

**SINTESIS DAN KARAKTERISASI
KOMPOSIT HIDROKSIAPATIT-KITOSAN-KOLAGEN
SEBAGAI BIOMATERIAL BONE GRAFT**

**SYNTHESIS AND CHARACTERITATION OF
HYDROXYAPATITE-CHITOSAN-COLLAGEN
FOR BONE GRAFT BIOMATERIALS**

*Siti Lailatul Arifah * 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: innanda_rizqiani@yahoo.com

Abstrak. Tulang merupakan komposit alami yang terdiri dari 70% material anorganik berupa hidroksiapatit dan 30% material organik yang terdiri dari kolagen, proteoglikan dan glikoprotein. Pada penelitian ini hidroksiapatit dikompositkan dengan kitosan dan kolagen diharapkan dapat memberikan komposisi yang sama dengan tulang. Kitosan dan kolagen digunakan sebagai matriks organik karena sifatnya yang biokompatibel, tidak toksik, bioaktif dan osteokonduktif. Pada penelitian ini komposit hidroksiapatit-kitosan-kolagen disintesis menggunakan metode *ex-situ*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh komposisi komposit terhadap karakteristik fisika dari komposit hidroksiapatit-kitosan-kolagen. Komposit A (7:2:1) memberikan sifat fisik dengan serabut berongga yang paling sedikit dan memiliki kekuatan tekan sebesar 155,31 kPa. Pada komposit B (7:1,5:1,5) memiliki serabut berongga yang lebih banyak dari komposit A dan memiliki kekuatan tekan yang paling tinggi yaitu sebesar 219,77 kPa. Komposit C (7:1:2) memiliki serabut berongga yang paling banyak dan memiliki kekuatan tekan yang paling rendah yaitu 100,53 kPa. Komposisi komposit mempengaruhi sifat fisik pada komposit dan komposit dengan kekuatan tekan terbaik yaitu komposit dengan komposisi 7:1,5:1,5 (komposit B).

Kata Kunci: komposit, hidroksiapatit, kitosan, kolagen, bone graft.

Abstract. Bone is a natural composite which consists of 70% inorganic material such as hydroxyapatite and 30% organic material composed of collagen, proteoglycans and glycoproteins. In this study, hydroxyapatite was combined with chitosan and collagen is expected to give a similar composition to the bone. Chitosan and collagen were used as an organic matrix because it is biocompatible, non-toxic, bioactive and osteoconductive. In this study, composite hidroksiapatit-chitosan-collagen was synthesized using *ex-situ* methods. the purpose of this study is to determine the effect on the composite composition about physical characteristics of hydroxyapatite-chitosan-collagen composite. Composite A (7: 2: 1) give physical properties has least hollow fibers and has a compressive strength of 155.31 kPa. In composite B (7: 1,5: 1,5) has hollow fibers more than composite A and has a compressive strength is highest in the amount of 219.77 kPa. Composite C (7: 1: 2) has highest hollow fibers and has smallest of compressive strength in the amount of 100.53 kPa. Composite composition affects the physical properties of the composites and composite with the best compressive strength is composite with the composition 7: 1,5: 1,5 (Composite B).

Keywords: composite, hydroxyapatite, chitosan, collagen, bone graft .

PENDAHULUAN

Kebutuhan biomaterial dibidang kedokteran kini semakin meningkat. Peningkatan kebutuhan biomaterial dibidang ortopedi disebabkan oleh meningkatnya kasus patah tulang (fraktur). Pada tahun 2007 kurang lebih ada sebanyak 11.332 orang (14%) yang mengalami fraktur, yang disebabkan oleh peristiwa terjatuh (3,8%), kasus kecelakaan lalu lintas (8,5%) dan 1,7% dari trauma benda tajam/tumpul [1]. Data tersebut menunjukkan bahwa semakin dibutuhkannya pengembangan bahan-bahan biomaterial sintesis yang dapat digunakan sebagai bahan rehabilitasi jaringan tulang. Biokeramik merupakan bahan yang saat ini sedang dikembangkan sebagai biomaterial buatan. Biokeramik memiliki sifat-sifat yang sangat cocok digunakan sebagai bahan implant, diantaranya yaitu tidak beracun, tidak menyebabkan alergi, tidak menyebabkan radang, tidak mengandung zat yang dapat mendorong terjadinya kanker, mampu menyesuaikan diri dengan baik dan tahan lama [2].

Hidroksiapatit merupakan keramik yang berbasis kalsium fosfat dengan rumus kimia $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ dan merupakan komponen anorganik utama (menyumbang 60-70%) dari jaringan keras tulang sebagai fase mineral dalam tulang manusia. Keunggulan dari hidroksiapatit adalah tidak toksik, tidak menimbulkan demam dan tidak mengakibatkan peradangan serta kemampuannya yang sangat baik dalam pembentukan jaringan fibrosa antara implan tulang [3]. Bahan alami yang digunakan pada proses sintesis hidroksiapatit pada penelitian ini adalah cangkang telur ayam ras (*Gallus gallus*), karena cangkang telur merupakan salah satu sumber $CaCO_3$ (kalsium karbonat) yang besar dengan kadar yang mencapai 95% [4].

Selain hidroksiapatit, penyusun utama pada tulang yang lainnya yaitu kolagen [5]. Keberadaan kolagen dalam menyusun tubuh manusia yaitu sekitar 30% dari seluruh protein yang ada pada tubuh. Protein kolagen memiliki sifat yang mampu beradaptasi sangat baik dengan tubuh [6],

sehingga diharapkan dapat menyempurnakan dalam mensintesis *bone graft*.

Komposit hidroksiapatit-kolagen mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan hidroksiapatit monolitik, yaitu ketika ditanamkan dalam tubuh manusia memiliki kemampuan merangsang sel-sel osteoblas untuk melakukan mineralisasi tulang yang lebih baik serta matriks tulang yang dihasilkan juga sangat persis dengan tulang alami [7]. Kolagen yang digunakan pada penelitian ini yaitu kolagen yang diekstraksi dari cakar ayam ras (*Gallus gallus*), karena berdasarkan penelitian [8] menunjukkan bahwa kolagen yang diekstrak dari cakar ayam merupakan kolagen tipe I.

Tulang merupakan rangka pembentuk dan penopang tubuh yang terdiri dari bahan organik dan inorganik, yaitu 30% bahan organik, 70% bahan inorganik [9]. Kitosan merupakan suatu polisakarida (polimer) yang dapat diperoleh melalui proses penghilangan asetil (deasetilasi) yang terdapat pada kitin yang dapat digunakan sebagai komposit HA-kitosan karena memiliki sifat spesifik, yaitu mampu merangsang sel-sel osteoblas, mudah beradaptasi dengan tubuh, tidak beracun dan tidak karsinogenik [9]. Kitosan dalam hal ini berfungsi untuk menyempurnakan sifat mekanik dari hidroksiapatit yang cukup rapuh, padahal sebagai implan tulang harus memiliki kekuatan untuk menopang tubuh, kitosan juga bersifat bioresorbable, biokonduktif [10], serta mampu menambah porositas pada komposit, sehingga mempercepat pertumbuhan osteoblas pada komposit [11].

Pada penelitian ini digunakan variasi massa HA-kitosan-kolagen 7:2:1, 7:1,5:1,5, 7:1:2. Variasi ini dipilih berdasarkan pada komposisi tulang yang terdiri dari 30% bahan organik dan 70% bahan anorganik [9].

Penelitian ini menggunakan metode *ex-situ*. Pada metode ini, penambahan senyawa atau sampel lain dilakukan ketika sampel utama telah selesai pada proses presipitasi sehingga penggunaan

metode *ex-situ* diharapkan dapat memperkuat ikatan antar komponen pada komposit HA-kitosan-kolagen [12]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh komposisi komposit terhadap sifat fisik komposit HA-kitosan-kolagen.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam sintesis komposit HA-kolagen-kitosan meliputi gelas kimia, pengaduk mekanik, cawan petri, lemari es, pipet tetes, spatula, pH meter, neraca analitik, kertas saring, dan kain mori. Instrumen yang digunakan yaitu SEM, XRD, FT-IR, *Autograph*, *Freeze dryer*.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam sintesis komposit hidroksiapatit-kitosan-kolagen meliputi hidroksiapatit, kitosan, kolagen, asam asetat 5%, NaOH 10% dan aquademin.

PROSEDUR PENELITIAN

Sintesis Komposit HA-kitosan-kolagen

Sebanyak 3,5 gram hidroksiapatit diencerkan dalam 5 mL akuades kemudian diteteskan pada larutan kitosan, setelah itu diaduk sampai homogen sehingga terbentuklah larutan HA-kitosan. Sebanyak 0,5; 0,75 dan 1 gram kolagen dilarutkan dalam 10 mL asam asetat 5%, diteteskan dalam larutan kitosan-HA dan diaduk sampai homogen dengan warna putih sedikit kekuningan. Ketiga larutan di *freeze drying* sehingga terbentuk komposit HA-kitosan-kolagen yang masih bersifat asam. Komposit tersebut direndam NaOH 1% kemudian dicuci dengan akuades sampai pH netral kemudian di *freeze drying* kembali dan didapatkan komposit HA-kitosan-kolagen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, Komposit HA-kitosan-kolagen disintesis menggunakan metode *ex-situ*, yaitu metode sintesis yang dilakukan setelah bahan awal terbentuk [13].

Analisis Visual Komposit

Komposit HA-kitosan-kolagen A (7:2:1) memiliki sifat fisik dengan warna kuning yang paling tajam dan terlihat paling sedikit serabut

berongga. Hal ini dikarenakan komposisi kitosan terbesar ada pada komposit A yaitu sebesar 20%, sedangkan komposisi serabut kolagen paling kecil yaitu 10%, sehingga mengakibatkan komposit A berwarna paling kuning akibat larutan kitosan yang berwarna kuning dan memiliki paling sedikit serabutnya.

Pada komposit HA-kitosan-kolagen B (7:1,5:1,5) memiliki warna komposit yang lebih pudar dari komposit A dan memiliki lebih banyak serabut berongga dari komposit A. Hal ini disebabkan komposisi kitosan yang lebih sedikit dari komposit A yaitu 15% dan komponen kolagen yang lebih besar dari komposit A yaitu 15%.

Pada komposit HA-kitosan-kolagen C (7:1:2) memiliki warna kuning pada komposit yang paling rendah, karena pada komposit C komposisi kitosannya paling rendah yaitu 10% dan memiliki paling banyak serabut, hal ini dikarenakan pada komposit C komposisi kolagennya paling besar yaitu 20%.



Gambar 1. Komposit HA-kitosan-kolagen

Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa semakin banyak penambahan kitosan maka kepadatannya semakin tinggi dan semakin berwarna kuning namun serat berongganya semakin rendah, dan sebaliknya semakin banyak penambahan kolagen kepadatan komposit semakin rendah namun serabut berongganya semakin banyak, karena kolagen merupakan protein yang berbentuk fibrin yang tersusun atas beberapa asam amino [14] sehingga banyaknya kolagen yang ditambahkan dapat mempengaruhi banyak sedikitnya serabut pada komposit .

Analisis Kekuatan Tekan Komposit

Pengujian sifat mekanik pada komposit HA-kitosan-kolagen yaitu pengukuran kekuatan tekan menggunakan *Autograph*. Hasil uji tekan berupa kekuatan tekan dengan satuan kPa yang ditunjukkan pada 1.

Tabel 1. Hasil Uji Tekan Komposit HA-kitosan-kolagen

Sampel	Kekuatan tekan (kPa)
Komposit A (7:2:1)	155,31
Komposit B (7:1,5:1,5)	219,77
Komposit C (7:1:2)	100,53

Pada Tabel 1 menunjukkan komposit A memiliki kekuatan tekan sebesar 155,31 kPa dan merupakan kekuatan tekan tertinggi. Komposit C memiliki kekuatan tekan terendah yaitu 100,53 kPa. Apabila dibandingkan dengan kekuatan mekanik tulang, tulang *cancellous* memiliki *range* kekuatan tekan 2-12 Mpa, sedangkan tulang kortikal yaitu 30-160 MPa [10]. Hal tersebut menunjukkan komposit yang disintesis pada penelitian ini memiliki kekuatan tekan yang lebih rendah dibandingkan pada tulang.

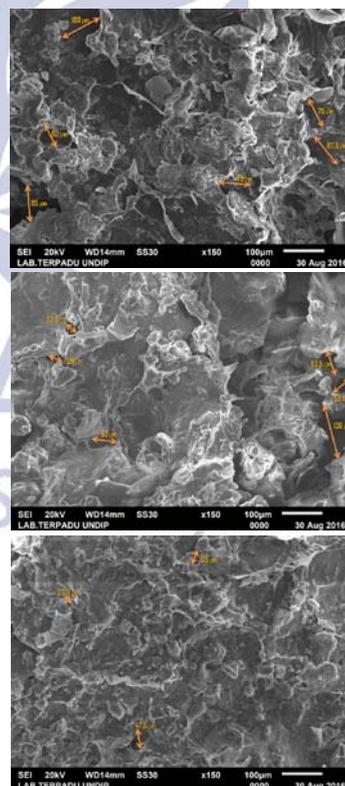
Kekuatan tekan yang rendah pada penelitian ini dapat disebabkan karena pada proses preparasi uji tekan, tidak dilakukan teknik kompaksi. Apabila sampel dikompaksi, dimungkinkan permukaan adesif dan permukaan aderen yang ada disekitarnya akan terikat lebih erat [15]. Hal tersebut menyebabkan susunan partikel menjadi lebih padat, porositas menurun dan massa jenis komposit meningkat, [16], sehingga permukaan total antar partikel semakin besar, yang selanjutnya berdampak

pada peningkatan kekuatan tekan pada komposit [17].

Pada penelitian ini dihasilkan kekuatan komposit B > komposit A > komposit C. Berdasarkan penelitian [10] semakin meningkat konsentrasi kitosan yang dicampurkan berpengaruh pada semakin besarnya nilai densitas dan kekuatan tekannya, namun pada penambahan lebih dari 20% nilai densitas dan kekuatan tekannya menurun, hal ini diduga bahwa komposit telah melalui titik jenuh sehingga terdapat kitosan yang belum berinteraksi dengan HA. [11] juga mengemukakan bahwa penggabungan kitosan dengan HA dapat menurunkan nilai kekuatan tekan karena ikatan permukaan yang lemah antara kitosan dengan hidroksiapatit.

Analisis Morfologi Permukaan Komposit

Analisis SEM dilakukan untuk mengetahui morfologi permukaan yang terbentuk pada komposit HA-kitosan-kolagen. Pada Gambar 2 disajikan gambar SEM dengan perbesaran 150x.



Gambar 2. Morfologi Permukaan Komposit HA-kitosan-kolagen 7:2:1, Komposit HA-kitosan-kolagen 7:1,5:1,5 dan komposit HA-kitosan-kolagen 7:1:2 dengan Perbesaran 150x.

Gambar 2 merupakan gambar permukaan komposit HA-kitosan-kolagen pada perbesaran 150x, dimana pada ketiga gambar terlihat partikel apatit menyebar seragam melalui matriks kolagen-kitosan [18]. Morfologi komposit HA-kitosan-kolagen berupa lapisan mineral dengan topografi kristal kasar pada permukaan dinding pori, dan sebagian berupa permukaan halus dari matriks kitosan. Serabut kolagen yang telah termineralisasi terlihat seragam dan menyebar pada permukaan. Pori-pori yang terbentuk terlihat berubah jika dibandingkan pada morfologi HA, pori-pori yang dihasilkan bentuknya tidak beraturan dengan ukuran yang berbeda-beda dan tidak tersebar merata pada komposit HA-kitosan-kolagen.

Pada komposit A (7:2:1) memiliki pori-pori dengan ukuran antara 60-110 μm . Komposit B (7:1,5:1,5) memiliki pori-pori dengan ukuran antara 32,5-130 μm . Pada komposit C (7:1:2) memiliki pori-pori dengan ukuran antara 22,5-47,5 μm . Penelitian [3] menunjukkan *makroporous* komposit HA-kolagen yang terbentuk dengan metode *freeze drying* menghasilkan ukuran pori yang tidak merata, komposit HA kolagen dengan waktu pembekuan selama 2 jam menghasilkan ukuran pori terbesar. Sedangkan sebagai pengisi celah (defect) tulang, jika porositas semakin meningkat maka sel jaringan sekitarnya mudah masuk kedalam dan berproliferasi didalamnya hal ini akan meningkatkan sifat osteokonduktif dari matriks sebagai *scaffold* dari sel-sel sekitarnya dari *resipien* [19]. Pada matriks yang mengandung gelatin, maka gelatin sebagai protein tulang akan dapat berfungsi membantu berkembangnya sel jaringan untuk membentuk *challus*, yang selanjutnya bereaksi dengan kalsium dengan bantuan osteoblas membentuk tulang baru [20].

Hasil uji SEM pada komposit ini menunjukkan bahwa semakin banyak penambahan kitosan maka pembentukan pori semakin besar dan lebih merata, hal ini karena sifat kitosan yang mampu membentuk pori.

SIMPULAN

Simpulan dari penelitian ini adalah

1. Semakin banyak penambahan kolagen, maka serabut yang terbentuk juga akan semakin banyak.

2. Komposisi komposit mempengaruhi kekuatan tekannya yaitu kekuatan tekan pada komposit B>komposit A>komposit C.
3. Komposit A memiliki range pori 60-110 μm , komposit B memiliki range pori 32,5-130 μm dan komposit C memiliki range pori 22,5-47,5 μm .

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Depkes RI. 2007. Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Indonesia.
2. Ichsan, Miranda Zawazi; Siswanto; Dyah Hikmawati. 2013. Sintesis Komposit Kolagen-Hidroksiapatit Sebagai Kandidat Bone Graft. *Media Jurnal Fisika dan Terapannya*. Volume 1, nomor 1.
3. Rohmawati, Nurur. 2012. Pengaruh Komposisi pada Sintesis Komposit Hidroksiapatit dari Tulang sotong-Kitosan Terhadap Struktur Kristal dan Mikrostrukturnya. *Skripsi*. Jurusan Fisika, Fakultas MIPA UM.
4. Mahreni dkk. 2012. Pembuatan Hidroksi Apatit dari Kulit Telur. *Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*. Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Yogyakarta. ISSN: 1693-4393.
5. Ang, TH; FSA Sultana; DW Hutmacher; YS Wong; JYH Fuh; XM Mo; HT Loh; E Burdet; SH Teoh. 2002. Fabrication of 3D Chitosan Hydroxyapatite Scaffolds Using a Robotic Dispensing System. *Materials Science and Engineering C*. 20: 35-42
6. Serre, CM; M Papillard; P Chavassieux; G Boivin. 1993. In Vitro Induction of A Calcifying Matrix by Biomaterials Constituted of Collagen and/or Hydroxyapatite: An Ultrastructural Comparison of Three Types Of Biomaterials. *Biomaterials*. 14: 97-106.
7. Wang, YX; JL Robertson; WB Spillman; RO Claus. 2004. Effects of the Chemical Structure and the Surface Properties of Polymeric Biomaterials on Their Biocompatibility.

- Pharmaceutical Research*. Volume 21, nomor 8, halaman: 1363-1372.
8. Li, Jin; Jun Cai; Lihong Fan. 2008. Effect of Sonolysis on Kinetics and Physicochemical Properties of Treated Chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*. Volume 109, halaman: 2417-2425.
9. Prabakaran, K; A Balamurugan; S Rajeswari. 2005. Development of Calcium Phosphate Based Apatite From Hen's Eggshell. *Bulletin Material Science*. Halaman: 115-119.
10. Indriani, Arista; Aminatun; Siswanto. 2014. Upaya Meningkatkan Kuat Tekan Komposit HA-Kitosan sebagai Kandidat Aplikasi Impian Tulang Kortikal. *Jurnal Fisika dan Terapannya*. Volume 2, nomor 3, halaman: 1-15.
11. Venkatesan, Jayachandran and Se-Kwon Kim. 2010. Chitosan Composites for Bone Tissue Engineering—An Overview. *Marine Drugs*. Volume 8, halaman: 2252-2266.
12. Gou, *et al.* 2014. Comparison of in-Situ and ex-Situ Methods for Synthesis of Two-Photon Polymerization Polymer Nanocomposites. *Polymers*. Volume 7, page: 2037-2055.
13. Trisnawati, Mayenata; Djony Izak R; Siswanto. 2014. Sintesis dan Karakterisasi Bone Graft Hidroksiapatit-Alginat dengan Metode Ex-Situ. *Jurnal Fisika dan Terapannya*. Volume 2, Nomor 3, Halaman: 47-56.
14. Nurhayati; Tazwir dan Murniyati. 2013. Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Larut Asam dari Kulit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *JPB Kelautan dan Perikanan* Vol. 8 No. 1: 85–92.
15. Packham, D.E. 2005. *Handbook of Adhesion*. Second Edition. Chichester, John Wiley & Sons Ltd.
16. Jones, R. M. 1999. *Mechanic of Composite Materials*. Second edition. Philadelphia, Taylor and Francis.
17. Matsuri; Mikrajuddin dan Khairurrijal. 2010. Efektivitas *Polyvinyl Acetate (PVAc)* Sebagai Matriks pada Komposit Sampah. *Berkala Fisika*. Volume 13. Nomor 02. Halaman 61-66.
18. Lestari, Astri. 2009. Sintesis dan Karakterisasi Komposit Apatit-Kitosan dengan Metode In-Situ dan Ex-Situ. *Skripsi*. Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
19. Hillig, WB; Choi S; Murtha S. 2008. *An Open-Pored Gelatin/Hidroxyapatite Composite as a Potential Bone Substitute*. *J. Mater Sci: Mater Med* 19: 11-17.
20. Korkusuz P, Korkusuz F, 2004. *Hard Tissue-Biomaterial Interactions in Biomaterial in Orthopedics*. Yaszemski MJ, Trantolo DJ, Lewandrowski KW editor, Marcel Dekker, Inc.