

Sintesis dan Karakterisasi *Bone Graft* dari Komposit Hidroksiapatit/Kolagen/Kitosan (HA/Coll/Chi) dengan Metode *Ex-Situ* sebagai Kandidat Implan Tulang

Synthesis and Characteritition of *Bone Graft* from Hydroxyapatite/Collagen/Chitosan (HA/Coll/Chi) Composite By *Ex-Situ* Method As A Bone Implant Candidates

Muslimatul Khoiriyah dan Sari Edi Cahyaningrum*

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
State University of Surabaya
Jl. Ketintang Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

Corresponding author, email: saricahyaningrum@unesa.ac.id

Abstrak. Kasus cacat/kerusakan pada tulang (fraktur) semakin hari semakin meningkat. Namun, bone graft yang digunakan untuk kasus-kasus fraktur tidak dapat memenuhi kebutuhan bone graft yang terus meningkat. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuat bone graft yang dapat digunakan sebagai implan tulang dari komposit HA/Coll/Chi dengan variasi komposisi yang sesuai pada tulang manusia yaitu 7:1:2 ; 7:1,5:1,5 dan 7:2:1. Bone graft hasil sintesis kemudian dikarakterisasi sifat fisika dan kimianya yaitu gugus fungsi (FTIR), morfologi permukaan (SEM), fasa, ukuran kristal dan derajat kristalinitas (XRD). Hasil penelitian menunjukkan bahwa karakteristik kimia yang meliputi gugus fungsi dari ketiga komposit HA/Coll/Chi menunjukkan bahwa ketiga komposit yang dihasilkan memiliki gugus fungsional $-OH$, $-PO_4^{3-}$ dan $-CO_3^{2-}$ yang merupakan gugus khas milik hidroksiapatit serta gugus $-NH_2$ dan $C=O$ dari kitosan dan kolagen, hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi ikatan antara hidroksiapatit, kolagen dan kitosan. Hasil karakterisasi dengan menggunakan XRD menunjukkan bahwa fasa dari ketiga komposit yang dihasilkan berupa hidroksiapatit, apatit karbonat tipe-A (AKA) dan apatit karbonat tipe-B (AKB). Karakteristik fisika dari komposit HA/Coll/Chi yang berupa morfologi permukaan menunjukkan bahwa ketiga komposit berupa butiran halus dan mengandung pori-pori dengan bentuk bulat dengan ukuran yang tidak sama dan terdistribusi tidak merata. Komposit HA/Coll/Chi dengan perbandingan komposisi massa 7:1:2 memiliki derajat kristalinitas terendah yaitu 70,4417%, dengan ukuran rata-rata kristal 46,9950 nm. Komposit HA/Coll/Chi dengan perbandingan komposisi massa 7:1,5:1,5 memiliki derajat kristalinitas 89,2244% dengan ukuran rata-rata kristal 46,1548 nm sedangkan komposit HA/Coll/Chi dengan perbandingan komposisi massa 7:2:1 memiliki derajat kristalinitas tertinggi yaitu 92,2250% dengan ukuran rata-rata kristal 61,3035 nm.

Kata kunci : Komposit Hidroksiapatit/Kolagen/Kitosan, bone graft, *ex-situ*.

Abstract. Defect or damage on bone cases (fracture) increases day by day. However, bone graft which is used as bone material substitution to resolve fracture can not suffice the increasing needs. Aim of this research is to make bone graft which can be used as implant bone from composite HA/Coll/Chi with appropriate human bone composition variations 7:1:2; 7:1.5:1.5 and 7:2:1. Bone graft synthesis was results characterized with group function (FTIR), morphology surface (SEM), phase , crystal size and crystallinity (XRD). The results showed that chemical characteristics which is group function from three composite, HA/Coll/Chi, showed that were have functional group $-OH$, $-PO_4^{3-}$ and $-CO_3^{2-}$ which is typically property group of hydroxyapatite and $-NH_2$ and $C=O$ from chitosan and collagen. It shows that there has been bond between hydroxyapatite, collagen and chitosan. Characterization result by XRD showed the phase from three resulting composite are hydroxyapatite, apatite carbonate type-A (AKA) and apatite carbonate type-B (AKB). Physically characteristics which is morphology surface from composite HA/Coll/Chi showed that the three composite form smooth granules and contain pores with round shape with different sizes and deos not distributed equally. Composite HA/Coll/Chi with mass composition comparison 7:1:2 has the lowest crystallinity, it is 70.4417% and 46.9950 nm of average size of crystal. Composite HA/Coll/Chi with mass composition comparison 7:1.5:1.5 has 89,2244% of crystallinity and average size of crystal is 46,1548 nm, while composite HA/Coll/Chi with comparison composition mass 7: 2: 1 has highest crystallinity, it has 92.2250% and average size of crystal is 61.3035 nm.

Keywords: Composite Hydroxyapatite/Collagen/Chitosan, bone graft, *ex-situ*

PENDAHULUAN

Kasus cacat/kerusakan pada tulang (fraktur) semakin hari semakin meningkat. Namun, yang menjadi permasalahan adalah *bone graft* yang digunakan untuk kasus-kasus fraktur tidak dapat memenuhi kebutuhan *bone graft* yang terus meningkat. Oleh karena itu, dicari suatu alternatif yang dapat digunakan untuk menyembuhkan tulang secara cepat dan tepat yaitu menggunakan *bone graft*.

Bone graft adalah bahan pengganti tulang yang dapat dimanfaatkan untuk rehabilitasi kerusakan tulang setelah melalui proses tertentu. *Bone graft* dapat digunakan untuk memperbaiki tulang yang rusak (*fraktur*) serta sebagai penyambung untuk mencegah pergeseran tulang. Bahan *bone graft* sintesis adalah suatu biomaterial yang memiliki sifat *bioactive* (mengakibatkan pembentukan sebuah ikatan kimia langsung ketulang), *osteointegration* (mengakibatkan adanya ikatan yang kuat antara tulang dengan implan), *osteoconductive* (menjadi tempat pertumbuhan tulang baru), *biocompatible* (cocok dengan tulang), *bioresorbable* (permukaannya bisa ditumbuhi jaringan) [1], memiliki pori sehingga ikatan yang lebih baik dengan jaringan dapat diperoleh serta tidak bersifat toksik.

Bahan yang memenuhi persyaratan untuk menjadi *bone graft* sintesis adalah hidroksiapatit. Hidroksiapatit adalah senyawa anorganik penyusun tulang dan gigi yang memiliki rumus molekul $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Hidroksiapatit memiliki kekurangan bila digunakan sebagai implan tulang yaitu rapuh. Supangat (2017) telah melakukan sintesis dan karakterisasi hidroksiapatit dari cangkang kepiting (*scylla serrata*) dengan menggunakan metode pengendapan basah dan dari penelitian ini didapatkan bahwa kekuatan tekan dari hidroksiapatit yang berasal dari cangkang kepiting adalah sebesar 56,92 MPa [2]. Kekuatan tekan ini terlalu rendah apabila dimanfaatkan untuk implan tulang sehingga pada penelitian ini hidroksiapatit dikompositkan dengan kolagen

dan kitosan. Kolagen akan memberikan sifat fleksibel dan lentur sedangkan kitosan akan memberikan pori sehingga *bone graft* yang dihasilkan dapat dilewati oleh jaringan tubuh dan proses rehabilitasi tulang pun dapat terjadi.

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menghasilkan *bone graft* sintetik, satu diantaranya adalah penelitian yang dilakukan oleh Darwis dan Yessy yang mensintesis *bone graft* dari komposit hidroksiapatit/PVA/PVP/kitosan. Dari hasil sintesis ini dapat diketahui bahwa ukuran kristalit yang dihasilkan berkisar antara 50-100 nm [3]. *Bone graft* dengan ukuran kristal nanometer lebih mudah diserap oleh tubuh karena memiliki luas permukaan yang lebih besar.

Pada penelitian ini dilakukan sintesis *bone graft* dari komposit HA/Coll/Chi dengan variasi massa 7:1:2 ; 7:1,5:1,5 dan 7:2:1 dengan menggunakan metode *ex-situ*. Variasi massa ini disesuaikan pada struktur tulang yang terdiri dari 69% komponen anorganik yang berupa material hidroksiapatit (99%), 22% komponen organik yang berupa kolagen tipe I dan glikosaminoglikan serta 9% air. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik kimia yang meliputi gugus fungsi dan fasa dari kristal yang dihasilkan serta untuk mengetahui karakteristik fisika yang meliputi ukuran kristal dan derajat kristalinitas dan morfologi permukaan dari *bone graft* hasil sintesis.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan adalah peralatan gelas, *magnetic stirrer*, neraca analitik, *stopwatch*, lemari pendingin dan *freeze dry*. Instrument yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Fourier transform infrared* (FTIR), *X-Ray Diffraction* (XRD) dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Bahan

Bahan yang digunakan adalah tulang sapi, Na_2HPO_4 1M, asam asetat 5% (v/v), kitosan udang, kolagen sapi, aquademineral dan *aluminium foil*.

Prosedur Penelitian

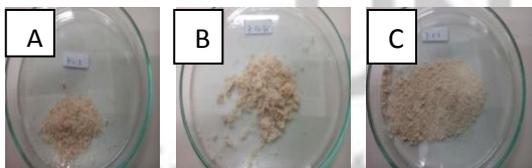
Sintesis Komposit HA/Coll/Chi

Sintesis komposit HA/Coll/Chi modifikasi metode Kurniasari (2016) [4] :

- 1) Pembuatan Larutan Kitosan
Sebanyak 0,8 g kitosan dilarutkan dalam 40 mL asam asetat 5% (v/v).
- 2) Sintesis komposit hidroksiapatit-kitosan
Sebanyak 5,6 g hidroksiapatit ditambahkan dalam 20 mL aquademineral
- 3) Sintesis komposit HA/Coll/Chi
Sebanyak 1,6 g kolagen yang telah dilarutkan dalam 10 mL aquademineral kemudian ditambahkan tetes demi tetes ke dalam larutan kitosan-hidroksiapatit yang telah dibuat. Komposit HA/Coll/Chi dinetralkan dengan Na_2HPO_4 1M hingga pH 7 dan dibilas dengan aquademineral kemudian dibekukan dan diliofilisasi menggunakan *freeze dry* untuk memperoleh pori pada *bone graft*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis komposit HA/Coll/Chi dengan menggunakan metode *ex-situ* menghasilkan komposit yang berwarna putih kekuningan.

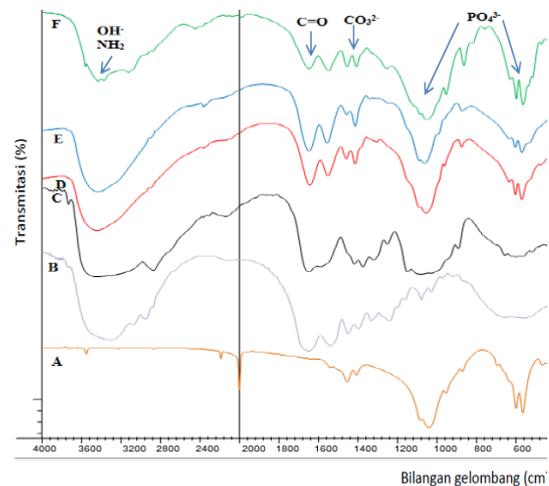


Gambar 1. Komposit HA/Coll/Chi dengan variasi komposisi 7:1:2 (A), 7:1,5:1,5 (B) dan 7:2:1 (C)

ANALISA GUGUS FUNGSI

Analisis gugus fungsi dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional *bone graft* yang telah dihasilkan. Dari hasil analisis gugus fungsi ini juga dapat

digunakan untuk melihat kemungkinan terjadinya reaksi pada komposit yang dihasilkan. Terjadinya reaksi ini ditandai dengan adanya pergeseran, kenaikan ataupun penurunan intensitas serta hilang atau munculnya spektra baru. Hasil analisis gugus fungsi ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Komposit HA/Coll/Chi dengan variasi komposisi hidroksiapatit tulang sapi (A), Kolagen sapi (B), Kitosan udang (C), 7:1:2 (D), 7:1,5:1,5 (E) dan 7:2:1 (F)

Tabel 1. Spektra hidroksiapatit, kolagen, kitosan dan komposit HA/Coll/Chi

Gugus Fungsional	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)						
	HA Bank Jaringan	HA tulang sapi	Kitosan	Kolagen	Komposit 7:2:1	Komposit 7:1,5:1,5	Komposit 7:1:2
-PO ₄ ³⁻	961,25	961,25	-	-	959,32	995,96	961,25
	473,29	471,36	-	-	-	-	-
	1049,97	1048,04	-	-	1053,82	1063,47	1053,75
	1092,40	1090,47	-	-	1090,47	1090,47	1090,47
-CO ₃ ²⁻	571,65	571,65	-	-	569,72	569,72	571,65
	1420,27	1414,49	-	-	1412,56	1414,49	1414,49
-OH	1460,78	1462,70	-	-	1458,85	1456,92	1458,85
	602,51	604,44	-	-	602,51	604,44	602,51
-NH ₂	1993,09	2016,24	3391,39	3291,10	-	-	-
	3572,68	3570,76	-	-	3443,46	3426,10	3456,96
-C=O	-	-	1595,78	1649,79	1653,64	1647,86	1645,93

Adanya interaksi pada komposit HA/Coll/Chi dapat dibuktikan dengan melihat hasil analisis gugus fungsi. Dari Tabel 1 terlihat bahwa komposit HA/Coll/Chi mengandung gugus -OH, -PO₄³⁻ dan -CO₃²⁻ yang merupakan gugus

fungsi milik hidroksiapatit serta gugus $-NH_2$ dan $C=O$ dari kitosan dan kolagen. Interaksi komposit HA/Coll/Chi terjadi ketika ion Ca^{2+} dari hidroksiapatit berikatan secara kovalen koordinasi dengan gugus $-NH_2$ dari kitosan dan gugus $-COOH$ dari kolagen.

ANALISA FASA KRISTAL, UKURAN KRISTAL DAN DERAJAT KRISTALINITAS

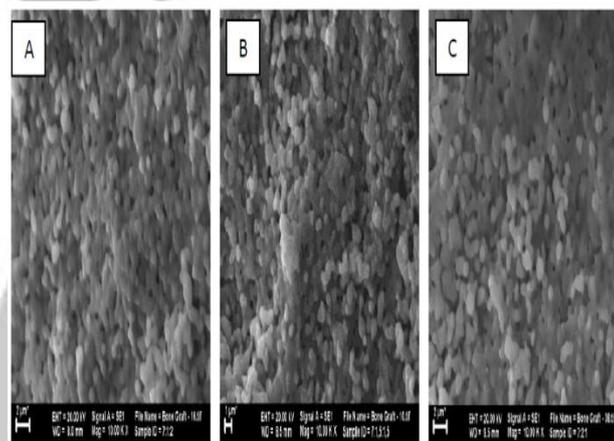
Analisa fasa dilakukan untuk mengetahui fasa dari komposit HA/Coll/Chi yang telah dihasilkan. Analisa fasa dilakukan dengan membandingkan difraktogram hasil XRD dari komposit HA/Coll/Chi dengan *database Joint Committee on Powder Diffraction Standards* (JCPDS). Hasil XRD menunjukkan bahwa komposit HA/Coll/Chi yang dihasilkan memiliki fasa hidroksiapatit, apatit karbonat tipe-A (AKA) dan apatit karbonat tipe-B (AKB) dengan fasa yang dominan adalah hidroksiapatit. Bukti adanya fasa AKA dan AKB ini memperkuat dugaan hasil karakterisasi dengan FTIR dimana dari analisa gugus fungsional diketahui terdapat pita absorpsi dari gugus karbonat pada bilangan gelombang sekitar 1400 cm^{-1} . Adanya gugus karbonat disebabkan karena komposit berinteraksi dengan gas karbon dioksida yang ada di atmosfer.

Pada komposit HA/Coll/Chi dengan komposisi massa 7:1:2 memiliki derajat kristalinitas sebesar 70,4417% dengan ukuran rata-rata kristal sebesar 46,9950 nm. Pada komposit HA/Coll/Chi dengan perbandingan massa 7:1,5:1,5 memiliki derajat kristalinitas sebesar 89,2244% dengan ukuran rata-rata kristal sebesar 46,1548 nm sedangkan komposit HA/Coll/Chi dengan perbandingan massa 7:2:1 memiliki derajat kristalinitas sebesar 92,2250% dengan ukuran rata-rata kristal sebesar 61,3035 nm. Derajat kristalinitas yang rendah menandakan semakin kuatnya interaksi yang terjadi pada komposit HA/Coll/Chi. Ukuran kristal yang cocok untuk diaplikasikan sebagai implan tulang adalah kurang dari 100 nm karena ukuran kristal dalam nanometer akan

memperkuat kontak antara implan dengan jaringan tulang sehingga proses regenerasi tulang dapat berjalan cepat.

ANALISA MORFOLOGI PERMUKAAN

Analisa morfologi permukaan dilakukan untuk mengetahui morfologi dari komposit HA/Coll/Chi dengan variasi massa. Analisa morfologi permukaan dilakukan dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* dan hasilnya ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Morfologi permukaan komposit HA/Coll/Chi7:1:2 (A); 7:1,5:1,5 (B) dan 7:2:1 (C)

Dari gambar 3 terlihat bahwa komposit HA/Coll/Chi yang dihasilkan memiliki morfologi permukaan berupa butiran-butiran halus dengan ukuran yang seragam dan terdapat pori-pori dipermukaannya. Pori-pori yang dihasilkan berbentuk bulat dengan ukuran yang tidak sama serta tidak terdistribusi merata. Morfologi permukaan dari material yang sesuai untuk digunakan sebagai implan berupa butiran halus dengan ukuran yang seragam karena implan yang berupa butiran halus dengan ukuran seragam memiliki luas permukaan yang lebih besar sehingga ikatan yang kuat antara implan dengan jaringan manusia bisa diperoleh. Pori-pori yang terdapat pada komposit berfungsi untuk tempat masuknya jaringan kedalam implan agar proses regenerasi tulang dapat terjadi.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa karakteristik kimia yang meliputi gugus fungsi dari ketiga komposit HA/Coll/Chi menunjukkan bahwa ketiga komposit yang dihasilkan memiliki gugus fungsional $-OH$, $-PO_4^{3-}$ dan $-CO_3^{2-}$ yang merupakan gugus milik hidroksiapatit serta gugus $-NH_2$ dan $C=O$ dari kitosan dan kolagen, hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi ikatan antara hidroksiapatit, kolagen dan kitosan. Hasil karakterisasi dengan menggunakan XRD menunjukkan bahwa fasa dari ketiga komposit yang dihasilkan berupa hidroksiapatit, apatit karbonat tipe-A (AKA) dan apatit karbonat tipe-B (AKB). Karakteristik fisika dari komposit HA/Coll/Chi yang berupa morfologi permukaan menunjukkan bahwa ketiga komposit berupa butiran halus dan mengandung pori-pori dengan bentuk bulat dengan ukuran yang tidak sama dan terdistribusi tidak merata. Komposit HA/Coll/Chi dengan perbandingan komposisi massa 7:1:2 memiliki derajat kristalinitas terendah yaitu 70,4417%, dengan ukuran rata-rata kristal 46,9950 nm. Komposit HA/Coll/Chi dengan perbandingan komposisi massa 7:1,5:1,5 memiliki derajat kristalinitas 89,2244% dengan ukuran rata-rata kristal 46,1548 nm sedangkan komposit HA/Coll/Chi dengan perbandingan komposisi massa 7:2:1 memiliki derajat kristalinitas tertinggi yaitu 92,2250% dengan ukuran rata-rata kristal 61,3035 nm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Suryadi. 2011. Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dengan Proses Pengendapan Kimia Basah. *Skripsi*. Jakarta: UI.
2. Supangat, Dicky dan Sari Edi Cahyaningrum. 2017. Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Cangkang Kepiting (*Scylla serrata*)

- dengan Metode Pengendapan Basah. *UNESA Journal of Chemistry* 6(3): 25-32.
3. Darwis, Darmawan dan Yessy. 2008. Sintesis dan Karakterisasi Komposit Hidroksiapatit (HA) sebagai Graft Tulang Sintetik. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, 4(2): 143-153.
4. Kurniasari, Meita dan Sari Edi Cahyaningrum. 2016. Sintesis dan Karakterisasi Komposit hidroksiapatit/kolagen/kitosan (HA/Coll/Chi) dengan Metode *Ex-situ*. *UNESA Journal of Chemistry* 5(3): 114-118.