

Pembuatan Nanopartikel Magnetik Terlapis Kitosan untuk Aplikasi Biomedis

Grace Tj. Sulungbudi, Aloma Karo Karo, Wildan Zakiah Lubis,
Mujamilah dan Sudirman

Pusat Sains dan Teknologi Bahan Maju, Badan Tenaga Nuklir Nasional, Kawasan
Puspiptek Serpong, Tangerang Selatan 15314

Email: grace@batan.go.id

Diterima: 01-Okt-2016 Diperbaiki: 01-Nov-2016 Disetujui: 29-Des-2016

ABSTRAK

Pembuatan Nanopartikel Magnetik Terlapis Kitosan untuk Aplikasi Biomedis. Tulisan ini menyajikan diskusi tentang pembuatan nanopartikel magnetik dilapisi oleh kitosan dengan dan tanpa *cross-linker*. Nanopartikel tanpa *cross-linker* dipersiapkan dalam dua langkah yang melibatkan pengendapan nanopartikel magnetik diikuti dengan mendispersikannya di media kitosan. Nanopartikel magnetik kitosan dengan *cross-linker* disintesis dalam satu langkah proses menggunakan natrium TPP (*sodium tripolyphosphate*). Karakteristik dua sistem nanopartikel ini termasuk fase, morfologi, ukuran, potensial zeta dan sifat magnetik dievaluasi secara menyeluruh dengan menggunakan metode yang tepat. Kehadiran coating kitosan nanopartikel magnetik juga dikonfirmasi menggunakan spectrometer FT-IR (*Fourier Transform Infrared Spectrometer*). Semua hasil evaluasi mendukung bahwa *cross-linker* yang menyatukan struktur morfologi nanopartikel, juga memberikan sifat koloid lebih stabil. Karakteristik ini membuat nanopartikel kitosan magnetik dengan *cross-linker* sebagai bahan menjanjikan untuk aplikasi biomedis.

Kata Kunci: kitosan, nanopartikel magnetik, sodium-TPP

ABSTRACT

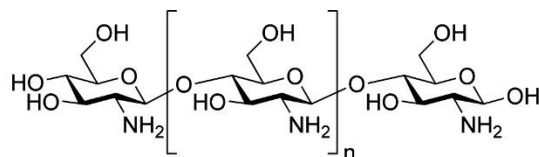
Preparation Chitosan Coated Magnetic Nanoparticle for Biomedical Application. The article presents discussion on preparation of magnetic nanoparticles coated by chitosan with and without *cross-linker*. The nanoparticles without *cross-linker* was prepared in two steps involving precipitation of magnetic nanoparticles followed by dispersing them in chitosan medium. Cross-linked chitosan magnetic nanoparticles were synthesized in one step process using sodium TPP (*tripolyphosphate*) as *cross-linker*. Characteristic of these two nanoparticles system including their phase, morphology, size, zeta potential and magnetic

properties thoroughly evaluated using the appropriate methods. The presence of chitosan coating on magnetic nanoparticles was also confirmed using FT-IR Spectrometer. All the evaluation results support that cross-link agent which unify the morphological structure of the nanoparticles, also gave the more stable colloidal properties. These characteristics made the cross-linked chitosan magnetic nanoparticles as a promising material for biomedical application.

Keywords: *chitosan, magnetic nanoparticles, sodium-TPP*

PENDAHULUAN

Kitosan adalah salah satu polimer alam yang bersifat biokompatibel dan biodegradabel. Material ini mempunyai gugus fungsi –OH dan –NH₂, seperti terlihat pada Gambar 1, yang membuat kitosan dapat dimodifikasi dan berinteraksi dengan ligan lain atau unit biologi lainnya [1]. Dengan karakteristik ini, kitosan dapat dikembangkan dalam berbagai aplikasi biomedis seperti *articular cartilage tissue engineering* [2], sebagai pelapis dan pengontrol penghantar obat [3] dan sebagai material pelapis pada implantasi tulang [4]. Dibandingkan dengan polimer lainnya seperti PLA (*Poly-Lactic acid*) [5], PMMA (*Poly- Methyl Methacrylate*) [6] yang juga digunakan dalam aplikasi biomedis, kitosan lebih murah dan mudah dibuat [1].



Gambar 1. Struktur kimia kitosan [1]

Bergantung pada jenis aplikasi, kitosan harus dimodifikasi untuk memenuhi persyaratan yang dibutuhkan. Sifat kitosan dimodifikasi dengan menambahkan aditif dari polimer lainnya seperti *polycaprolactone* (PCL), *poly vinyl alcohol* (PVA) untuk menaikkan sifat mekanisnya dalam aplikasi sebagai penyangga (*scaffold*) [3]. Penambahan gelatin *starch* dilakukan untuk menaikkan kristalinitas kitosan sehingga dapat dibuat film yang bermanfaat sebagai pembungkus obat dan makanan [7].

Akhir-akhir ini, kemampuan kitosan dikombinasikan dengan nanopartikel magnetik untuk penelitian dan pengembangan yang mendukung prosedur diagnostik *in vitro* dan *in vivo*. Kitosan dilapiskan pada permukaan nanopartikel Fe₃O₄ sehingga permukaannya menjadi biokompatibel dan siap dimodifikasi dengan unit biologi [8]. Nanopartikel magnetik terlapis kitosan

juga diteliti dan dikembangkan untuk digunakan sebagai bahan pengontras dalam prosedur *in vivo* menggunakan teknik MRI (*Magnetic Resonance Imaging*) [9, 10].

Persyaratan dasar untuk aplikasi ini adalah partikel harus stabil secara fisika maupun kimia dalam lingkungan biologi dimana bagian tubuh yang akan didiagnosa. Untuk memenuhi persyaratan ini dibutuhkan beberapa aditif seperti *plasticizer* dan *crosslinker agent* pada saat pembuatan nanopartikel. Penelitian untuk mendapatkan karakteristik optimum dari pelapisan nanopartikel masih berkembang hingga sekarang, yaitu memvariasikan jenis kitosan dan komposisi, parameter proses dan metode [8, 11-12].

Makalah ini merupakan hasil penelitian nanopartikel Fe_3O_4 yang terlapisi kitosan yang dibuat dengan dan tanpa *sodium tripolyphosphate* ($\text{Na}_5(\text{PO}_4)_3$) (NaTPP) sebagai *crosslinker agent*, dan mendiskusikan karakteristik fisika dan kimia dari nanopartikel magnetik yang terlapisi kitosan.

MATERIAL DAN METODOLOGI

Bahan

Bahan kimia yang digunakan adalah $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, CH_3COOH glacial, $\text{Na}_5(\text{PO}_4)_3$, dan NH_3 , semuanya tingkatan *pro analysis* dari produk Merck Millipore. Kitosan dengan berat molekul medium, tingkatan sintesis, Sigma Aldrich. Air deionisasi (18 MOhm.cm, Millipore) digunakan sebagai pelarut dan untuk mencuci hasil percobaan.

Pembuatan Nanopartikel Magnetik Terlapisi Kitosan-TPP

Na-TPP sebanyak 7,73 mg dilarutkan dalam 10 mL air deionisasi kemudian ditambahkan 30 mL NH_3 32%. Sebanyak 3,40 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan 2,68 g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 30 mL larutan 0,1% kitosan dalam 1% asam asetat. Ultrasonikasi campuran garam klorida Fe(III)/Fe(II) dalam kitosan selama 1 (satu) menit agar homogen. Campuran Na-TPP - NH_3 ditambahkan ke dalam campuran garam Fe(III)/Fe(II)-kitosan sambil diultrasonikasi selama 5 menit. Campuran kemudian di aduk selama 1 jam dengan *mixer* pada 600 rpm. Endapan hitam yang terbentuk dipisahkan dengan bantuan batang magnet permanen, kemudian didispersikan ke dalam 100 mL air deionisasi sambil di aduk selama 5 menit. Pemisahan dan pencucian diulangi sampai supernatan bebas ion klorida. Endapan akhir didispersikan ke dalam 100 mL kemudian disentrifugasi selama 30 menit pada kecepatan 5000 rpm. Supernatan didekantasi dari endapannya. Supernatan yang diperoleh disimpan pada suhu 4°C untuk dikarakterisasi.

Pembuatan nanopartikel magnetik terlapisi kitosan tanpa cross-linker

Air deionisasi sebanyak 10 mL ditambahkan 30 mL NH_3 32%. Sebanyak 3,40 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan 2,68 g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 30 mL larutan 0,1% kitosan dalam 1% asam asetat. Ultrasonikasi campuran garam klorida Fe(III)/Fe(II) dalam kitosan selama 1 (satu) menit agar homogen. Tambahkan campuran Na-TPP - NH_3 ke dalam campuran garam Fe(III)/Fe(II)-kitosan sambil diultrasonikasi selama 5 menit. Campuran kemudian di aduk selama 1 jam dengan *mixer* pada 600 rpm. Endapan hitam yang terbentuk dipisahkan dengan bantuan batang magnet permanen, kemudian didispersikan ke dalam 100 mL air deionisasi sambil di aduk selama 5 menit. Ulangi pemisahan dan pencucian sampai supernatan bebas ion klorida. Endapan akhir didispersikan ke dalam 100 mL kemudian disentrifugasi selama 30 menit pada kecepatan 5000 rpm. Supernatan didekantasi dari endapannya. Supernatan yang diperoleh disimpan pada suhu 4°C untuk dikarakterisasi.

Karakterisasi

Nanopartikel magnetik kitosan hasil sintesis dikarakterisasi fase menggunakan *X-ray Diffractometer* (XRD), Shimadzu XD-610, dengan target Cu-K α dengan panjang gelombang 1.504 Å pada rentang sudut $10 - 80^\circ$, morfologi menggunakan *Transmission Electron Microscope* (TEM), JEOL JEM1400, menggunakan *carbon coated copper grid*, distribusi ukuran partikel menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA), Malvern Zetasizer Nano ZS, dengan panjang gelombang 633 nm dengan sudut detektor 173° , sifat magnetik menggunakan *Vibrating Sample Magnetometer* (VSM), Oxford 1.2H, dengan *scan rate* 0.25 Tesla/menit, dan ikatan kimia menggunakan spektrofotometer *infrared* (IR), Bruker Tensor 27, dengan metode KBr.

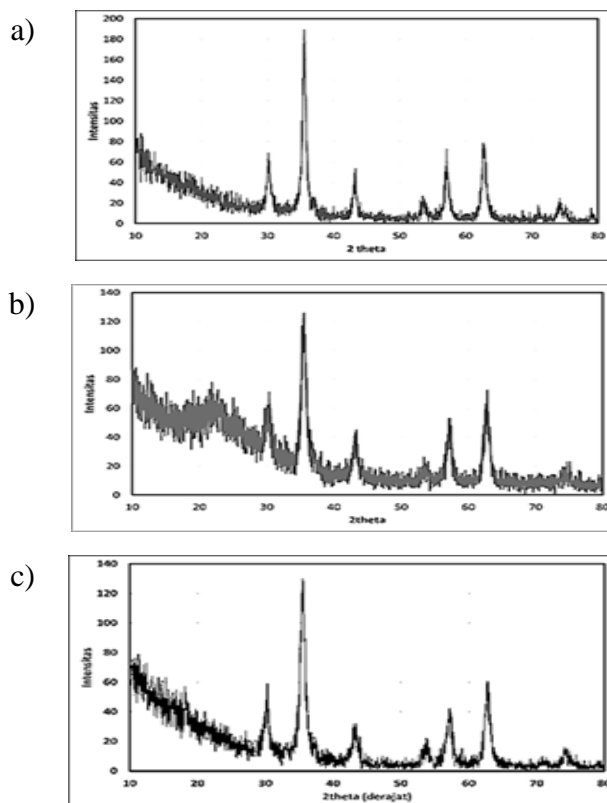
HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Fase

Pola difraksi sinar-X masing-masing dari nanopartikel magnetik, nanopartikel magnetik kitosan tanpa TPP dan nanopartikel magnetik kitosan dengan TPP ditunjukkan dalam Gambar 2a, 2b dan 2c. Hampir semua puncak dari 3 pola difraksi sinar-X dapat dengan jelas teridentifikasi sebagai fase Fe_3O_4 menggunakan JCPDS nomor 19-0629 kecuali puncak tunggal pada sudut $20,3^\circ - 21,3^\circ$ pada sampel tanpa *cross-linker* (Gambar 2b). Puncak ini teridentifikasi sebagai puncak dari kitosan sesuai dengan data JCPDS nomor 39-1894.

Adanya puncak kitosan yang melebar pada pola difraksi sampel tanpa *cross-linker* dapat dijelaskan bahwa fasa kitosan ada bersama fasa Fe_3O_4

dalam sampel koloid. Hal ini berarti, kitosan hanya mengisi ruang di antara nanopartikel magnetik. Di lain pihak, pada sampel yang menggunakan *cross-linker*, tidak tampak puncak kitosan pada pola difraksi. Hal ini membuktikan bahwa kitosan hanya merupakan lapisan tipis pada permukaan nanopartikel magnetik.

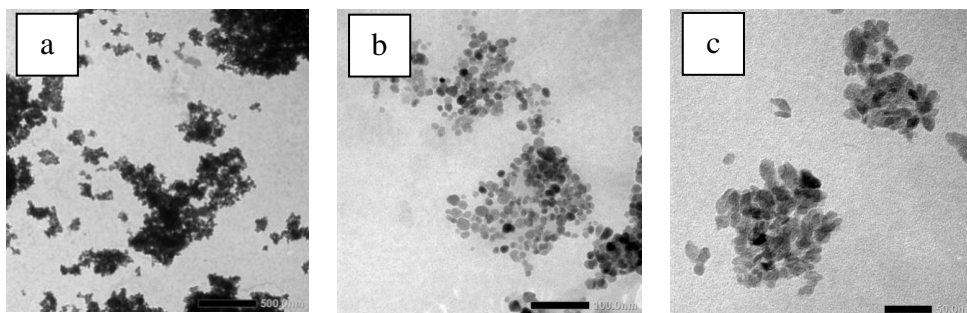


Gambar 2. Pola difraksi sinar-X dari: a) nanopartikel magnetik, b) nanopartikel magnetik–kitosan tanpa cross-linker, dan c) nanopartikel magnetik – kitosan dengan cross-linker (c)

Morfologi dan Distribusi Ukuran

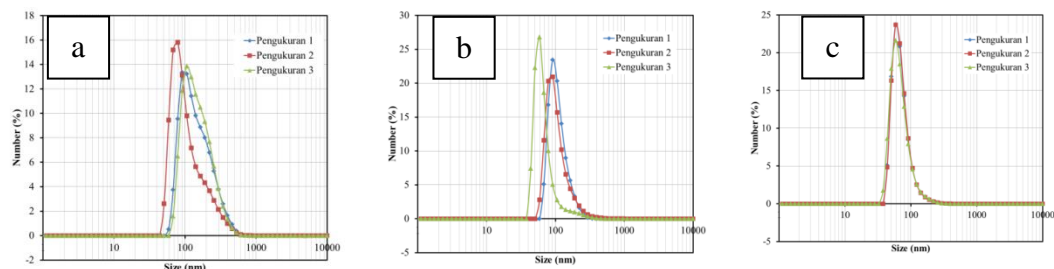
Morfologi diamati menggunakan *Transmission Electron Microscope* (TEM) seperti pada Gambar 3 yang mendukung data difraksi sinar-X. Terlihat jelas nanopartikel magnetik berukuran ~10 nm, yang cenderung beraglomerasi membentuk kluster dengan ukuran ratusan nanometer sebelum dilapisi (Gambar 3a), akan diatasi dengan matriks kitosan. Matriks kitosan akan membuat jarak antara nanopartikel magnetik dan menstabilkan posisinya dalam sistem koloid nanopartikel magnetik kitosan. Pada saat pengamatan dengan TEM, sampel koloid diencerkan dan kemudian dikeringkan yang dapat memisahkan nanopartikel dari matriks kitosan.

Untuk sampel yang menggunakan *cross-linker*, Gambar 3c menunjukkan lebih jelas formasi sistem nanopartikelnya. Observasi yang lebih rinci dari TEM menunjukkan pelapisan kitosan membentuk kluster dengan ukuran sekitar 100 nm. Pada saat pengenceran dengan air dan proses pengeringan, kluster tersebut mempunyai ukuran yang sama, dan pelapisan kitosan pada permukaan membuktikan kekuatan ionik *cross-linker* oleh anion TPP pada molekul kitosan [13].



Gambar 3. Gambar TEM dari nanopartikel magnetik (a), nanopartikel magnetik tanpa *cross-linker* (b) dan nanopartikel magnetik dengan *cross-linker* (c)

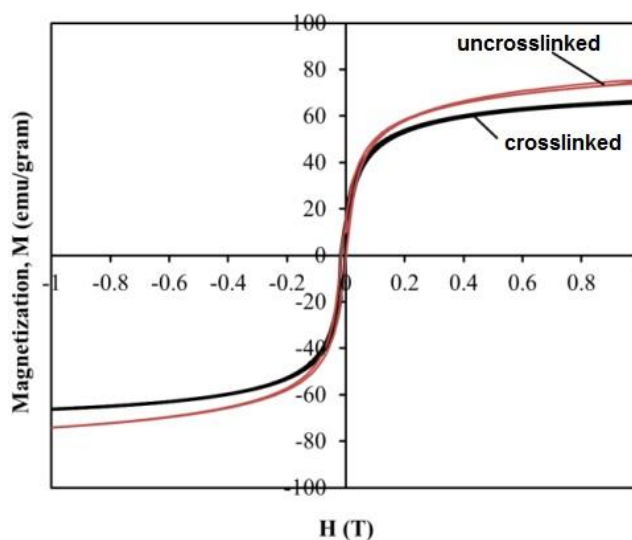
Pengukuran ukuran dinamik dari nanopartikel dilakukan menggunakan *Particle Size Analyzer* dengan teknik *Dynamic Light Scattering* (DLS) menggunakan panjang gelombang laser 633 nm. Posisi detektor pada 173° dengan teknologi *Non-Invasive Back Scattering* (NIBS) membuat pengukuran dapat dilakukan pada koloid pekat. Spektrum distribusi ukuran seperti terlihat dalam Gambar 4. Disini terlihat nanopartikel magnetik saja tanpa kitosan (Gambar 4a), interaksi antara nanopartikel magnetik menyebabkan distribusi ukuran partikelnya sangat polidispersi, mulai dari 30 nm sampai 500 nm. Dengan adanya kitosan yang berada di antara nanopartikel magnetik (Gambar 4b), polidispersitas berkurang yaitu dari 30 nm sampai 200 nm, dan semakin stabil dengan adanya *cross-linker* (Gambar 4c).



Gambar 4. Distribusi ukuran partikel : a) nanopartikel magnetik, b) nanopartikel magnetik tanpa *cross-linker*, dan c) nanopartikel magnetik dengan *cross-linker*

Sifat Magnetik

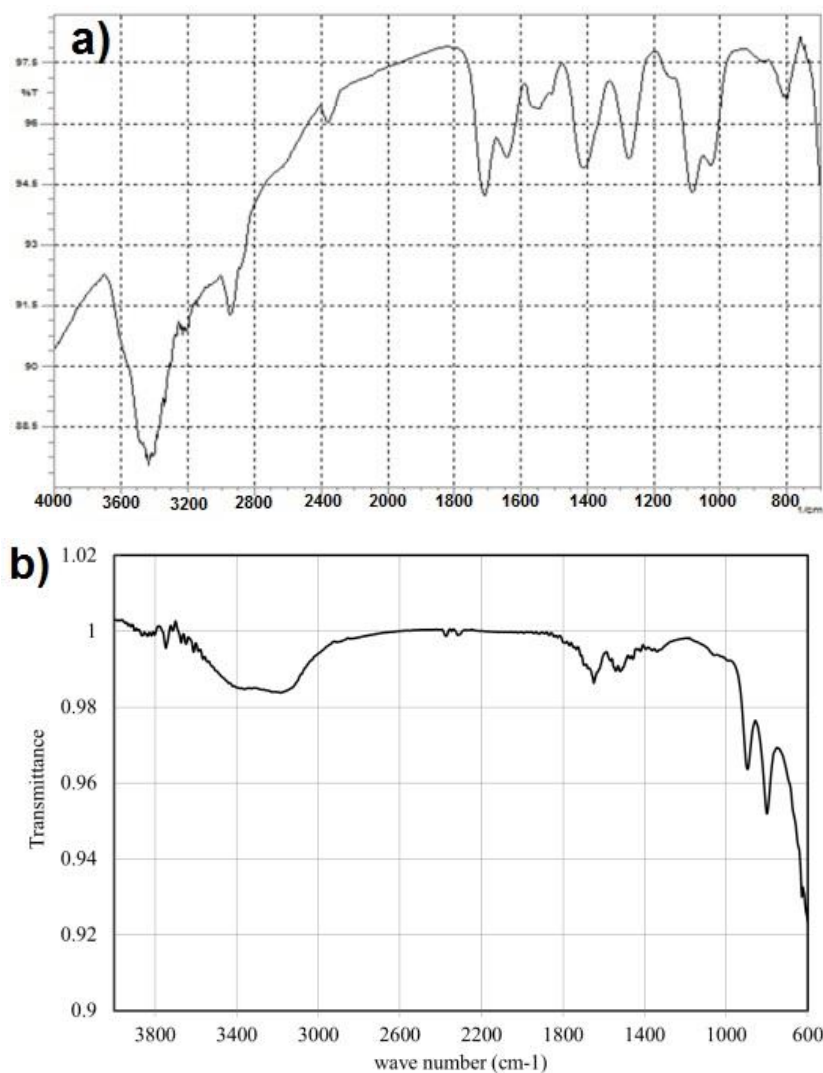
Banyaknya *cross-linker* pada nanopartikel kitosan juga mempengaruhi sifat magnetik, dibandingkan dengan yang tanpa *cross-linker*. Magnetisasi saturasi cenderung menurun sedangkan koersivitasnya tetap, seperti terlihat pada Gambar 5. Perubahan nilai magnetisasi ini dapat dijelaskan dengan derajat kebebasan nanopartikel yang terlapisi kitosan yang reorientasi sumbu magnetisasi searah medan magnet eksternal. Pada sampel tanpa *cross-linker*, nanopartikel magnetik tunggal akan lebih mudah terorientasi searah medan magnet eksternal yang diberikan. Matriks kitosan sekitar nanopartikel akan menjaga interaksi *magnetic inter-particle*, sedangkan untuk sampel dengan *cross-linker*, membuat matriks kitosan semakin rapat sehingga nilai magnetisasi saturasinya menjadi lebih rendah.



Gambar 5. Kurva hysteresis magnetic dari nanopartikel magnetic dengan *cross-linker* (*crosslinked*) dan tanpa *cross-linker* (*uncrosslinked*)

Analisis Ikatan Kimia

Pembuktian bahwa kitosan melapisi permukaan nanopartikel magnetik dianalisis dari spektrum FT-IR (Gambar 6). Spektrum untuk nanopartikel magnetik saja menunjukkan ikatan karakteristik antara Fe-O pada bilangan gelombang 585 cm^{-1} . Analisis lengkap dari spectrum IR untuk sampel nanopartikel dengan *cross-linker* dan tanpa *cross-linker* dapat dilihat pada Tabel 1. Bila dibandingkan dengan spectrum IR kitosan murni, terjadi pergeseran dua ikatan amida ke arah bilangan gelombang lebih kecil untuk sampel nanopartikel magnetik dengan *cross-linker*. Selain itu muncul ikatan P-O dan P=O pada bilangan gelombang 1300 cm^{-1} dan 1200 cm^{-1} untuk sampel dengan *cross-linker* TPP.



Gambar 6. Spektrum FT-IR dari : a) nanopartikel magnetic tanpa *cross-linker*, dan b) dengan *cross-linker*

Table 1. Ikatan kimia dari spektrum FT-IR sampel nanopartikel magnetic dengan dan tanpa *cross-linker*

Type Ikatan	Tanpa <i>cross-linker</i> (cm ⁻¹)	Dengan <i>cross-linker</i> (cm ⁻¹)
ν O-H	3000 – 3500	3000-3600
ν C-O, amide I	1700	1644
ν N-H, amide II	1500	1515
ν P-O	-	1300
ν P=O	-	1200

KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa nanopartikel magnetik yang stabil diperoleh dengan menggunakan kitosan sebagai pembungkusnya dan natrium tripolifosfat (Na-TPP) sebagai *cross-linker*. Ikatan antara nanopartikel magnetic-kitosan dan anion TPP menghasilkan sistem kluster yang stabil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh DIPA PTBIN-BATAN Tahun Anggaran 2012/2013. Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu kelancaran penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog Polym Sci* 2006;31:603-32.
- [2]. Yuan D, Chen Z, Lin T, Luo X, Dong H, Feng G. Cartilage tissue engineering using combination of chitosan hydrogel and mesenchymal stem cells. *J Chem* 2015;2015:530607.
- [3]. Sivashankari PR, Prabakaran M. Prospects of chitosan-based scaffolds for growth factor release in tissue engineering. *Int J Biol Macromol* 2016;93:1382-9.
- [4]. Guitian Oliveira N, Sirgado T, Reis L, Pinto LFV, da Silva CL, Ferreira FC, Rodrigues A. In vitro assessment of three dimensional dense chitosan-based structures to be used as bioabsorbable implants. *J Mech Behav Biomed Mater* 2014;40:413-25.
- [5]. Lasprilla AJR, Martinez GAR, Lunelli BH, Jardini AL, Filho RM. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices — A review. *Biotechnol Adv* 2012;30(1):321-8.
- [6]. Balamurugan A, Kannan S, Selvaraj V, Rajeswari S. Development and spectral characterization of poly (methyl methacrylate)/hydroxyapatite composite for biomedical applications. *Trends Biomater Artif Organs* 2004;18(1):41-5.
- [7]. Van Den Broek LAM, Knoop RJI, Kappen FHJ, Boeriu CG. Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydr Polym* 2015;116:237-42.

- [8]. Kuo C-H, Liu Y-C, Chang C-MJ, Chen J-H, Chang C, Shieh C-J. Optimum conditions for lipase immobilization on chitosan-coated Fe₃O₄ nanoparticles. *Carbohydr Polym* 2012;87(4):2538-45.
- [9]. Mujamilah. Laporan Tahunan Pengembangan dan Penelitian Bahan Unggul Magnetik untuk Aplikasi Diagnostik. Serpong: Pusat Teknologi Bahan Industri Maju - BATAN, 2012.
- [10]. Bakhru SH, Altiok E, Highley C, Delubac D, Suhan J, Kevin Hitchens T, Ho C, Zappe S. Enhanced cellular uptake and long-term retention of chitosan-modified iron-oxide nanoparticles for MRI-based cell tracking. *Int J Nanomedicine* 2012;7:4613-23.
- [11]. Unsoy G, Yalcin S, Khodadust R, Gunduz G, Gunduz U. Synthesis optimization and characterization of chitosan-coated iron oxide nanoparticles produced for biomedical applications. *J Nanopart Res* 2012;14:964.
- [12]. Podreps GH, Leitgeb M. Different preparation methods and characterization of magnetic maghemite coated with chitosan. *J Nanopart Res* 2013;15:1751.
- [13]. Csaba N, Köping-Höggård M, Alonso MJ. Ionically crosslinked chitosan/tripolyphosphate nanoparticles for oligonucleotide and plasmid DNA delivery. *Int J Pharm* 2009;382(1-2):205-14.