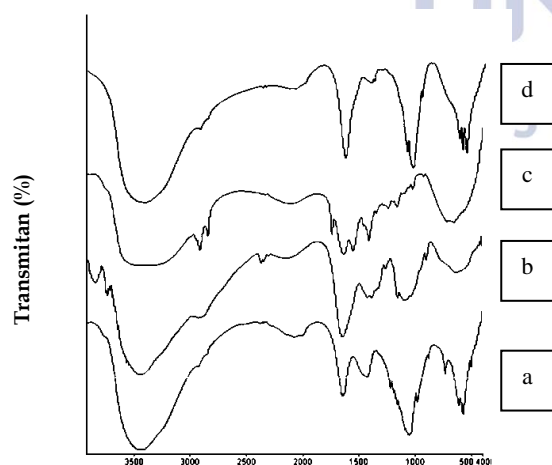
Kolagen yang dihasilkan dari proses ekstraksi dengan bahan dasar cakar ayam berbentuk gel berwarna putih. Sintesis komposit HA/Coll/Chi dengan metode *ex-situ* menghasilkan komposit dengan karakter fisik padatan berwarna putih dan memiliki rongga (Gambar 1).



Gambar 1. Komposit HA/Coll/Chi

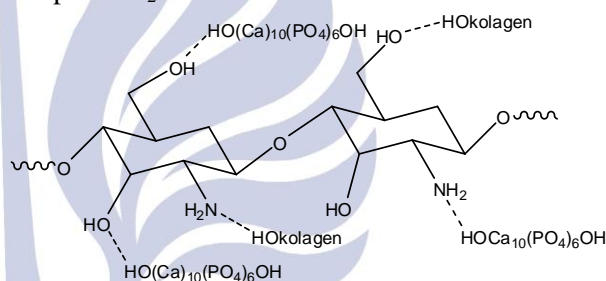
Analisis Gugus Fungsional

Analisis gugus fungsional dengan FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsional yang terkandung pada sampel HA, kitosan, kolagen, serta komposit HA/Coll/Chi. Analisis ini digunakan untuk melihat kemungkinan terjadinya reaksi yang ditandai dengan adanya pergeseran, kenaikan, maupun penurunan intensitas serta hilang dan munculnya *peak* pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Hasil analisis FTIR sampel ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektrum FTIR HA (a) Kitosan (b) Kolagen (c) komposit HA/Coll/Chi (d)

Pada hasil FTIR komposit HA/Coll/Chi (Gambar 2) terlihat terdapat beberapa gugus fungsi yang muncul pada komposit yakni gugus fungsi PO_4^{3-} dan OH^- dari HA, gugus C=O serta NH_2 dari kitosan dan kolagen. Pada bilangan gelombang sekitar 3430 cm^{-1} terjadi tumpang tindih antara vibrasi regangan dari gugus NH dan OH seperti yang dilaporkan [11]. Puncak yang dihasilkan terlihat melebar pada bilangan gelombang 3435,40 cm^{-1} pada komposit HA/Coll/Chi merupakan vibrasi regangan gugus OH^- dari HA yang tumpang tindih dengan regangan gugus NH_2 dari Chi maupun Coll, Selain itu antara HA dengan kitosan juga terjadi ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen ini berasal dari ion hidroksil HA yang berinteraksi dengan gugus amina dan ion hidroksil milik kitosan seperti yang dijelaskan pada penelitian [18]. Pada kolagen juga akan terjadi ikatan hidrogen dengan gugus OH^- maupun NH_2 milik kitosan.



Gambar 3. Reaksi hipotektik ikatan hidrogen antara kitosan-kolagen-hidroksiapatit [16].

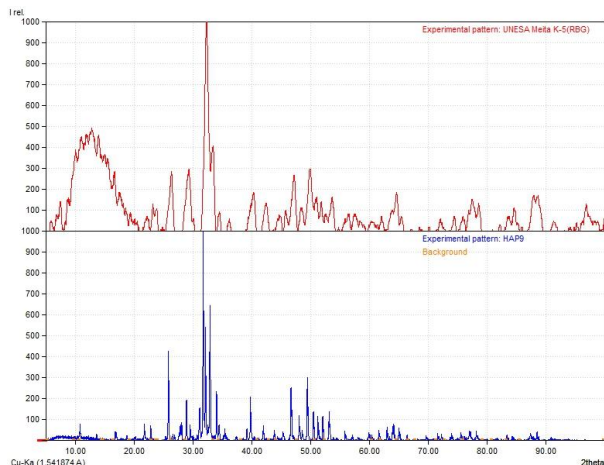
Adanya interaksi yang ditandai dengan pergeseran bilangan gelombang pada hasil FTIR menunjukkan bahwa, komposit Ha/Coll/Chi telah berikatan dengan baik.

Analisis Fasa

Karakterisasi menggunakan XRD bertujuan untuk mengetahui fasa komposit HA/Coll/Chi. Pada Gambar 4. diatas memperlihatkan pola XRD yang terbentuk HA dan komposit. Pada pola XRD HA didominasi oleh fasa HA dengan puncak tertinggi pada 31,792°, 32,197°, 32,993°. Pada komposit HA/Coll/Chi fasa yang terbentuk didominasi oleh AKA dengan puncak tertinggi pada sudut $2\theta = 32,32^\circ$. Fasa HA pada komposit HA/Coll/Chi 7:1,5:1,5 hadir dengan intensitas relatif 85,57 % pada sudut $2\theta = 32,18^\circ$

Adanya fasa karbonat pada sampel diakibatkan oleh substitusi ion karbonat yang menggantikan ion OH^- pada struktur HA sehingga menghasilkan apatit

karbonat tipe-A (AKA) atau menggantikan ion PO_4^- dengan membentuk apatit karbonat tipe-B (AKB) [19]. Adanya gas CO_2 di udara bebas sulit dihindari selama proses sintesis komposit HA/Coll/Chi selain itu pelarutan serbuk HA dengan akuademin akan mengakibatkan semakin mudahnya kontak CO_2 dengan HA.



Gambar 4. Difraktogram HA (A) komposit HA/Coll/Chi (B)

Pada komposit HA/Coll/Chi puncak dengan intensitas cukup tinggi hadir pada sudut $2\theta=10,88^\circ$. Puncak kolagen tidak dapat teramati karena bergabung dengan puncak yang dimiliki kitosan [11].

SIMPULAN

Komposit HA/Coll/Chi telah berhasil disintesis dengan metode ex-situ. Karakterisasi gugus fungsional menunjukkan adanya pita adsorpsi PO_4^{3-} dan OH dari HA, serta pergeseran bilangan gelombang pada gugus C=O dan NH_2 dari kitosan dan kolagen yang menunjukkan telah terjadi ikatan antara HA dengan kitosan dan kolagen. Karakterisasi fasa menunjukkan hadirnya fasa HA dan kitosan pada komposit.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yildirim, O. 2004. Preparation and Characterization of Chitosan /Calcium Phosphate Based Composite Biomaterials. *Tesis*. Izmir Institute of Technology zmir, Turkey.
2. Purwasmita, Bambang S. dan Ramos S. 2008. Sintesis dan Karakterisasi Serbuk Hidroksiapatit

Skala Sub-Mikron Menggunakan Metode Presipitasi. *Jurnal Bionatura*, 10(2): 155-167

3. Samsiah, Robiatus. 2009. Karakterisasi Biokomposit Apatit-Kitosan dengan XRD (X-Ray Diffraction), FTIR (Fourier Transform Infrared), SEM (Scanning Electron Microscopy) dan Uji Mekanik. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB
4. Qing, Liu. 1997. Hydroxyapatite/Polymer Composites For Bone Replacment. *Tesis*. Universitas Twente.
5. Prayitno. 2007. Ekstraksi Kolagen Cakar Aya dengan Berbagai Jenis Larutan Asam dan Lama Perendamannya. *Animal Production*. 9(2):hal 99-104.
6. Chia, Wei L., Michael L., Tsung Y., and Shuo W. 2013. Evaluation Of Convenient Extraction of Chicken Skin Collagen Using Organic Acid and Pepsin Combination. *Journal of The Chinese Society of Animal Sciene*, 42(1): 27-38.
7. Hashim, P., M. S. Mohd Ridzwan, and J. Bakar. 2014. Isolation and Characterization of Collagen From Chicken Feet. *International Journal of Biological Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 8 (3): 250-254.
8. Ficai, Anton, et all. 2011. Advance in Collagen/Hydroxyapatite Composite Materials. (Online) (<http://www.intechopen.com/>, diakses pada 11 Februari 2015)
9. Wahl DA and JT Czmuszka. 2006. Collagen-Hydroxyapatites For Hard Tissue Repair. *European Cells and Materials*, 11: 43-56.
10. Padmanabhan, Sanos K., Fransesca G., Alessandro S., and Antonio L. 2014. Preparation and Characterization of Collagen/Hydroxyapatite Microsphere Composite Scaffold For Bone Regeneration. *Key Enggineering Material*, 587: 239-244.
11. Pallela, Ramjee., Jayachandran V., Venkateswara R., and Se-Kwon K. Biophysicochemical Evaluation of Chitosan-Hydroxyapatite-Marine Sponge Collagen Composite for Bone Tissue Engineering. *Journal of Biomedical Materials Research*, 100 (2): 486-495.
12. Zhi, Huang; Qingling F., Bo Y., and Songjian Li. Biomimetic Properties of Injectable Chitosan/Nano-Hydroxyapatite/Collagen Composite. *Material Sciene and Engineering*, 31(3): 683-687.

13. Haiguang, Zhao., Lie M., Changyou G., and Jiacong S. Fabrication and Properties of Mineralized Collagen-Chitosan/Hydroxyapatite Scaffolds. *Polymers for Advanced Technologies*. 19(11): 1590-1596.
14. Venkatesan J. and Se-Kwon K. 2010. Chitosan Composites for Bone Tissue Engineering-An Overview. *Marine Drug*, 8: 2552-2266
15. Hagen, Nitzsche. 2010. Development and Characterization of Nano-Hydroxyapatite-Collagen-Chitosan Scaffolds. *Disertasi*. Marthin Luther University of Halle Wittenberg
16. Prayitno. 2007. Ekstraksi Kolagen Cakar Aya dengan Berbagai Jenis Larutan Asam dan Lama Perendamannya. *Animal Production*, 9(2): 99-104.
17. Safitri, B. D. 2016. Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Cangkang Telur Bebek (*Anas platyrhynchos*) Menggunakan Metode Penendapan Basah. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Unesa.
18. Cheng, Xianmiao., Li Y., Zuo Y., Zhang L., Li J., Wang H. Properties and In vitro Biological Evaluation of Nano-Hydroxyapatite/Chitosan Membranes for Bone Guided Regeneration. *Journal of Material Science and Engineering*. 29 (1): 29-35.
19. Lestari, Astri. 2009. Sintesis dan Karakterisasi Komposit Apatit-Kitosan dengan Metode In-Situ dan Ex-Situ. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB.

