

Pembuatan dan Karakterisasi Serbuk Komposit Biohidroksiapatit-Kitosan untuk Biomaterial

Yessy Warastuti dan Fajar Lukitowati

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

Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta 12440

Email: warastuti79@gmail.com

Diterima: 25-Okt-2017 Diperbaiki: 30-Nov-2017 Disetujui: 29-Des-2017

ABSTRAK

Pembuatan dan Karakterisasi Serbuk Komposit Biohidroksiapatit-Kitosan untuk Biomaterial. Telah dilakukan pembuatan komposit biohidroksiapatit-kitosan beserta karakterisasinya sebagai bahan baku biomaterial untuk aplikasi klinis. Komposit yang dihasilkan berbentuk serbuk setelah dikeringkan dengan metode liofilisasi. Karakterisasi yang dilakukan antara lain menggunakan *Fourier Transform Infra Red Spectroscopy* (FTIR), *X-Ray Diffractometer* (XRD), *thermogravimetric analyzer* (TGA), dan *Scanning Electron Microscope Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy* (SEM-EDX). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa struktur komposit terdiri dari unsur-unsur penyusunnya, yaitu hidroksiapatit dan kitosan yang dikonfirmasi dengan hasil FTIR dan pola difraksi sinar-X. Derajat kristalinitas hidroksiapatit mengalami penurunan dari 56,3% pada HA tunggal menjadi 16,2 ; 14,8 ; 9,6; dan 8,7% berturut-turut pada komposit dengan konsentrasi kitosan 4, 3, 2 dan 1%. Pada pola difraksi sinar-X terlihat bahwa terjadi interaksi antara hidroksiapatit (HA) dengan kitosan berupa ikatan hidrogen. Analisis TGA untuk melihat pengaruh pemanasan pada sampel menunjukkan semakin besar konsentrasi kitosan, persen kehilangan bobot pada komposit semakin besar pula. Persen kehilangan bobot lebih besar pada sampel yang diiradiasi dosis 25 kGy yaitu sekitar 10,72%. Analisis morfologi SEM memperlihatkan struktur berbentuk serpihan irregular dengan ukuran 20-200 μm . Penelitian ini memperlihatkan terjadinya interaksi antara hidroksiapatit dan kitosan membentuk komposit yang prospektif untuk dijadikan bahan baku biomaterial untuk aplikasi klinis.

Kata Kunci: biohidroksiapatit-kitosan, komposit, tulang sapi, biomaterial

ABSTRACT

Preparation and Characterization of Composite Powder Biohydroxyapatite-Chitosan for Biomaterials. A composite of chitosan-biohydroxyapatite were

prepared and characterized as raw material of biomaterial for clinical application. The resulting composite is powdered after being dried by lyophilization method. Characterization includes Fourier Transform Infra Red Spectroscopy (FTIR), X-Ray Diffractometer (XRD), thermogravimetric analyzer (TGA), and Scanning Electron Microscope Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (SEM-EDX). The results show that the composite structure comprises the constituent elements of hydroxyapatite and chitosan which are confirmed by FTIR and x-ray diffraction patterns. The degree of crystallinity of hydroxyapatite decreased from 56.3% in single HA to 16.2, 14.8, 9.6 and 8.7% respectively on composites with chitosan concentrations of 4, 3, 2 and 1%. From x-ray diffraction pattern seen that there is interaction between HA with chitosan in the form of hydrogen bond. TGA analysis to see the effect of heating on the sample shows the greater the concentration of chitosan, percent weight loss on the composite is also greater. Percentage lost greater weight in the irradiated sample dose of 25 kGy is about 10.72%. SEM morphological analysis shows an irregular shaped structure with size 20 - 200 μm . This study produces a composite that is prospective for further development as a biomaterial for clinical applications.

Keywords: *biohydroxyapatite-chitosan, composite, bovine bone, biomaterial*

PENDAHULUAN

Biomaterial didefinisikan sebagai zat atau kombinasi dari zat, selain obat-obatan, baik yang berasal dari sumber sintetik atau alami, yang dapat digunakan untuk setiap periode waktu untuk menambah atau menggantikan sebagian atau seluruh jaringan, organ atau fungsi tubuh, yang bertujuan untuk mempertahankan atau meningkatkan kualitas hidup individu [1]. Cacat tulang merupakan masalah yang sulit untuk ahli bedah dalam kasus bedah mulut dan rahang atas, bedah ortopedi, kraniofasial dan bedah plastik. Allograf dan autograf adalah bahan yang ideal untuk prosedur cangkok tulang, namun memiliki kekurangan seperti morbiditas donor, sedikitnya jumlah donor untuk autograf, pembedahan yang berulang dan penularan penyakit. Oleh karena itu, selama beberapa tahun terakhir implan biomaterial dari bahan logam, keramik dan polimer telah disarankan sebagai pengganti tulang [2,3].

Hidroksiapatit (HA) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, adalah senyawa mineral anggota kelompok mineral apatit yang merupakan unsur anorganik utama penyusun tulang dan gigi. HA memiliki beberapa karakteristik, yaitu bioaktif, biokompatibel, osteokonduktif, tidak toksik, dan tidak imunogenik, sehingga senyawa ini paling banyak digunakan untuk bahan pengganti tulang. HA dapat berasal dari bahan sintetik maupun bahan biologi, namun hidroksiapatit sintetik tidak memiliki sifat biologis yang memadai sebagai apatit alami dalam tulang. Oleh karena itu dikembangkan hidroksiapatit yang

bersumber dari bahan biologi seperti tulang ikan, tulang babi, cangkang tiram dan tulang sapi. HA dari bahan biologi bersifat lebih biodegradabel daripada stoikiometri HA yang dibuat dari bahan sintetik karena memiliki kristalinitas yang lebih rendah [4]. Namun demikian, hidroksiapatit memiliki kelemahan diantaranya, memiliki kekuatan fraktur rendah, kepadatan tinggi, keandalan mekanik rendah, dan kurangnya ketahanan sehingga sulit untuk membentuk butiran ke dalam bentuk yang diinginkan [2,5]. Untuk mengatasi masalah tersebut dikembangkan komposit gabungan dari keramik dengan polimer alam maupun sintetik.

Karakteristik bioaktif yaitu kemampuan untuk membentuk ikatan kimia langsung dengan jaringan disekitar material merupakan hal yang penting dalam biomaterial. Pengembangan lebih lanjut dilakukan dengan membuat komposit keramik/polimer, dimana sifat bioaktif dari partikel keramik dapat menempel pada matriks biodegradabel polimer. Kitosan, termasuk biopolimer alami yang dibentuk oleh N-deasetilasi dari polisakarida alami chitin memiliki sifat anti bakteri dan jamur, biokompatibel, biodegradabel dan toksisitas rendah [5,6]. Komposit HA-kitosan telah diteliti dan dikembangkan secara luas untuk dijadikan bahan cangkok tulang karena menunjukkan *cytocompatibility* yang baik dengan osteoblast dan menambah kekuatan mekanik dari hidroksiapatit/kitosan [7].

Beberapa penelitian tentang teknik pencampuran HA dengan kitosan telah dilakukan secara konvensional, dimana komposit kitosan/HA dibuat dengan mencampur partikel HA dengan matriks kitosan yang telah dilarutkan dengan asam asetat. Namun, sistem ini memiliki kekurangan yaitu bahwa partikel HA anorganik tidak dapat terdistribusi secara merata dalam matriks kitosan [4]. Ding et al [8], menggunakan proses presipitasi in-situ dari nano-HA dalam matriks kitosan. Bahan kimia sintetik penyusun HA dicampur dengan kitosan secara in-situ, diperoleh komposit dengan partikel HA yang terdispersi secara homogen dalam matriks kitosan. Rogina et al [9], juga menggunakan metode in situ dalam pembuatan nano HA dalam matriks kitosan yang menghasilkan komposit dengan panjang kristal 20-30 nm dan morfologi serat HA (400 nm) yang berinti pada rantai kitosan.

Pada penelitian ini, komposit biohidroksiapatit-kitosan dibuat dalam bentuk serbuk dengan metode pengeringan liofilisasi. Biohidroksiapatit diekstrak dari tulang sapi dan larutan kitosan dengan variasi konsentrasi ditambahkan ditengah proses ekstraksi biohidroksiapatit. Diharapkan diperoleh komposit bioHA-kitosan yang terdistribusi dengan baik. Karakterisasi struktur komposit dianalisis dengan Spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), pola difraksi sinar-X dianalisis menggunakan *X-Ray Diffractometer* (XRD), analisis termogravimetri dilakukan menggunakan alat *thermogravimetric analyzer* (TGA), dan analisis

morfologi sampel dilakukan menggunakan *Scanning Electron Microscope Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy* (SEM-EDX).

MATERIAL DAN METODOLOGI

Material

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tulang sapi bagian *femur*/paha yang diperoleh dari rumah potong hewan dan kitosan *medical grade* dari PT Biotech Surindo-Cirebon. Bahan kimia lain seperti CH_3COOH dan NaOH diperoleh dari Merck.

Pembuatan Komposit Biohidroksiapatit-Kitosan

Biohidroksiapatit diekstrak dari *femur* tulang sapi bagian korteks. Sebanyak 20 gram tulang korteks yang telah dihilangkan lemaknya ditambahkan dengan 10% larutan NaOH . Campuran tersebut di panaskan pada suhu $120\text{ }^\circ\text{C}$ pada tekanan $1\text{-}2\text{ kg/cm}^2$. Setelah itu, larutan NaOH yang telah berubah warna diganti dengan 10% larutan NaOH yang baru dan proses pemanasan diulang kembali. Sampel tulang dihancurkan dan dilakukan pengadukan disertai pemanasan dengan *magnetic stirrer* pada suhu $90\text{ -}100\text{ }^\circ\text{C}$. Setelah itu dilakukan proses homogenisasi menggunakan *homogenizer*. Proses ekstraksi dilanjutkan dengan mengganti larutan NaOH 10% dengan larutan NaOH 20% kemudian dilanjutkan dengan pengadukan disertai pemanasan. Ekstrak biohidroksiapatit didiamkan selama satu malam.

Ke dalam ekstrak biohidroksiapatit ditambahkan larutan kitosan 1 sampai dengan 4% yang dibuat dengan cara melarutkan serbuk kitosan dengan $1\text{ -}2\%$ CH_3COOH . Penambahan dilakukan setetes demi setetes dan disertai dengan pengadukan dan pemanasan pada suhu $40\text{ }^\circ\text{C}$. Komposit biohidroksiapatit-kitosan yang terbentuk disaring dan dicuci sampai pH netral kemudian dikeringkan dengan metode liofilisasi sehingga dihasilkan serbuk.

Karakterisasi Komposit Biohidroksiapatit-Kitosan

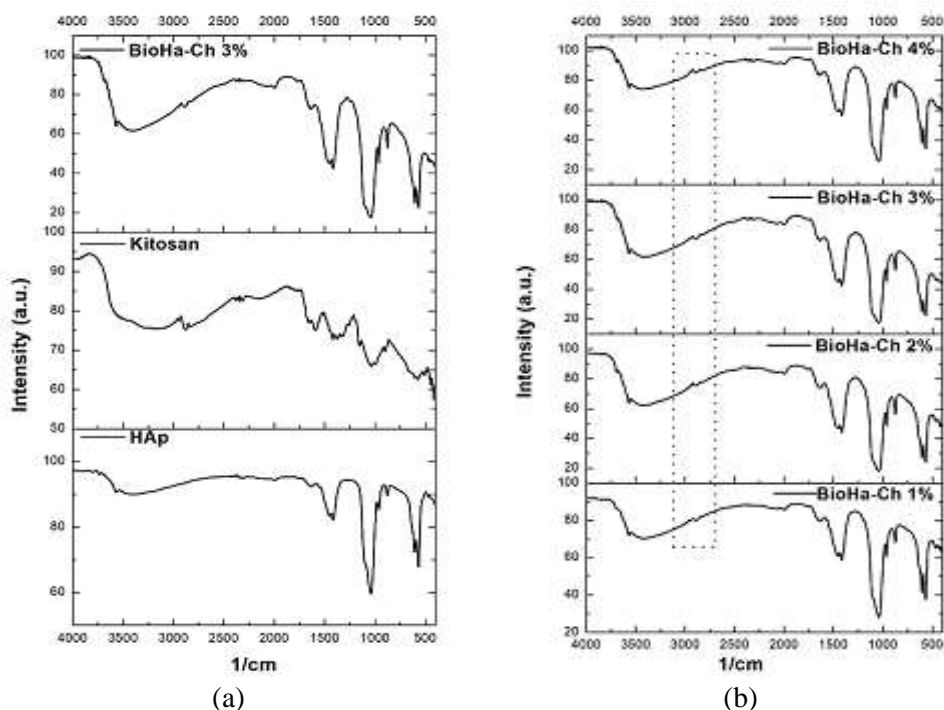
Analisis struktur komposit dilakukan menggunakan Spektrofotometer FTIR Prestige 21 model 8400 S (Shimadzu, Jepang). Preparasi sampel untuk pengujian FTIR dilakukan dengan metode KBr. Analisis dilakukan pada rentang pengukuran $4000\text{-}450\text{ cm}^{-1}$. Pola difraksi sinar-X dianalisis menggunakan XRD (Shimadzu XD-610) pada rentang pengukuran $5\text{-}60^\circ$. Analisis termogravimetri dilakukan menggunakan alat TGA (Shimadzu DTG-60) dengan kisaran suhu pemanasan $30\text{-}600\text{ }^\circ\text{C}$. Sampel dipanaskan dengan laju pemanasan $10^\circ\text{C}/\text{menit}$ tanpa nitrogen. Pada analisis TGA dilakukan radiasi gamma pada sampel komposit dengan dosis 25 kGy untuk

mengetahui pengaruh iradiasi terhadap komposit. Analisis morfologi permukaan sampel dilakukan menggunakan SEM-EDX (Zeiss 1550VP) dengan nilai *Electron High Tension* (EHT) sebesar 15,00 kV.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Struktur Komposit Biohidroksiapatit-Kitosan dengan FTIR

Pembuatan serbuk komposit biohidroksiapatit-kitosan dan pengeringan dengan teknik liofilisasi telah dilakukan. Komponen penyusun komposit diidentifikasi dan dianalisis dengan spektrum FTIR yang disajikan pada Gambar 1.

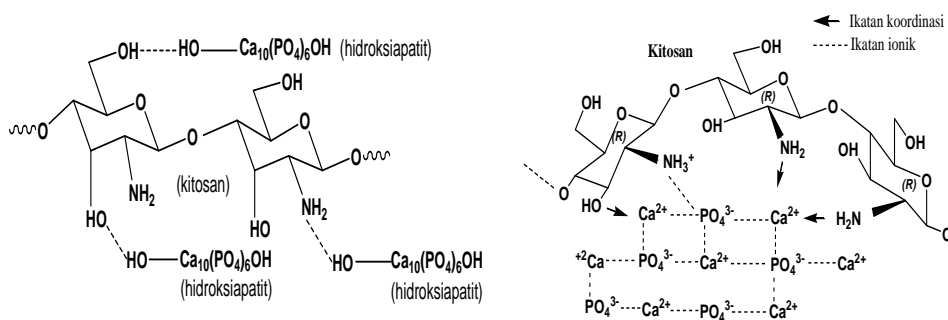


Gambar 1. Spektrum FTIR (a). Biohidroksiapatit, kitosan, biohidroksiapatit-kitosan 3% dan (b). Komposit biohidroksiapatit-kitosan 1-4%

Gambar 1(a) memperlihatkan spektrum FTIR masing-masing dari unsur penyusun komposit yaitu biohidroksiapatit dan kitosan, serta komposit yang terdiri dari biohidroksiapatit-kitosan. Spektrum infra merah dari hidroksiapatit terdiri dari serapan -OH pada panjang gelombang $3566 - 3385 \text{ cm}^{-1}$, vibrasi tekuk H-OH di 1641 cm^{-1} , vibrasi ulur dan tekuk dari karbonat (CO_3^{2-}) pada panjang gelombang 1413 cm^{-1} dan 873 cm^{-1} serta serapan fosfat

Pembuatan dan Karakterisasi Serbuk Komposit Biohidroksiapatit-Kitosan untuk Biomaterial (Yessy Warastuti)

(PO_4^{3-}) pada daerah 1037 cm^{-1} , 603 cm^{-1} dan 509 cm^{-1} . Spektrum FTIR dari kitosan memperlihatkan serapan yang khas dari vibrasi regang $-\text{OH}$ pada panjang gelombang 3540 cm^{-1} , vibrasi $\text{H}-\text{NH}$ pada $3280\text{--}3150\text{ cm}^{-1}$, vibrasi $-\text{CH}_2-$ pada 2877 cm^{-1} , serapan gugus $\text{N}-\text{H}$ pada 1647 cm^{-1} dan 1589 cm^{-1} , vibrasi $\text{C}-\text{OH}$ pada $1417\text{--}1319\text{ cm}^{-1}$, serta vibrasi $\text{C}-\text{N}$ pada 1259 cm^{-1} . Spektrum FTIR dari sampel komposit memperlihatkan gabungan serapan dari unsur penyusunnya yaitu biohidroksiapatit dan kitosan. Terlihat serapan khas gugus $-\text{OH}$ dari hidroksiapatit pada panjang gelombang 3568 cm^{-1} , karbonat dan fosfat berturut-turut pada panjang gelombang 1413 cm^{-1} dan 873 cm^{-1} serta pada daerah 1039 , 603 dan 567 cm^{-1} . Serapan khas dari kitosan terlihat pada daerah 2889 cm^{-1} yaitu vibrasi $-\text{CH}_2-$, vibrasi $\text{C}-\text{N}$ pada 1246 cm^{-1} . Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Tang *et al* [10]. Vibrasi khas dari $-\text{CH}_2-$ di daerah 2889 cm^{-1} intensitas puncaknya semakin bertambah dengan bertambahnya konsentrasi kitosan. Hal tersebut dapat diamati pada Gambar 1(b). Terlihat perbedaan intensitas antara komposit dengan kitosan 1 dan 4%. Terdapat pula serapan pada panjang gelombang $1629\text{--}1610\text{ cm}^{-1}$. Serapan pada panjang gelombang tersebut berada di sekitar vibrasi $\text{H}-\text{OH}$ dari hidroksiapatit dan vibrasi $\text{N}-\text{H}$ dari kitosan tetapi nilainya bergeser dari serapan unsur penyusunnya. Selain itu, terdapat perbedaan intensitas puncak serapan pada daerah $3400\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ dari gugus $-\text{OH}$ pada komposit yang bentuknya merupakan gabungan dari puncak serapan kitosan yang melebar dan serapan hidroksiapatit yang sempit. Hal-hal tersebut terjadi disebabkan adanya interaksi kimia dan ikatan hidrogen antara hidroksiapatit dan kitosan. Mekanisme ikatan hidrogen dan interaksi kimia tersebut disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. (a) Ikatan hidrogen dan (b) Interaksi kimia antara hidroksiapatit dan kitosan

Ikatan hidrogen antara gugus hidroksil dan amino dari kitosan dan gugus hidroksil dari hidroksiapatit memainkan peran penting dalam proses pembentukan komposit. Terbentuknya ikatan hidrogen merupakan salah satu

kelengkapan yang diperlukan dari suatu material komposit agar dapat digunakan sebagai perancah pada rekayasa jaringan untuk aplikasi medis. Ikatan hidrogen pada Gambar 2(a) terjadi antara gugus $-OH$ dari hidroksiapatit yang berikatan dengan ion amino ($-NH_2$) dan hidroksil ($-OH$) dari kitosan [11]. Mekanisme interaksi kimia yang terjadi antara hidroksiapatit dan kitosan digambarkan pada Gambar 2(b). Ion kalsium dari permukaan hidroksiapatit dapat membentuk ikatan donor-akseptor dengan gugus hidroksil dan amino bebas dari kitosan. Ion fosfat pada permukaan hidroksiapatit dapat membentuk ikatan ionik dengan sebagian gugus amino terprotonasi pada kitosan. Gugus amino bebas ($-NH_2$) dan gugus karboksil ($-COOH$, $-COO^-$) juga dapat membentuk ikatan koordinasi dengan ion permukaan dari hidroksiapatit [12].

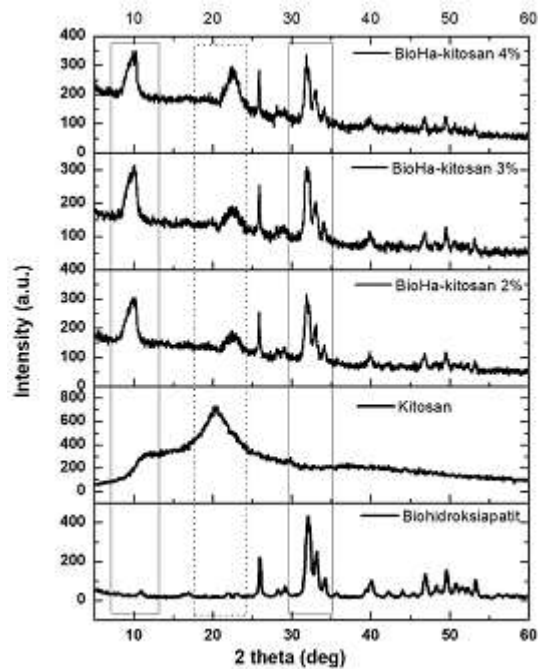
Analisis Struktur Komposit Biohidroksiapatit-Kitosan dengan XRD

Setiap senyawa kimia memiliki struktur kristal dan atom-atom penyusun yang berbeda-beda, sehingga menghasilkan pola difraksi yang berbeda pula. Oleh karena itu dilakukan karakterisasi dengan spektrofotometer XRD untuk mengetahui kristalinitas dari serbuk komposit biohidroksiapatit-kitosan dan dibandingkan dengan derajat kristalinitas dari hidroksiapatit. Pola difraksi sinar X dari hidroksiapatit, kitosan, komposit biohidroksiapatit-kitosan 2, 3, dan 4% disajikan pada Gambar 3.

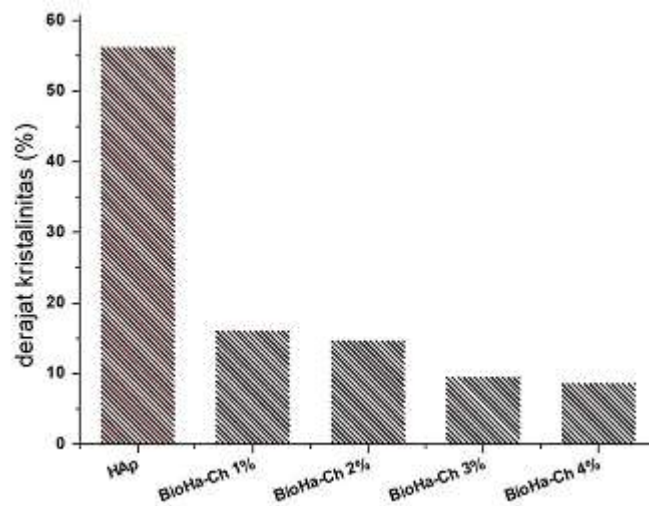
Dari Gambar 3 terlihat pola difraksi yang khas dari hidroksiapatit yaitu pada daerah 2θ $26,1^\circ$ (002), $32,7^\circ$ (211), $33,14^\circ$ (112) dan $34,2^\circ$ (300). Kitosan juga memperlihatkan puncak difraksi yang khas pada daerah $11,5^\circ$ dan $20,5^\circ$. Terlihat bahwa hidroksiapatit bersifat kristalin karena puncak difraksi yang dihasilkan berupa puncak-puncak yang tajam, sedangkan kitosan bersifat amorf karena puncaknya cenderung melebar. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Basargan *et al* dan Lowe *et al* [13,14]. Pola difraksi sinar X dari komposit biohidroksiapatit-kitosan memperlihatkan gabungan puncak difraksi dari unsur penyusunnya, yaitu kitosan dan hidroksiapatit. Teramati pula pola difraksi komposit menunjukkan puncak difraksi yang melebar dan overlap antara puncak kitosan dan hidroksiapatit, menyiratkan kristalinitas yang rendah [8]. Pada komposit terlihat puncak difraksi dari hidroksiapatit di sekitar daerah 26° dan 32° , sedangkan puncak difraksi dari kitosan agak sedikit bergeser ke posisi 2θ yang lebih tinggi yaitu pada daerah di sekitar 22° . Hal ini mungkin disebabkan karena kompresi dari matriks polimer yang berkontraksi melalui ikatan antar muka dengan partikel hidroksiapatit. Puncak difraksi dari komposit menjadi lebih melebar jika dibandingkan dengan hidroksiapatit tunggal. Selain itu, intensitas pola difraksi dari komposit juga menunjukkan sedikit perbedaan. Terlihat bahwa semakin tinggi kadar kitosan dalam komposit, semakin tinggi pula intensitas puncak difraksinya. Intensitas

Pembuatan dan Karakterisasi Serbuk Komposit Biohidroksiapatit-Kitosan untuk Biomaterial (Yessy Warastuti)

puncak komposit biohidroksiapatit-kitosan 4% lebih tinggi daripada komposit dengan kadar kitosan 2 dan 3%.



Gambar 3. Spektrum XRD dari hidroksiapatit, kitosan dan komposit biohidroksiapatit-kitosan 2, 3, dan 4%



Gambar 4. Grafik perbandingan nilai derajat kristalinitas antara hidroksiapatit dengan komposit biohidroksiapatit-kitosan

Derajat kristalinitas dari komposit dapat dihitung dari pola difraksi yang terbentuk dengan menggunakan persamaan yang dikerjakan oleh Sallam *et al* [15] yaitu:

$$X_c = 1 - \frac{V_{112/300}}{I_{300}}$$

dimana X_c adalah derajat kristalinitas, I_{300} : Intensitas pada puncak difraksi (300) dan $V_{112/300}$: Intensitas pada lembah antara puncak difraksi (112) dan (300). Dari persamaan tersebut diperoleh perbandingan nilai derajat kristalinitas antara hidroksiapatit dengan komposit biohidroksiapatit-kitosan yang disajikan pada Gambar 4.

Dari grafik pada Gambar 4 terlihat bahwa hidroksiapatit memiliki derajat kristalinitas sebesar 56,33%. Nilai tersebut menurun setelah pembentukan komposit dan nilainya semakin menurun seiring dengan bertambahnya konsentrasi kitosan dalam komposit. Perubahan bentuk puncak difraksi, pergeseran posisi 2θ dan penurunan nilai derajat kristalinitas mengkonfirmasi adanya ikatan yang terjadi antara partikel hidroksiapatit dengan matriks polimer dan adanya interaksi molekuler antara unsur penyusun komposit [16]. Mekanisme ikatan dan interaksi yang terjadi antara hidroksiapatit dan kitosan pada Gambar 2 telah dijelaskan sebelumnya.

Analisis Sifat Termal Komposit Biohidroksiapatit-Kitosan dengan TGA

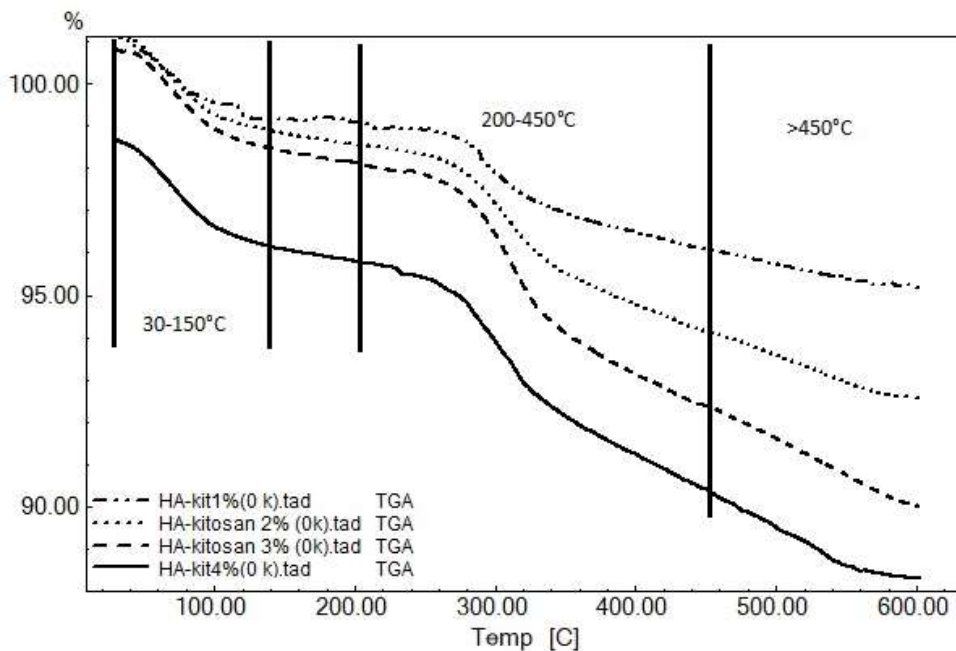
Analisis TGA pada sampel komposit dilakukan untuk mengetahui kehilangan bobot sampel akibat pengaruh pemanasan dan sterilisasi karena komposit yang digunakan untuk aplikasi klinis harus bersifat steril dan *ready to use*. Proses sterilisasi dilakukan menggunakan iradiasi gamma pada dosis 25 kGy. Untuk melihat pengaruh Kurva hasil analisis TGA pada sampel komposit disajikan pada Gambar 5 dan 6.

Gambar 5 memperlihatkan kurva TGA bioHA-kitosan pada dosis 0 kGy. Komposit bioHA-kitosan 1% kehilangan bobot total sebesar 5,950 %; bioHA-kitosan 2% kehilangan bobot total sebesar 8,190%; 10,335 % bobot total yang hilang untuk komposit bioHA-kitosan 3% dan kehilangan bobot total sebesar 10,720 % untuk komposit bioHA-kitosan 4%. Pada Gambar 6, komposit dengan dosis iradiasi 25 kGy, kehilangan bobot total yang diperoleh sebesar 6,630; 8,672; 10,364 dan 10,801% terjadi pada komposit dengan penambahan kitosan masing-masing sebesar 1, 2, 3 dan 4% setelah diberikan iradiasi. Dari hasil terlihat bahwa penambahan konsentrasi kitosan meningkatkan besarnya kehilangan bobot total. Hal ini disebabkan karena kitosan yang merupakan senyawa organik memiliki suhu leleh sekitar 264-266 °C [21]. Dengan diberikan pemanasan sampai dengan suhu 600 °C mengakibatkan kitosan mengalami pelelehan. Dilain pihak, hidroksiapatit merupakan senyawa anorganik yang memiliki suhu leleh yang lebih tinggi yaitu berkisar 953 °C [22], sehingga dengan pemanasan sampai dengan 600

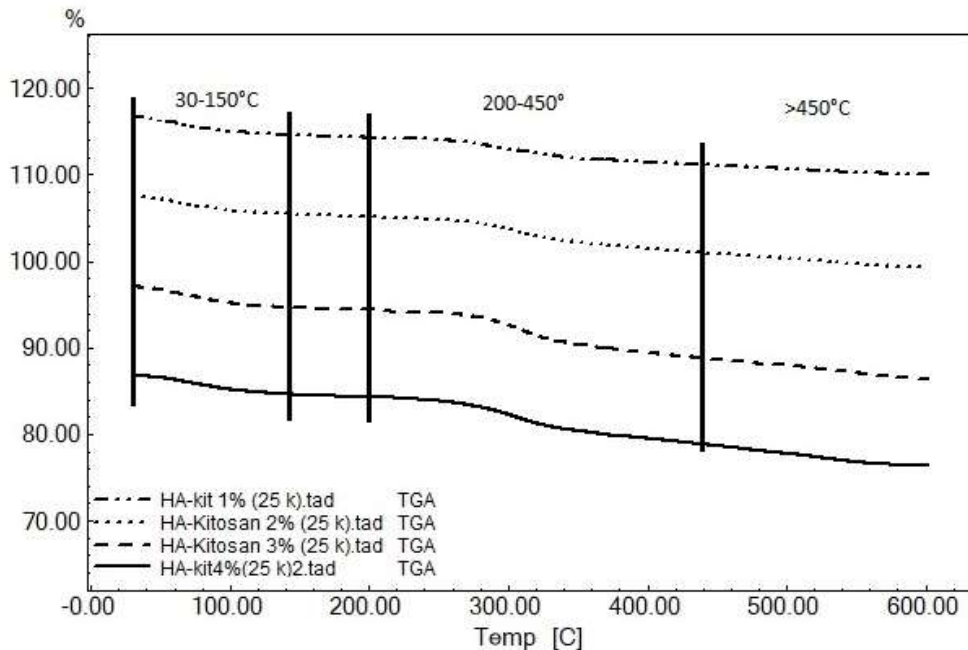
Pembuatan dan Karakterisasi Serbuk Komposit Biohidroksiapatit-Kitosan untuk Biomaterial (Yessy Warastuti)

°C, hidroksiapatit masih ada. Selain itu, kehilangan bobot total juga dipengaruhi oleh besarnya dosis iradiasi gamma yang diberikan. Semakin besar dosis iradiasi gamma yang diberikan mengakibatkan peningkatan kehilangan bobot total. Kehilangan bobot total pada dosis 25 kGy lebih besar dibanding tanpa iradiasi (dosis 0 kGy). Hal ini disebabkan karena iradiasi menyebabkan putusya ikatan -NH yang dimiliki oleh kitosan [23], namun lain halnya dengan hidroksiapatit yang tidak mengalami perubahan struktur ikatan kimia [24]. Dengan putusya ikatan kimia pada kitosan maka mengakibatkan kitosan lebih mudah terdegradasi oleh panas.

Diketahui adanya 3 tahap degradasi yang menyebabkan kehilangan bobot komposit bioHA-kitosan secara total. Degradasi yang pertama adalah yang terjadi pada kisaran suhu 30-150 °C yang disebabkan oleh hilang atau menguapnya molekul air yang secara fisik dan kimia berikatan dengan komposit [17]. Tahap kedua adalah degradasi yang terjadi pada kisaran suhu 200-450 °C. Degradasi pada kisaran ini disebabkan karena dekomposisi biopolimer secara thermal dan oksidatif [17-19]. Tahapan degradasi yang terakhir adalah yang terjadi diatas suhu 450 °C, dimana pada kisaran ini terjadi fase dehidroksilasi dari dekomposisi hidroksiapatit [20].



Gambar 5. Kurva TGA bioHA-kitosan 1- 4%, dosis 0 kGy

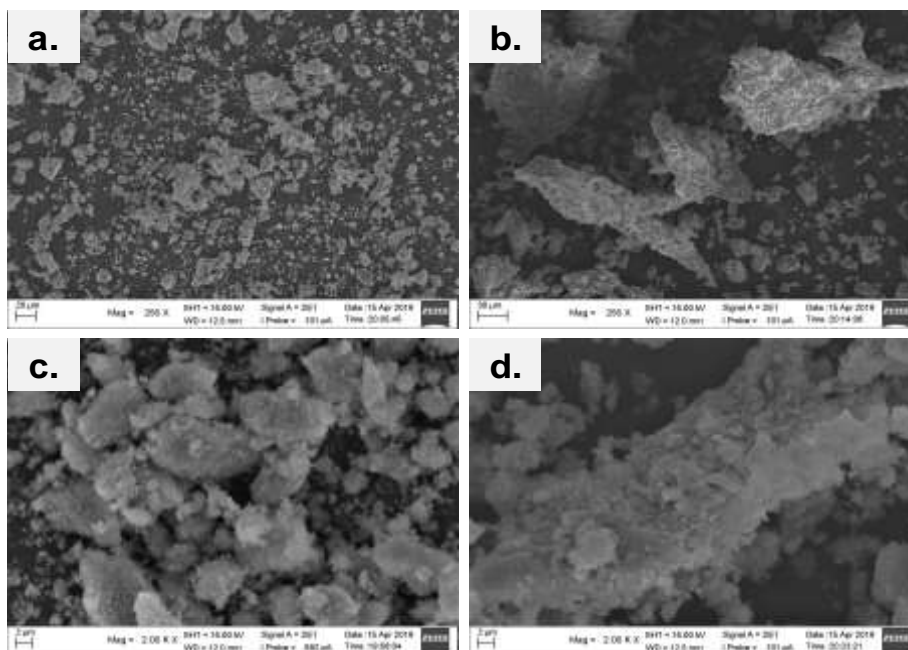


Gambar 6. Kurva TGA bioHA-kitosan 1- 4%, dosis 25 kGy

Analisis Morfologi Komposit Biohidroksiapatit-Kitosan dengan SEM-EDX

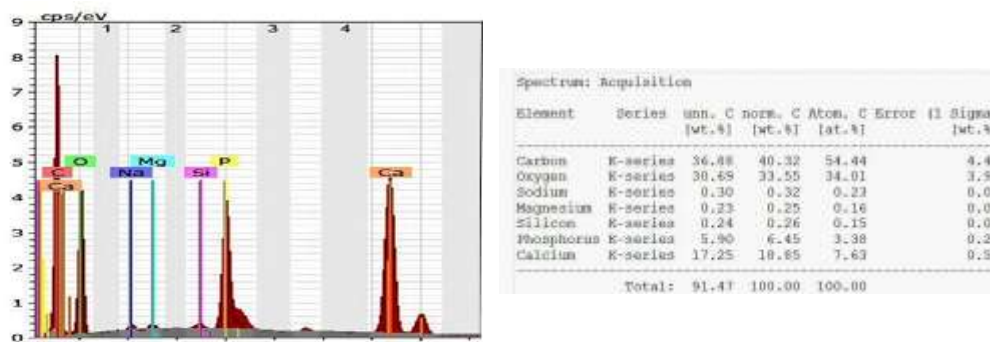
Morfologi permukaan serbuk bioHA dan komposit bioHA-kitosan dianalisis menggunakan SEM. Hasilnya disajikan pada Gambar 7. Foto SEM pada Gambar 7 memperlihatkan morfologi permukaan serbuk bioHA dan komposit bioHA-kitosan dengan perbesaran 250 kali dan 2000 kali. Gambar 7(a) dan 7(c) adalah morfologi dari biohidroksiapatit yang memperlihatkan struktur berbentuk serpihan irregular dengan ukuran 20 μm – 100 μm serta membentuk gumpalan karena kecenderungan hidroksiapatit mengalami aglomerasi [13]. Partikel dengan ukuran yang halus seperti HA, memiliki luas permukaan yang sangat tinggi. Terdapat interaksi antar molekul dengan energi permukaan yang besar, sehingga untuk meminimalkan kelebihan energi tersebut ada kecenderungan partikel-partikel tersebut saling menggumpal satu sama lain. Setelah terbentuk komposit antara bioHA dengan kitosan, terbentuk gumpalan dengan ukuran yang lebih besar dari pada ukuran bioHA saja, yaitu sekitar 20 μm – 200 μm seperti terlihat pada Gambar 7(b) dan 7(d). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dikerjakan oleh Zhang et al [25]. Aglomerasi yang lebih tinggi pada komposit mungkin terkait dengan penambahan kitosan [13]. Seperti telah dijelaskan sebelumnya, terjadi interaksi antara kitosan dengan hidroksiapatit. Dari Gambar 7(b) jika dibandingkan dengan Gambar 7(a) terlihat bahwa pada komposit (7b) terbentuk serpihan memanjang yang bentuknya mirip kitosan *flakes*.

Pembuatan dan Karakterisasi Serbuk Komposit Biohidroksiapatit-Kitosan untuk Biomaterial (Yessy Warastuti)



Gambar 7. Foto SEM (a). BioHA perbesaran 250 x, (b). Komposit bioHA-kitosan 2% perbesaran 250 x, (c). BioHA perbesaran 2000 x, dan (d). Komposit bioHA-kitosan 2% perbesaran 2000 x

Spektrum EDX dari serbuk komposit biohidroksiapatit-kitosan yang disajikan pada Gambar 8 memperlihatkan elemen yang dominan dari komposit yaitu unsur karbon (36,8%), oksigen (33,5%), fosfor (5,9%) dan kalsium (17,25%). Analisis EDX permukaan serbuk komposit mendeteksi adanya unsur kalsium dan fosfor dari biohidroksiapatit [26]. Hal tersebut mengindikasikan unsur penyusun biohidroksiapatit masih tetap ada di dalam komposit dan tidak terbentuk elemen baru.



Gambar 8. Spektrum EDX Serbuk Biohidroksiapatit-Kitosan

KESIMPULAN

Pada penelitian ini telah dilakukan pembuatan serbuk komposit biohidroksiapatit-kitosan beserta karakterisasinya. Karakterisasi struktur komposit dengan FTIR dan pola difraksi dengan XRD menunjukkan bahwa komposit yang terbentuk terdiri dari unsur penyusunnya yaitu biohidroksiapatit dan kitosan yang berinteraksi membentuk ikatan hidrogen dan tidak terbentuk elemen baru. Komposit untuk aplikasi klinis harus steril dan *ready to use*, oleh karena itu analisis TGA dilakukan untuk melihat efek radiasi terhadap persen kehilangan bobot. Komposit bioHA-kitosan 4% memiliki persen kehilangan bobot paling besar yaitu 10,36%. Nilai tersebut bertambah pada komposit yang diiradiasi gamma dosis 25 kGy karena putusannya ikatan –NH pada kitosan akibat radiasi. Analisa morfologi SEM menunjukkan struktur komposit berbentuk serpihan irregular dengan kecenderungan aglomerasi. Berdasarkan hasil karakterisasi dihasilkan komposit yang prospektif untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai biomaterial untuk aplikasi klinis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada bapak Darmono dari Balai Iradiasi, Elektromekanik, dan Instrumentasi – PAIR BATAN yang telah membantu penulis melakukan iradiasi sampel serbuk komposit biohidroksiapatit-kitosan menggunakan radiasi gamma.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Bergmann CP, Stumpf A. Dental Ceramics, Topics in Mining, Metallurgy and Materials Engineering. Chapter 2: Biomaterial. Berlin: Springer-Verlag Heidelberg; 2013.
- [2]. Yuan H, Chena N, Lüb X, Zhengba B. Experimental study of natural hydroxyapatite/chitosan composite on reconstructing bone defects. *J Nanjing Medical Univ* 2008;22(6):372-5.
- [3]. Lee JS, Baek SD, Venkatesan J, Bhatnagar I, Chang HK, Kim HT, Kim SK. In vivo study of chitosan-natural nano hydroxyapatite scaffolds for bone tissue regeneration. *Int J Biol Macromol* 2014;67:360-6.
- [4]. Peniche C, Solis Y, Davidenko N, Garcia R. Chitosan/hydroxyapatite-based composites. *Biotechnol Appl* 2010;27:202-10.
- [5]. Simionescu BC, Ivanov D. Natural and synthetic polymers for designing composite materials. *Handbook of Bioceramics and Biocomposites*. Switzerland: Springer International Publishing; 2016.

- [6]. Pandey AR, Singh US, Momin M, Bhavsar C. Chitosan: Application in tissue engineering and skin grafting. *Polym Res* 2017; 24(125):1-22.
- [7]. Wang X, Liu L, Zhang Q. A Study on Nano-hydroxyapatite-chitosan scaffold for bone tissue engineering. *Chinese journal of reparative and reconstructive surgery* 2007; 21(2):120-124.
- [8]. Ding C-C, Teng S-H, Pan H. In-situ generation of chitosan/hydroxyapatite composite microspheres for biomedical application. *Mater Lett* 2012;79:72-4.
- [9]. Rogina A, Ivankovic M, Ivankovic H. Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite within chitosan matrix. *Mater Sci Eng C* 2013;33:4539-44.
- [10]. Tang S, Tian B, Guo YJ,. Chitosan/carbonated hydroxyapatite composite coatings: Fabrication, structure and biocompatibility. *Surface and Coating Tech* 2014; 251:210-216.
- [11]. Pighinelli L, Kucharska M. Chitosan-hydroxyapatite composites. *Carbohydr Polym* 2013;93:256-62.
- [12]. Shaihalieva AI, Krasnovb MS, Il'inab AP, Yamskovab OV. The effect of the chemical nature of implant materials on regeneration processes in an implant site. *Biophysics* 2016;61(4);687-95.
- [13]. Basargan T, Erdol N, Nasun G. Hydroxyapatite-chitosan biocomposites synthesized in the simulated body fluid and their drug loading studies. *J Mater Sci: Mater Med* 2017;28(180):1-10.
- [14]. Lowe B, Venkatesan J, Anil S, Shim MS, Kim S. Preparation and characterization of chitosan-natural nanohydroxyapatite-fucoidan nanocomposites for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol* 2016;93:1479-87.
- [15]. Sallam SM, Tohami KM, Sallam AM, Salem LA, Mohamed FA. Synthesis and characterization of hydroxyapatite contain chromium. *J Biophys Chem* 2012;3(4):278-82.
- [16]. Nikpour MR, Rabiee SM, Jahanshahi M. Synthesis and characterization of hydroxyapatite/chitosan nanocomposite materials for medical engineering applications. *Composites* 2012;43:1881-6.
- [17]. Szatkowski T, Kolodziejczak-Radzimska A, Zdarta J, Szwarc-Rzepka K, Paukszta D, Wysokowski M, Ehrlich H, Jesionowski T. Synthesis and characterization of hydroxyapatite/chitosan composites. *Physicochem Probl Miner Process* 2015;51(2):575-85.
- [18]. Ma G, Yang D, Kennedy JF, Nie J. Synthesize and characterization of organic-soluble acylated chitosan. *Carbohydr Polym* 2009;75:390-4.
- [19]. Neto CGT, Giacometti JA, Job AE, Ferreira FC, Fonseca JLC, Pereira MR. Thermal analysis of chitosan based networks. *Carbohydr Polym* 2005;62:97-103.

- [20]. Wang T, Dornel-Reisel A, Muller E. Thermogravimetric and thermokinetic investigation of the dehydroxylation of a hydroxyapatite powder. *J Eur Ceram Soc* 2004;24:693-8.
- [21]. Rajisman, Pramudita IRN. Pembuatan dan karakterisasi plastik biodegradable dari campuran limbah plastik polipropilen dan kitosan menggunakan metode tanpa pelarut. Fakultas MIPA . Lampung: Unila; 2013.
- [22]. Kusriani E, Sontang M. Characterization of x-ray diffraction and electro spin resonance: Effect of sintering time and temperature on bovine hydroxyapatite. *Radiat Phys Chem* 2012;81(2):118-25.
- [23]. Indrani DJ, Lukitowati F, Yulizar Y. Preparation of chitosan/collagen blend membranes for wound dressing: A study on FTIR spectroscopy and mechanical properties. *IOP Conf Series: Mater Sci Eng* 2017;202:1-9.
- [24]. Warastuti Y, Abbas B. Sintesis dan karakterisasi pasta injectable bone substitute iradiasi berbasis hidroksiapatit. *Jurnal ilmiah aplikasi isotop dan radiasi*. 2011;7(2):73-82.
- [25]. Zhang J, Liu G, Wu Q, Zuo J, Qin Y and Wang J. Novel mesoporous hydroxyapatite/chitosan composite for bone repair. *J Bionic Eng* 2012;9:243-51.
- [26]. Okada T, Nobunaga Y, Konishi T, Yoshioka T, Hayakawa S. Preparation of chitosan-hydroxyapatite composite mono-fiber using coagulation method and their mechanical properties. *Carbohydr Polym* 2017;175:355-60.