

Pengaruh Perendaman Membran Komposit Hidroksiapatit-Kitosan-Poli(Vinil Alkohol) dalam Larutan *Simulated Body Fluid* (SBF) terhadap Karakteristiknya

Yessy Warastuti dan Darmawan Darwis

Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (PAIR), Badan Tenaga Nuklir Nasional,

Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta 12440

Email: warastuti79@gmail.com

Diterima: 15-Feb-2016 Diperbaiki: 01-Apr-2016 Disetujui: 24-Mei-2016

ABSTRAK

Pengaruh Perendaman Membran Komposit Hidroksiapatit-Kitosan-Poli(Vinil Alkohol) dalam Larutan *Simulated Body Fluid* (SBF) terhadap Karakteristiknya. Telah dilakukan perendaman membran komposit hidroksiapatit-kitosan-poli(vinil alkohol) dalam larutan *simulated body fluid* (SBF) dengan variasi waktu perendaman. Larutan SBF digunakan untuk menguji bioaktivitas dari biomaterial. Kemampuan material membentuk ikatan dengan tulang dievaluasi dengan memeriksa apatit yang terbentuk pada permukaan material dalam larutan SBF. Karakterisasi setelah perendaman dalam SBF antara lain pengukuran pH larutan perendam, uji sifat mekanis, identifikasi gugus fungsi menggunakan *Fourier Transform Infra Red Spectroscopy* (FTIR) dan analisis struktur morfologi permukaan membran menggunakan mikroskop optik serta *Scanning Electron Microscope* (SEM). Hasil yang diperoleh menunjukkan pH larutan perendam berubah menjadi basa dari semula 7,4 setelah dilakukan perendaman. Hal tersebut dikonfirmasi dengan analisa FTIR kontrol M10-320 (PVA-kitosan) dimana PVA larut seiring dengan bertambahnya waktu perendaman dan menyisakan kitosan yang memiliki gugus NH₂. Uji sifat mekanis menunjukkan pengurangan nilai kekuatan tarik dan perpanjangan putus untuk komposisi M3-323 setelah 12 minggu perendaman, yaitu 41,85% dan 52,54%. Analisis morfologi struktur permukaan membran menunjukkan terbentuknya lapisan apatit sebagai indikator sifat bioaktivitas dari material. Penelitian ini menghasilkan komposisi membran yang prospektif untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai bahan biomaterial untuk aplikasi klinis.

Kata kunci: hidroksiapatit-kitosan-PVA, bioaktivitas, *Simulated Body Fluid* (SBF), membran komposit

ABSTRACT

The Effect of Immersion of Hidroxyapatite-Chitosan-Poly(Vinyl Alcohol) Composite Membranes in Simulated Body Fluid (SBF) Solutions on Their Properties. *The immersion of hydroxyapatite-chitosan-poly(vinyl alcohol) composite membrane in simulated body fluid (SBF) solution had been done. SBF solution was used to analyze the bioactivity of the biomaterials. The ability of the material to bond with the bone was evaluated by examining the apatite's forming on the surface of the material in SBF solution. Characterization after immersion in the SBF included pH of a submersion solution measurement, mechanical testing, identification of functional groups using Fourier Transform Infra Red Spectroscopy (FTIR) and the morphological analysis of membrane surface with optical microscopy as well as Scanning Electron Microscope (SEM). The results showed that pH of the submersion solution changed into base from 7.4 after immersion. This was confirmed by FTIR analysis of membrane M10-320 (PVA-chitosan) that PVA dissolved along with increasing immersion time and left chitosan which has NH₂ group. The mechanical testing showed the reduction of the tensile strength and the elongation of break for membrane M3-323 after 12 weeks of immersion were 41.85% and 52.54%, respectively. The morphological analysis of membrane surface structure showed the formation of apatite layer as an indicator of the bioactivity properties of the material. This study resulted in a prospective membrane composition to be further developed as a biomaterial for clinical applications.*

Keywords: *hydroxyapatite-chitosan-PVA, bioactivity, Simulated Body Fluid (SBF), composite membranes*

PENDAHULUAN

Periodontal adalah jaringan pendukung di sekitar gigi dan berfungsi untuk melekatkan tulang rahang, sehingga gigi tidak terlepas dari *socket*nya. Penyakit pada jaringan periodontal salah satunya adalah gingivitis dan periodontitis yang menimbulkan luka. Sel epitel adalah sel pertama yang bermigrasi ke lokasi luka. Hal tersebut menjadi masalah karena sel epitel dapat mencegah pembentukan tulang. Oleh karena itu, diperkenalkan teknik membran GTR sebagai penghalang untuk mencegah sel-sel epitel dan jaringan gingiva mencapai area dari jaringan yang luka [1]. Contoh aplikasi membran GTR disajikan oleh Tan et al. [2].

Membran GTR dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu membran *resorbable* dan membran *non-resorbable*. Membran *resorbable* atau dapat terserap umumnya berasal dari kolagen, sedangkan membran *non-resorbable* umumnya berasal dari polimer sintetik, seperti *polytetrafluoroethylene* (PTFE). Penggunaan membran dari PTFE memiliki kekurangan, yaitu diperlukan pembedahan berulang untuk mengambil membran yang telah

terpasang, karena sifat membran tersebut inert dan tidak dapat terabsorpsi oleh cairan tubuh [3]. Oleh karena itu, penggunaan membran *resorbable* lebih disukai untuk aplikasi GTR. Beberapa peneliti menggabungkan polimer alam (kolagen atau kitosan) dengan polimer sintetik seperti *poly(lactic acid)* (PLA), *poly(glycolic acid)* (PGA), *poly(lactic-co-glycolic acid)* (PLGA) atau *poly caprolactone* (PCL).

Kolagen dan kitosan adalah dua jenis polimer alam yang sering digunakan dalam *tissue engineering*. Penelitian mengenai kolagen telah banyak dilakukan, tetapi kolagen memiliki beberapa kekurangan diantaranya immunogenitas rendah, sifat mekanik yang kurang baik, dan laju degradasi yang terlalu cepat. Kitosan banyak diteliti karena memiliki sifat biodegradabel, biokompatibel, hidrofilik, non toksik dan memiliki sifat anti mikroba, tetapi kurang fleksibel dan rapuh pada kondisi basah [4]. Pada penelitian sebelumnya, telah dilakukan modifikasi membran kitosan dengan *poli(vinil alcohol)* (PVA) melalui metode *solvent casting* [5] yang menghasilkan membran yang lebih fleksibel atau lentur. Uji sitotoksitas yang dilakukan menunjukkan bahwa membran kitosan-PVA bersifat biokompatibel karena kitosan dan PVA memiliki interaksi ikatan hidrogen yang kuat. Penelitian lain mempelajari komposit kitosan/PVA dan hidroksiapatit (HA) berbentuk *scaffold* melalui teknik elektrospinning [6]. *Scaffold* yang dihasilkan memiliki struktur pori yang terkoneksi dan serat berukuran 100-700 nm. Penambahan HA meningkatkan kekuatan tarik dan modulus dari *scaffold*.

Salah satu persyaratan suatu biomaterial dapat diaplikasikan untuk regenerasi tulang atau implant adalah biomaterial tersebut dapat berikatan kuat dengan jaringan tulang. Oleh karenanya, dibutuhkan suatu proses yang disebut mineralisasi yang dapat dievaluasi secara *in vitro*. Metode pengujian secara *in vitro* dilakukan dengan media larutan *Simulated Body Fluid* (SBF). Larutan SBF adalah larutan buatan yang memiliki komposisi dan konsentrasi ionik yang hampir mirip dengan plasma darah manusia, pertama kali diperkenalkan oleh Kokubo *et al* [7]. Metode tersebut digunakan untuk melihat apakah suatu material dapat bersifat bioaktif. Pada penelitian ini, komposit HA-kitosan-PVA dibuat dalam bentuk membran menggunakan metode yang lebih sederhana, yaitu *film casting* dengan harapan dapat untuk aplikasi periodontal sebagai membran GTR. Pengaruh perendaman membran komposit HA-kitosan-PVA di dalam larutan SBF terhadap pH larutan, sifat mekanis membran dan morfologi permukaan membran komposit akan dievaluasi.

METODOLOGI

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain tulang sapi (*femur/paha*) yang diperoleh dari rumah potong hewan dan kitosan *medical grade* yang diperoleh dari PT Biotech Surindo-Cirebon. Bahan kimia lain seperti PVA, CH₃COOH, NaOH, K₂HPO₄·3H₂O, CaCl₂·2H₂O, NaCl, NaHCO₃, Na₂SO₄, KCl, HCl, MgCl₂·6H₂O dan (HOCH₂)₃CNH₂ diperoleh dari Merck.

Pembuatan Membran Komposit HA-kitosan-PVA

Membran komposit dibuat menggunakan metode *film casting* dengan penguapan pelarut [8]. Serbuk PVA dilarutkan dalam akuades, sedangkan serbuk kitosan dilarutkan dalam asam asetat 1%. Ke dalam suspensi HA, dimasukkan campuran PVA-kitosan, kemudian diaduk dengan pengaduk magnet pada suhu 40°C. Setelah itu dilakukan proses homogenisasi menggunakan *homogenizer*. Variasi komposisi membran diperlihatkan pada Tabel 1. Komposit dicetak dan dikeringkan pada suhu kamar. Setelah membran kering, dilakukan proses gelas dengan NaOH 1M. Membran diiradiasi menggunakan sinar gamma pada dosis 25 kGy.

Tabel 1. Variasi komposisi membran komposit hidroksiapatit-kitosan-PVA

Kode sampel	PVA (%)	Kitosan (%)	Hidroksiapatit (%)
M1-123	1	2	3
M3-323	3	2	3
M5-523	5	2	3
M10-320	3	2	0

Perendaman dalam Larutan SBF

Sebanyak 30 mL larutan SBF dimasukkan ke dalam wadah yang berisi membran komposit. Perendaman dilakukan sampai 12 minggu. Wadah sampel disimpan di dalam oven dengan suhu 37 °C. Setiap satu minggu sekali, dilakukan pemanenan sampel untuk dikarakterisasi dan penggantian larutan perendam (SBF). Kadar pH larutan perendam SBF diukur setiap minggu, sedangkan membran yang telah dipanen/diangkat dari larutan perendam, dikeringkan dengan metode liofilisasi (kering beku) untuk kemudian dilakukan analisis FTIR, mikroskop optik, serta SEM untuk mengetahui morfologi permukaan membran.

Karakterisasi Membran Komposit HA-kitosan-PVA

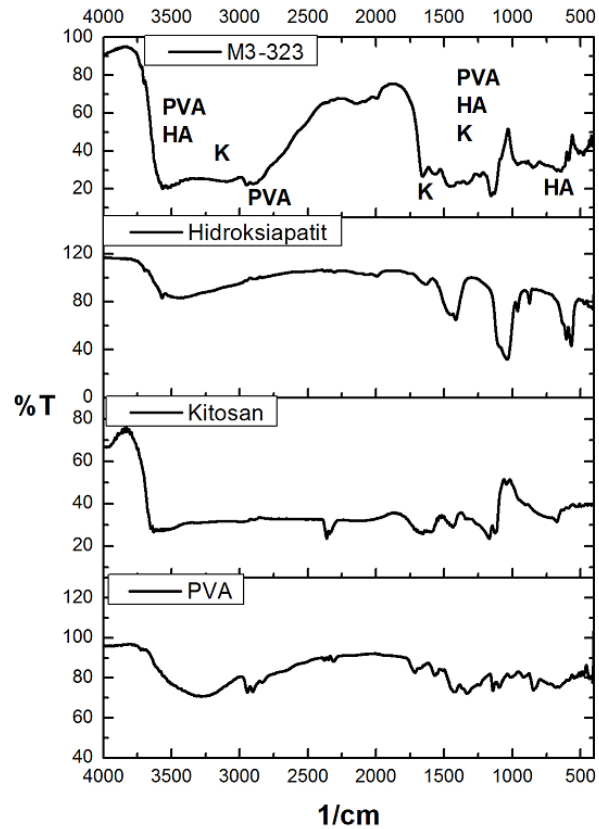
Kadar pH larutan perendam (SBF) diukur sebelum dan setelah perendaman sampel menggunakan pH meter model FG2 (Mettler Toledo, Switzerland). Analisis struktur membran komposit dilakukan menggunakan

Spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red Spectrophotometer* (FTIR) Prestige 21 model 8400 S (Shimadzu, Jepang). Analisis FTIR dilakukan dengan metode transmisi dimana membran yang telah dikeringkan dipotong seukuran diameter *sample holder*, kemudian diletakkan di atasnya. *Sample holder* terlebih dahulu diisi serbuk KBr. Pengujian sifat mekanis membran komposit dilakukan dengan alat *Universal Testing Machine* (UTM) Instron 5944 berdasarkan ASTM Standar D 1708-02a dan ASTM Standar D 882-02a dengan kecepatan Tarik 10 mm/menit [9,10]. Sifat mekanis yang diukur adalah kekuatan tarik, perpanjangan putus dan modulus elastisitas (Young). Analisis sifat optis permukaan membran dilakukan menggunakan mikroskop optis Olympus SZX16 *stereo microscope* dan *Scanning Electron Microscope* (SEM), Zeiss.

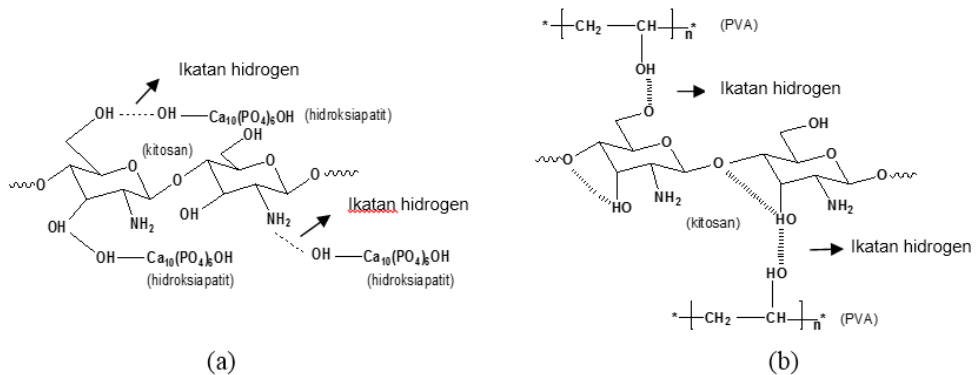
HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis FTIR dan pH Larutan SBF

Pembuatan membran komposit HA-kitosan-PVA telah dilakukan dengan metode *film casting*. Keberadaan komponen penyusunnya dikonfirmasi melalui identifikasi spektrum FTIR yang disajikan pada Gambar 1. Dari spektrum FTIR M3-323 terlihat bahwa membran tersebut tersusun dari PVA, kitosan dan HA. Terjadi pelebaran puncak pada bilangan gelombang 3000-3500 cm^{-1} yang merupakan penggabungan antara vibrasi -OH dari HA, kitosan dan PVA. Selain itu terdapat pula puncak serapan yang khas dari kitosan pada 2947 cm^{-1} (vibrasi -C-H/CH₂). Sebelum perendaman, terdapat puncak serapan yang tajam pada sampel HA di daerah 1416 cm^{-1} dan 874 cm^{-1} (gugus fungsi karbonat) dan serapan fosfat (PO₄³⁻) pada 1037 cm^{-1} , 604 cm^{-1} dan 568 cm^{-1} . Setelah terbentuk membran, intensitas puncak serapan dari HA berkurang dan melebar. Hal ini disebabkan karena adanya interaksi antar unsur penyusun membran, seperti ikatan hidrogen antara kitosan dengan HA dan ikatan hidrogen antara kitosan dengan PVA. Mekanisme ikatan hidrogen tersebut ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 1. Spektrum FTIR membran komposit HA-kitosan-PVA

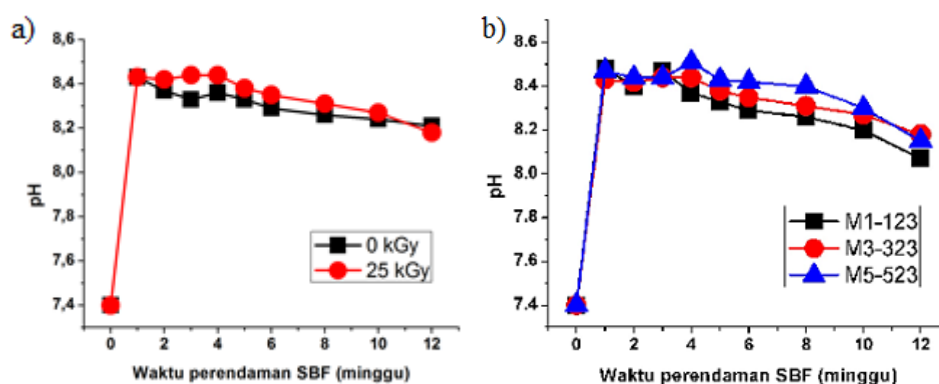


Gambar 2. (a) Mekanisme ikatan hidrogen antara kitosan-HA, dan (b) mekanisme ikatan hidrogen antara kitosan-PVA

Gambar 2(a) menunjukkan gugus $-OH$ dari permukaan hidroksiapatit yang berikatan dengan ion amino dan hidroksil dari kitosan [11]. Selain itu, terbentuk pula ikatan hidrogen antara kitosan dengan PVA seperti pada Gambar 2(b) yang merupakan ikatan hidrogen intramolekular (antara gugus

O⁻ dan H⁺ dari kitosan) dan ikatan intermolekular (antara gugus O⁻ dan H⁺ dari kitosan dan PVA) [12].

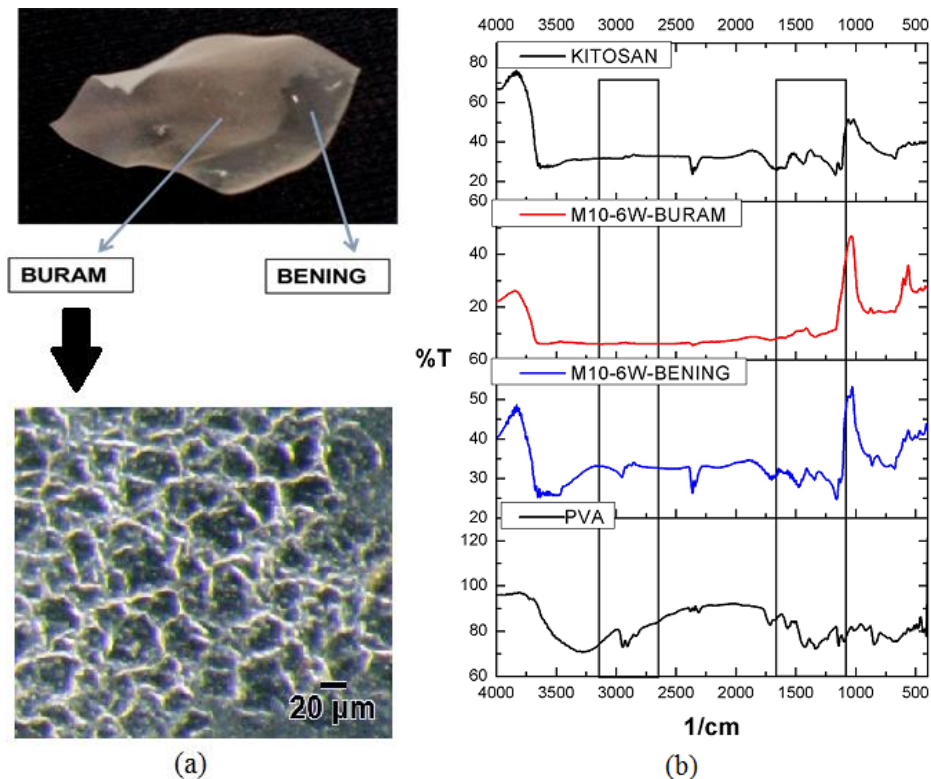
Grafik pH larutan perendam SBF disajikan pada Gambar 4. Dari grafik tersebut terlihat bahwa pH larutan SBF yang semula 7,4 pada minggu ke-0 perendaman, bertambah nilainya menjadi basa pada minggu ke-1 perendaman dengan kisaran nilai pH di sekitar 8 dan selanjutnya mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya waktu perendaman [13]. Gambar 3(a) menunjukkan pH larutan perendam pada membran M3-323 sebelum dan sesudah diiradiasi. Terlihat bahwa membran yang diiradiasi dengan dosis 25 kGy menghasilkan pH larutan yang sedikit lebih besar (lebih basa) dibandingkan dengan membran yang tidak diiradiasi. Hal ini disebabkan karena proses radiasi menyebabkan terputusnya rantai ikatan hidrogen antara HA-kitosan-PVA [14]. Rantai yang terputus menghasilkan luas permukaan yang bertambah, sehingga dihasilkan larutan yang bersifat basa. Gambar 3(b) memperlihatkan pH larutan SBF pada sampel membran M1, M3 dan M5. Terlihat bahwa makin besar konsentrasi PVA, pH larutan yang dihasilkan makin besar pula nilainya.



Gambar 3. pH larutan perendam (SBF), a) sampel M3-323 pada dosis 0 kGy dan 25 kGy, dan b) sampel M1-123, M3-323, dan M5-523 pada dosis 25 kGy

Pembahasan lebih lanjut dapat dijelaskan melalui analisa FTIR dan sifat optis membran kontrol M10-320. Pengukuran sifat optis dan identifikasi gugus fungsi dilakukan pada membran kontrol setelah direndam dalam larutan SBF selama 6 minggu dalam SBF dan hasilnya ditampilkan pada Gambar 5. Dari Gambar 4(a) terlihat bahwa pada permukaan membran M10-320 terbentuk dua daerah pada permukaan M10-320 yaitu daerah bening dan buram setelah perendaman. Foto SEM menunjukkan struktur pori berpola pada daerah buram. Pengukuran spektra FTIR menunjukkan bahwa pada daerah bening masih terdapat unsur yang dominan dari PVA dengan karakteristik puncak spektra pada bilangan gelombang 2953 cm⁻¹ yaitu

vibrasi $-\text{CH}$ (CH_2) dan vibrasi $-\text{C}=\text{O}$, $-\text{C}-\text{H}$, $-\text{C}-\text{C}-\text{C}$ pada rentang bilangan gelombang $1700 - 1100 \text{ cm}^{-1}$. Intensitas puncak serapan yang terbentuk juga terlihat masih tajam dan serupa dengan intensitas puncak karakteristik dari PVA.



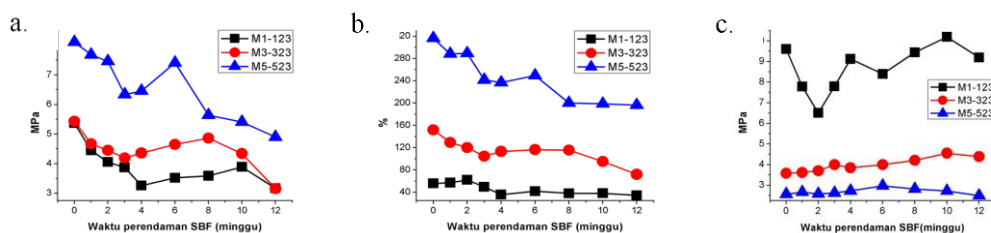
Gambar 4. (a) Foto mikroskop membran M10-320, dan (b) Spektra FTIR membran M10-320 pada daerah yang bening dan buram

Analisis spektra FTIR pada daerah buram menghasilkan spektra dengan puncak serapan yang lebih menyerupai puncak serapan kitosan dari vibrasi $-\text{C}-\text{OH}$ milik kitosan pada bilangan gelombang yang tepat dan sama persis dengan bilangan gelombang pada kitosan saja, yaitu pada 1338 cm^{-1} dan 1440 cm^{-1} . Puncak serapan karakteristik dari PVA di daerah 2943 cm^{-1} telah menghilang dan serapan pada bilangan gelombang $1700-1100 \text{ cm}^{-1}$ juga relatif menghilang. Jika masih ada, intensitas puncak serapan kecil sekali (puncak menghilang dan cenderung mendatar). Dari hasil tersebut dapat diasumsikan bahwa daerah bening merupakan gabungan PVA dan kitosan sedangkan daerah buram di dominasi oleh unsur kitosan. Seiring bertambahnya waktu perendaman, luas daerah buram pada membran semakin bertambah, sehingga dapat disimpulkan bahwa unsur yang terkikis dari membran adalah PVA dan meninggalkan struktur berpori yang berpola, yaitu

kitosan. Kitosan memiliki banyak gugus NH_2 yang menghasilkan muatan positif $-\text{NH}_3^+$ jika terlarut. Hal tersebut menyebabkan pH larutan naik menjadi basa setelah dilakukan perendaman dalam larutan SBF [15].

Analisis Sifat Mekanis Membran Komposit HA-kitosan-PVA

Uji sifat mekanis dilakukan terhadap sampel membran setelah perendaman dalam larutan SBF dari minggu ke-0 sampai minggu ke-12. Grafik uji mekanik pada sampel membran yang diiradiasi dosis 25 kGy disajikan pada Gambar 5. Gambar 5(a) memperlihatkan nilai kekuatan tarik yang makin tinggi sebagai fungsi konsentrasi PVA [16]. Nilai perpanjangan putus paling besar pada kisaran 190-310% untuk sampel M5-523 (konsentrasi PVA 5%) dan paling rendah pada kisaran 30-60% yaitu sampel M1-123 (konsentrasi PVA 1%) seperti terlihat pada Gambar 5(b). Dari semua sampel, kekuatan tarik dan perpanjangan putus cenderung mengalami penurunan seiring dengan pertambahan waktu perendaman dalam larutan SBF. Gambar 5(c) memperlihatkan bahwa sampel M1-123 menghasilkan modulus paling besar (kisaran 6-10 MPa), setelah itu sampel M3-323 (kisaran 3-4 MPa) dan modulus terkecil adalah pada sampel M5-523 (kisaran 2 MPa). Penurunan konsentrasi PVA menghasilkan membran yang semakin kaku (nilai modulus besar), sedangkan peningkatan konsentrasi PVA menghasilkan membran dengan elastisitas yang meningkat pula. Kekuatan tarik sampel membran komposit berada pada rentang kekuatan tarik dari membran GTR komersial, yaitu 3,5-11,7 MPa seperti yang dilaporkan oleh Bottino *et al.* [3].



Gambar 5. Sifat mekanis membran komposit HA-kitosan-PVA pada dosis 25 kGy (a) kekuatan Tarik, (b) perpanjangan putus, dan (c) modulus Young

Selain itu, dilakukan analisis penurunan nilai kekuatan tarik dan perpanjangan putus yang dihitung dengan rumus :

$$\text{Penurunan kuat tarik/perpanjangan putus (\%)} = \frac{N_0 - N_{12}}{N_0} \times 100, \text{ dimana}$$

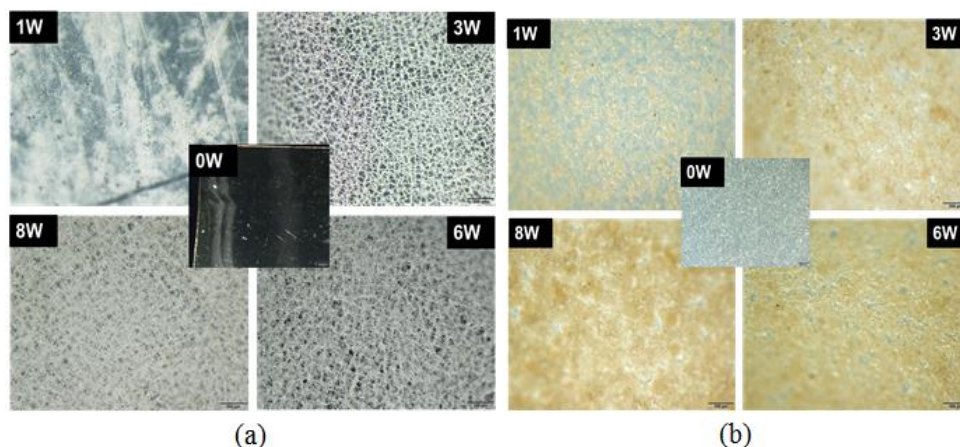
N_0 adalah nilai kekuatan tarik/perpanjangan putus pada minggu ke-0, dan N_{12} adalah nilai kekuatan tarik/perpanjangan putus pada minggu ke-12. Persentase nilai kekuatan tarik/perpanjangan putus berkurang setelah 12 minggu perendaman seperti yang ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Penurunan nilai kekuatan tarik/perpanjangan putus setelah 12 minggu perendaman dalam SBF

Komposisi	Penurunan kuat tarik (%)	Penurunan perpanjangan putus (%)
M1-123	40,96	38,36
M3-323	41,85	52,54
M5-523	39,58	37,94

Dari Tabel 2 terlihat bahwa penurunan terbesar dari nilai kekuatan tarik dan perpanjangan putus setelah 12 minggu perendaman adalah pada membran komposit M3-323. Kekuatan tarik M3-323 berkurang sebesar 41,85%, sedangkan perpanjangan putus M3-323 berkurang sebesar 52,54%. Berkurangnya sifat mekanik pada M3-323 menunjukkan bahwa membran dengan komposisi tersebut lebih cepat mengalami kerusakan/degradasi, sehingga pada aplikasinya nanti diharapkan lebih cepat tergantikan dengan tumbuhnya jaringan baru.

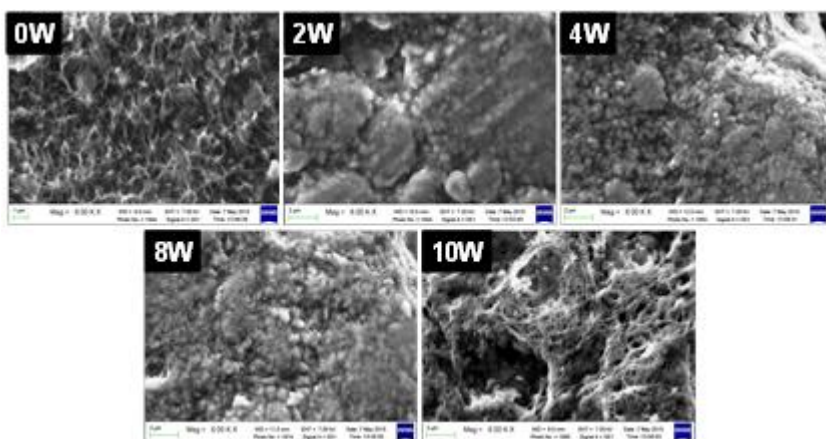
Analisis Struktur Optis Membran Komposit HA-kitosan-PVA



Gambar 6. Struktur optis (a) membran M10-320, dan (b) membran M3-323, setelah perendaman 0-8 minggu

Analisis struktur optis dengan mikroskop bertujuan untuk melihat tampilan struktur permukaan membran secara makro. Pengamatan dilakukan pada sampel membran M3-323 dan kontrol M10-320 setelah direndam dalam larutan SBF. Hasil foto struktur optis permukaan membran kontrol M10-320 yang ditampilkan pada Gambar 6(a) memperlihatkan membran PVA dan kitosan yang bersifat *miscible*, yaitu dapat bercampur sempurna sebelum direndam dalam larutan SBF. Pada kondisi satu minggu perendaman (1W) terlihat permukaan membran terkikis, sehingga membran yang semula

memiliki permukaan yang halus mengkilat, menjadi sedikit buram dan kasar. Seiring bertambahnya waktu perendaman, struktur pori berpola yang semakin bertambah. Gambar 6(b) memperlihatkan struktur optis membran M3-323. Sebelum perendaman minggu ke-0 (0W) terlihat sebaran merata dari unsur penyusun membran dengan daerah bening yang masih dominan. Perubahan tampak setelah perendaman minggu ke-3 dimana terlihat adanya deposit pada permukaan membran sehingga mengurangi area bening pada membran. Deposit tampak semakin bertambah seiring bertambahnya waktu perendaman. Analisis mengenai deposit yang terbentuk selanjutnya di konfirmasi lebih lanjut dengan analisis mikrostruktur menggunakan SEM yang ditampilkan pada Gambar 7 dengan perbesaran 6.000 kali.



Gambar 7. Foto SEM membran komposit M3-323 yang direndam dalam larutan SBF dari 0 minggu (0W) sampai 10 minggu (10W)

Pada waktu 0 minggu (sebelum perendaman), permukaan membran terlihat berpori dengan struktur berpola. Struktur berpori terlihat seperti rongga kosong yang tersebar merata pada permukaan membran. Setelah 2 minggu perendaman (2W) terbentuk lapisan aglomerasi dari deposit berupa inti seperti tetesan berbentuk bola/*spherical*. Deposit ini adalah kalsium fosfat yang terbentuk karena adanya interaksi antara membran HA-kitosan-PVA dengan larutan SBF yang disebut juga lapisan apatit [17]. Inti apatit terbentuk pada permukaan membran secara in situ dengan mengambil ion kalsium dan fosfat dari larutan perendam [18]. Permukaan membran yang semula masih terdapat banyak pori/rongga mulai terisi dengan deposit berupa lapisan apatit yang makin tebal seiring dengan bertambahnya waktu perendaman. Pada perendaman 10 minggu (10W), terlihat struktur pori pada permukaan membran hampir tertutup seluruhnya. Selain itu, serabut-serabut halus mulai terlihat dari 8 minggu perendaman. Diasumsikan bahwa serabut

halus ini merupakan gabungan dari struktur bola/*spherical* apatit yang membentuk untaian serabut panjang.

Suatu bahan dikatakan memiliki sifat bioaktif adalah apabila bahan tersebut dapat memunculkan respon biologis tertentu pada antarmuka bahan yang menghasilkan pembentukan ikatan antara jaringan dan materi [19]. Kemampuan dari suatu material membentuk ikatan dengan tulang sering dievaluasi dengan memeriksa kemampuan apatit yang terbentuk pada permukaan material dalam larutan SBF. Seperti telah diketahui, cairan tubuh manusia berisi ion-ion jenuh yang berhubungan dengan apatit. Ketika terdapat gugus fungsi yang efektif membentuk nukleasi apatit pada permukaan suatu material buatan, maka secara spontan akan terbentuk lapisan apatit pada permukaan material tersebut [20]. Mekanisme terbentuknya lapisan apatit dapat dijelaskan sebagai berikut : titik iso-elektrik dari HA di dalam air terjadi pada pH antara 5 sampai 7 dan lebih rendah pada pH larutan SBF (7,4). Oleh karena itu pada perendaman dalam SBF, HA memperlihatkan muatan permukaan negatif dengan mengekspos ion hidroksil dan fosfat dari struktur kristalnya. HA-permukaan menggunakan muatan negatif ini untuk berinteraksi spesifik dengan ion kalsium dalam larutan SBF yang bermuatan positif, sehingga terbentuk *amorphous calcium phosphate* (ACP)-kaya kalsium. Selanjutnya, ACP-kaya kalsium dari HA berinteraksi spesifik dengan ion fosfat yang bermuatan negatif dalam larutan SBF membentuk ACP-miskin kalsium. ACP-miskin kalsium ini berperan sebagai prekursor dan mengkristal membentuk lapisan apatit pada berbagai jenis material keramik bioaktif. Setelah dibentuk dalam larutan SBF, apatit tumbuh secara spontan dengan mengambil ion kalsium, fosfat dan unsur minor seperti natrium, magnesium dan karbonat dan selanjutnya berkembang menjadi mineral dengan komposisi mirip tulang [21].

KESIMPULAN

Pada penelitian ini telah dilakukan karakterisasi membran komposit hidroksiapatit-kitosan-poli(vinil alkohol) (HA-kitosan-PVA) setelah direndam dalam larutan *simulated body fluid* (SBF). Kadar pH larutan SBF pada membran yang diiradiasi dosis 25 kGy lebih besar dibandingkan dengan membran 0 kGy karena terputusnya rantai ikatan hidrogen antara PVA-kitosan-HA. Kadar pH larutan SBF berubah menjadi basa karena terlarutnya PVA dari komposit dan menyisakan kitosan yang memiliki gugus NH₂. Penurunan kekuatan tarik dan perpanjangan putus paling besar setelah perendaman 12 minggu dalam SBF adalah pada membran M3-323, sehingga prospektif untuk dijadikan biomaterial. Berdasarkan hasil uji struktur optis,

teramati pembentukan lapisan apatit pada permukaan membran HA-kitosan-PVA yang menunjukkan bahwa membran komposit tersebut bersifat bioaktif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada bapak Ir. Basril dan bapak Erizal, APU yang telah memberi bimbingan kepada penulis dan rekan-rekan di UI-Olympus Bioimaging centre serta Fakultas TBM Universitas Indonesia yang telah membantu penulis melakukan analisa morfologi permukaan sampel menggunakan mikroskop optis dan SEM.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Yang F, Both SK, Yang X, Walboomers XF, Jansen JA. Development of an electrospun nano-apatite / PCL composite membrane for GTR / GBR application. *Acta Biomater* 2009;5:3295–7.
- [2]. Tal H, Moses O, Kozlovsky A, Nemcovsky C. Bioresorbable Collagen Membranes for Guided Bone Regeneration. In: *Bone Regeneration*, In Tech Europe 2012;111-38.
- [3]. Bottino MC, Thomas V, Schmidt G, Vohra YK, Chu TMG, Kowolik MJ, Janowski GM. Recent advances in the development of GTR/GBR membranes for periodontal regeneration - A materials perspective. *Dent Mater* 2012;28(7):703–21.
- [4]. Pavaloiu RD, Guzun AS, Stroescu M, Jinga SI. Composite films of poly(vinyl alcohol)-chitosan bacterial cellulose for drug controlled release. *Int J Biol Macromol* 2014;68:117-24.
- [5]. PY, Li YL, Fan L, Lin J, Hu QL. Modification of chitosan membrane with poly(vinyl alcohol) and biocompatibility evaluation. *Int J Biol Macromol* 2012;50(3):658-63.
- [6]. Dongzhi Y, Jin Y, Ma G, Xiangmei C, Lu F, Jun N. Fabrication and characterization of chitosan/PVA with hydroxyapatite biocomposite nanoscaffolds. *J Appl Polym Sci* 2008;110:3328-35.
- [7]. Kokubo T. Bioactive glass ceramics: properties and applications. *Biomaterial* 1991;12:155-63.
- [8]. Warastuti Y, Budianto E, Darwis D. Sintesis dan karakterisasi membran komposit hidroksiapatit tulang sapi-kitosan-poli(vinil alkohol) untuk aplikasi biomaterial. *J Sains Mater Indonesia* 2015;16(2):83-90.
- [9]. *ASTM Standar Designation: D 882–02a*, Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting.

- [10]. *ASTM Standar Designation : D 1708 – 02a*, Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics By Use of Microtensile Specimens.
- [11]. Pighinelli L, Kucharska M. Chitosan–hydroxyapatite composites. *Carbohydr Polym* 2013;93:256-262.
- [12]. Alhosseini SN, Moztarzadeh F, Mozafari M, Asgari S, Dodel M, Samadikuchaksaraei A. Synthesis and characterization of electrospun polyvinyl alcohol nanofibrous scaffolds modified by blending with chitosan for neural tissue engineering. *Int J Nanomed* 2012;7:25–34.
- [13]. Heydary A, Karamian E, Poorazizi E, Heydaripour J, Khandan A. Electrospun of polymer/bioceramic nanocomposite as a new soft tissue for biomedical applications. *Asian Ceramic Soc* 2015;3:417-25.
- [14]. Jeun JP, Jeon YK, Nho YC, Kang PH. Effects of gamma irradiation on the thermal and mechanical properties of chitosan/PVA nanofibrous mats. *J Ind Eng Chem* 2009;15:430-3.
- [15]. Dias LS, Mansur HS, Donnici CL, Pereira MM. Synthesis and characterization of chitosan-polyvinyl alcohol-bioactive glass hybrid membranes. *Biomatter* 2011;1(1):114-9.
- [16]. El Salmawi KM. Gamma radiation-induced crosslinked PVA/chitosan blends for wound dressing. *J Macromol Sci, Part A: Pure Appl Chem* 2007;44:541-5.
- [17]. Jongwattanapisan P, Charoenphandhu N, Krishnamra N, Thongbunchoo J, Tang IM, Hoonsawat R, Smith S.M, Pon-On W. In vitro study of the SBF and osteoblast-like cells on hydroxyapatite/chitosan–silica nanocomposite. *Mater Sci Eng, C* 2011;31(2):290-9.
- [18]. Kokubo T. Formation of biologically active bone-like apatite on metals and polymers by a biomimetic process. *Thermochim Acta* 1996;280-281:479-90.
- [19]. Cerruti MG. Characterization of bioactive glasses: Effect of the immersion in solutions that simulate body fluids. Thesis. University of Turin, Italy 2004.
- [20]. Pradnya N, Manjushri M, Ravindra U, Megha P, Rajendra S. Study of nanobiomaterial hydroxyapatite in simulated body fluid: Formation and growth of apatite. *Mater Sci Eng, B* 2010;168:224-30.
- [21]. Kim HM, Himeno T, Kokubo T, Nakamura T. Process and kinetics of bonelike apatite formation on sintered hydroxyapatite in a simulated body fluid. *Biomaterials* 2005;26(21):4366-73.