

**SINTESIS DAN KARAKTERISASI HIDROKSIAPATIT-KOLAGEN-KITOSAN
SEBAGAI BAHAN MATERIAL BONEGRAFT MENGGUNAKAN
METODE EX-SITU**

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF HYDROXYAPATITE-COLLAGEN-
CHITOSAN AS BONEGRAFT MATERIALS USING EX-SITU METHODS**

*Muhamad Iham Fadila Ramadhan 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 : saricahyaningrum@unesa.ac.id

Abstrak. Komposit hidroksiapatit-kolagen-kitosan sebagai bahan material bonegraft telah berhasil disintesis menggunakan metode ex-situ. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh komposit terhadap karakteristik kimia dari komposit. Komposit disintesis dengan perbandingan massa 7:2:1. Perbandingan tersebut disesuaikan dengan komposisi tulang manusia. Karakterisasi kimia dilakukan dengan uji FTIR yang menunjukkan gugus OH⁻, PO₄³⁻, dan CO₃²⁻ yang berasal dari hidroksiapatit, serta -NH₂, C=O dan C-H yang berasal dari kolagen dan kitosan beserta pergeserannya serta menggunakan XRD yang menunjukan fasa hidroksiapatit, fasa apatit karbonat dan kitosan pada komposit. Fasa kolagen tidak dapat teramati karena tumpang tindih dengan fasa kitosan.

Kata Kunci : Hidroksiapatit, kolagen, kitosan, FTIR, XRD

Abstract composite of hydroxyapatite-collagen-chitosan as bone graft materials has been synthesized used ex-situ method. The main of this reason is to determine the chemical characteristics and physics characteristics from the composites. The composites being synthetized with mass comparision 7:2:1. The mass comparsion is adjusted with human bone composition. The chemical characteristics using FTIR indicates ribbon adsorption OH⁻, PO₄³⁻ and carbonate from hydroxyapatite, also -NH₂, C=O and C-H from collagen and chitosan along with the peak shifting. Also instrument XRD indicates phase hydroxyapatite, apatite carbonate and chitosan from composite. The collagen phase cannot be identified because it is overlapping with chitosan.

Keywords : Hydroxyapatite ,collagen ,chitosan, FTIR, XRD

PENDAHULUAN

Tulang merupakan penopang tubuh manusia. Tulang didominasi oleh senyawa hidroksiapatit yang terdiri dari kalsium dan fosfat [1] dan merupakan gabungan material organik-anorganik alami dengan struktur yang kompleks [2]. Tulang juga berperan sebagai kerangka yang memberikan bentuk tubuh, melindungi bagian-bagian tubuh yang vital, dan menahan berat. Peran tulang begitu penting, namun jika terdapat bagian tulang yang rusak, maka dapat mengganggu kehidupan manusia.

Penyembuhan pada tulang pada umumnya digunakan dengan pemasangan pen. Tetapi, metode pemasangan pen membutuhkan operasi berulang, serta dapat menyebabkan trauma pada pasien. Solusi penyembuhan fraktur tulang yang dapat dilakukan adalah menggunakan bahan alam. Bahan alam tersebut dapat disebut sebagai *bonegraft*. *Bonegraft* adalah bagian jaringan yang diambil dari satu tempat dan ditransplantasikan ke tempat lain, baik pada individu yang sama atau yang berlainan [3]. Dilihat dari asal donornya,

penyembuhan dengan *bonegraft* dapat dibagi menjadi tiga yakni *autograft*, *allograft*, dan *xenograft* [2]. *Autograft* merupakan donor yang berasal dari dirinya sendiri, tetapi terbatasnya massa tulang dan terjadinya kecacatan struktur menjadi kelemahan dalam metode ini. *Allograft* merupakan implan yang berasal dari individu lain, tetapi kecocokan gen dan penyakit yang dapat ditimbulkan seperti hepatitis menjadi kekurangan dari *allograft*. *Xenograft* merupakan implan yang berasal dari hewan. Metode ini sangat jarang digunakan karena dapat menimbulkan penyakit seperti kanker tulang dan rabies. Material yang digunakan pada implan harus memiliki syarat *biocompatible*, *osteokonduktif* dan tidak bersifat *biostable* karena penggunaan dari material ini akan digunakan dalam jangka panjang dan tanpa dilakukan operasi berulang-ulang [4]. Material tersebut dapat tersusun atas hidroksiapatit-kolagen-kitosan. Hidroksiapatit merupakan komposisi anorganik utama pada tulang manusia. Penelitian Supangat (2017) telah mensintesis hidroksiapatit dari cangkang kepiting dan terdapat fasa $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Fasa tersebut menandakan bahwa hidroksiapatit belum terbentuk dengan sempurna, sehingga diperlukan bahan utama yang mengandung hidroksiapatit lebih tinggi. Pada penelitian ini hidroksiapatit diperoleh dari tulang sapi, karena tulang sapi mengandung komposisi anorganik yang terdiri dari 93% hidroksiapatit [6]. Kolagen merupakan komposisi organik utama pada tulang manusia. Kolagen yang digunakan merupakan kolagen tipe I. Sedangkan kitosan merupakan penghasil pori pada komposit dan digunakan untuk merangsang tulang rawan dalam pembentukan tulang baru [7]. Dalam penelitian ini akan disintesis komposit hidroksiapatit-kolagen-kitosan dengan komposisi 7:2:1 menggunakan metode *ex-situ*. Komposisi tersebut sesuai dengan komposisi tulang manusia yang terdiri dari

70% anorganik, 20% organik dan sisanya sel *osteoblast* dan air [8]. Kemudian, komposit yang dihasilkan akan dikarakterisasi imia berupa gugus fungsi yang dihasilkan menggunakan FTIR dan fasa yang dihasilkan menggunakan XRD.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi gelas kimia, erlenmeyer, magnetic stirrer, pH meter (Mi 150), dan neraca analitik (OHAUS), *Fourier Transform Infrared Spektrophotometer* (Shimadzu 8021), *X-Ray Diffraction* (Shimadzu XRD 6000).

Bahan

Bahan yang digunakan meliputi hidroksiapatit yang diperoleh dari bank jaringan RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan tulang sapi, kolagen tipe I yang berasal dari PT. Nitta Gellatin, kitosan yang bersal dari PT. Cathay Indo Chitin (derajat deasetilasi 85%), H_3PO_4 2%, CH_3COOH 2%, NaOH 1 M, aquademin.

PROSEDUR PENELITIAN

a. Sintesis Hidroksiapatit

Tulang sapi dipotong-potong kemudian dicuci hingga bersih sambil dihilangkan lemak dan sum-sum yang menempel pada tulang sapi dengan cara direbus selama 6 jam. Tulang sapi dicuci kembali untuk menghilangkan sisa lemak yang menempel Tulang sapi kemudian dijemur dibawah sinar matahari dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga kering. Tulang sapi yang sudah kering kemudian dilakukan proses kalsinasi. Tulang sapi ditimbang sebelum dikalsinasi, kemudian dikalsinasi dengan suhu 900°C selama 6 jam untuk menghasilkan hidroksiapatit [6]. Kemudian tulang sapi ditimbang kembali untuk mengetahui rendemen yang dihasilkan. Setelah itu dilakukan pengujian menggunakan FTIR dan XRD.

b. Sintesis hidroksiapatit kolagen kitosan

Sebanyak 1,75 gram hidroksiapatit dilarutkan dalam 10 mL H_3PO_4 2% (v/v). Larutan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai homogen. Sebanyak 0,5 gram kolagen dilarutkan menggunakan 10 mL CH_3COOH 2% (v/v) hingga larut. Kemudian, sebanyak 0,25 gram kitosan dilarutkan menggunakan 10 mL CH_3COOH 2% (v/v) menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut. Hidroksiapatit yang telah larut kemudian ditambahkan kedalam kitosan secara tetes demi tetes sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah homogen, dilanjutkan dengan penambahan kolagen kedalam campuran hidroksiapatit-kitosan secara tetes demi tetes sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah homogen, komposit di netralkan menggunakan NaOH 1 M secara tetes demi tetes hingga pH 7. Komposit hidroksiapatit-kolagen-kitosan yang dihasilkan dilakukan *Freeze-Dry*

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hidroksiapatit yang dihasilkan dari tulang sapi berbentuk serbuk berwarna putih. Sintesis komposit hidroksiapatit kolagen kitosan menggunakan metode *ex-situ* menghasilkan komposit berwarna kuning pucat (Gambar 1)

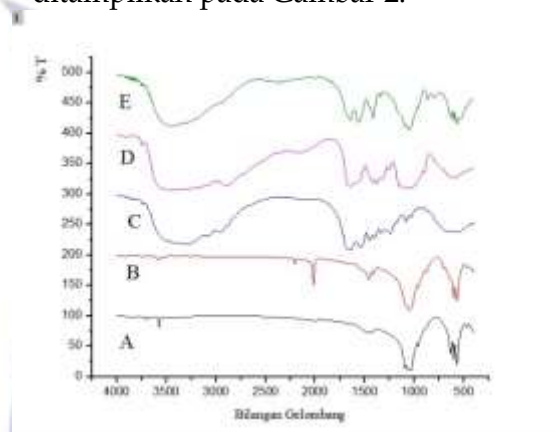


Gambar 1. Hidroksiapatit tulang sapi (A) dan komposit hidroksiapatit-kolagen-kitosan (B)

a. Hasil Analisis Gugus Fungsional

Analisis gugus fungsional menggunakan FTIR untuk

mengetahui gugus fungsi yang terdapat didalam hidroksiapatit dan komposit hidroksiapatit-kolagen-kitosan. Analisis ini untuk mengetahui reaksi yang terjadi pada komposit yang ditandai dengan pergeseran, kenaikan, penurunan intensitas dari *peak* yang dihasilkan pada area bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Hasil analisis FTIR sampel ditampilkan pada Gambar 2.

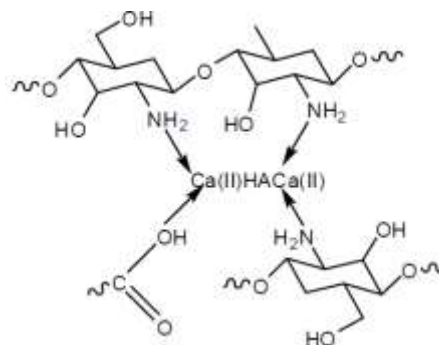


Gambar 2. FTIR Hidroksiapatit bank jaringan (A), hidroksiapatit tulang sapi (B), kolagen (C), kitosan (D), dan komposit hidroksiapatit-kolagen-kitosan (E)

Gambar 2 menunjukkan hasil FTIR dari hidroksiapatit, kolagen, kitosan dan komposit. Hasil analisis FTIR hidroksiapatit bank jaringan (Gambar 2.A), terdapat gugus OH⁻ muncul pada bilangan gelombang 3435,83 cm^{-1} , dan gugus PO_4^{3-} muncul pada bilangan gelombang 571,18 cm^{-1} dan 1050,33 cm^{-1} . Jika dibandingkan dengan hidroksiapatit tulang sapi (Gambar 2 B) gugus OH⁻ muncul pada 3570,76 cm^{-1} dan terdapat pada 2016 cm^{-1} . Gugus OH tersebut hadir karena hidroksiapatit dapat menyerap air karena menjadi lebih higroskopis [9]. gugus PO_4^{3-} muncul pada 571,55 cm^{-1} dan pada 1048,04 cm^{-1} . Terdapat perbedaan karbonat pada bilangan gelombang 1414,49 cm^{-1} . Gugus karbonat tersebut dapat berasal dari

CO₂ diudara dan fasa apatit karbonat pada saat proses sintesis dilakukan. Pada hasil analisis FTIR milik kolagen (Gambar 2.C) terdapat serapan pada bilangan gelombang dari gugus C=O yang merupakan amida I dari protein[10]. Amida I ditemukan pada bilangan gelombang 1665,22 cm⁻¹ serta gugus -NH pada bilangan gelombang 3291,10 cm⁻¹. Pada hasil FTIR milik kitosan (Gambar 2.D) terdapat serapan gugus -OH dan gugus -NH yang merupakan gugus utama dari kitosan sesuai yang dilaporkan [7]. Tumpang tindih keduanya menyebabkan terjadi pelebaran nilai intensitas pada daerah tersebut. Kemudian gugus C-H terbaca pada 1379,77 cm⁻¹, gugus amida I pada 1653,64 cm⁻¹ dan kemudian terdapat rentangan C-O pada bilangan gelombang 1088,54 cm⁻¹. Pada komposit hidroksiapatit kolagen kitosan (Gambar 2.E) terlihat terdapat gugus fungsi berupa gugus OH, PO₄³⁻ dan gugus CO₃²⁻ yang berasal dari hidroksiapatit, serta gugus -NH, C=O, C-H yang berasal dari kolagen dan kitosan.

Gugus OH hidroksiapatit mengalami tumpang tindih dengan gugus -NH dari kitosan pada bilangan gelombang 3451,89 cm⁻¹ sesuai yang dilaporkan [3]. Kemudian, terjadi ikatan antara hidroksiapatit dengan C=O dari kolagen yang ditandai dengan pergeseran dan pelebaran intensitas pada bilangan gelombang 1642,07 cm⁻¹. Puncak tersebut mengalami pelebaran serta pergeseran bilangan gelombang dikarenakan terjadi ikatan kovalen koordinasi pada keduanya. Pada kolagen juga terjadi ikatan hidrogen dengan gugus OH ataupun NH kitosan.



Gambar 3. Ikatan antara hidroksiapatit-kolagen-kitosan[3]

Pergeseran, kenaikan intensitas yang dihasilkan pada komposit menunjukan bahwa komposit hidroksiapatit-kolagen-kitosan telah berikatan dengan baik.

Analisis Fasa

Untuk Analisis fasa dilakukan menggunakan instrumen XRD. Fasa hidroksiapatit merupakan puncak tertinggi pada hidroksiapatit *bank jaringan* pada sudut 31,8° sesuai JCPDS no 09-0432. Fasa hidroksiapatit juga hadir pada hasil XRD tulang sapi pada sudut 31,8° serta terdapat fasa apatit karbonat tipe A pada sudut 32,89° sesuai dengan JCPDS no.35-0180. Pada Komposit hidroksiapatit-kolagen-kitosan, kedua fasa tersebut hadir pada komposit hidroksiapatit-kolagen-kitosan pada sudut 31,75° dan pada sudut 32,89°. Adanya karbonat dalam tulang manusia tidak membahayakan tulang manusia, karena komposisi anorganik tulang manusia selain kalsium juga terdapat karbonat [11]. Kitosan hadir pada sudut 10,83°. Untuk puncak kolagen tidak dapat teramati karena bergabung dengan puncak yang dimiliki oleh kitosan[12].

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Karakteristik berupa gugus fungsional berupa OH, PO₄³⁻ dan CO₃²⁻

dari hidroksiapatit dan gugus C=O, -NH₂ dan C-H dari kolagen dan kitosan telah menunjukkan bahwa ketiganya membentuk ikatan.

2. Pada karakterisasi fasa menggunakan XRD, hadir fasa hidroksiapatit, fasa karbonat berupa apatit karbonat A (AKA) dan kitosan pada komposit.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]Dahlan, K., & Izman. (2006). Studi Morfologi, Komposisi dan Kekerasan Tulang Manusia. *Journal IPB*.
- [2]Muntamah. (2011). *Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Limbah Cangkang Kerang Darah (Anadara granosa,sp)* -Tesis tidak diterbitkan. Bogor: PPs Institut Pertanian Bogor.
- [3]Cahyaningrum, Sari E, & Kurniasari, M. (2016). Sintesis dan Karakterisasi Komposit Hidroksiapatit-Kolagen-Kitosan (HA/Coll/Chi) dengan metode Ex-situ. *Unesa Journal of Chemistry Vol 5 No 3*, 114-118.
- [4]Lakhmi, S. N., & Laurencin, C. T. (2007). Biodegradable Polymers as Biomaterials. *Progress In Polymer Science*, 762-798.
- [5]Cahyaningrum, Sari E, & Dicky, Supangat. (2017). Sintesis dan karakterisasi Hidroksiapatit dari Cangkang Kepiting (scylla serrata) dengan Metode Pengendapan Basah. *Unesa Journal Chemistry*, 143-149.
- [6]Kusrini, E. A., Pudjiastuti, S., & Astutiningsih. (2012). Preparation of Hydrxyapatite from Bovine bone by Combination Methods of Ultrasonic and Spray Drying. *Bio-Chemical and Environmental Sciences*, 47-51
- [7]Yildirim, O. (2004). *Preparation and Characterization of Chitosan/ Calcium Phosphate Based Composite Biomaterials*. Izmir: Izmir Institute of Technology.
- [8]Yochum, T., & Lindsay, J. R. (2005). *Essentials of Skeletal Radiology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- [9]Suryadi. (2011). *Sintesis dan Karakterisasi Biomaterial Hidroksiapatit dengan Proses Pengendapan Kimia Basah*. Skripsi tidak diterbitkan. Jakarta : PPs Universitas Indonesia
- [10]Ichsan, M. Z., Siswanto, & Dyah, H. (2009). Sintesis Komposit Kolagen-Hidroksiapatit Sebagai Kandidat Bone Graft. *Teknobiomedik Unair*.
- [11]Kheirallah, M., & Almeshaly, H. (2016). Bone Graft Substitutes for Bone Defect Regeneration. A Collective Review. *International Journal of Dentistry and Oral Science (IJDOS)*, 247-257
- [12] Cahyaningrum, Sari E, & Muslimatul K, (2018). Sintesis dan Karakterisasi Bone Graft dari Komposit Hidroksiapatit/ Kolagen/Kitosan (HA/Coll/Chi) dengan Metode Ex-Situ sebagai Kandidat Implan Tulang. *Unesa Journal Chemistry Vol 7. (1)*, 25-29