

ISSN 2088 – 026X

Kimia dan Kemasan

Journal of Chemical and Packaging

Vol. 34 No. 1 April 2012



**KEMENTERIAN PERINDUSTRIAN
BADAN PENGKAJIAN KEBIJAKAN IKLIM DAN MUTU INDUSTRI
BALAI BESAR KIMIA DAN KEMASAN**

J. Kimia Kemasan	Vol. 34	No. 1	Hal. 187 - 236	Jakarta April 2012	ISSN 2088 – 026X
-----------------------------	----------------	--------------	---------------------------	-------------------------------	-----------------------------

Terakreditasi B No : 325/Akred-LIPI/P2MBI/04/2011

SINTESIS HIDROKSIAPATIT BERPORI DENGAN POROGEN KITOSAN DAN KARAKTERISASINYA

(SYNTHESIS OF HYDROXYAPATITE POROUS WITH CHITOSAN POROGEN AND ITS CHARACTERIZATION)

Sulistioso GS¹, Deswita¹, Armi Wulanawati², dan Ayu Romawati²

¹) Pusat Teknologi Bahan Industri Nuklir, BATAN
Kawasan Puspiptek, Serpong 15314, Tangerang Selatan

²) Dept. Kimia – FMIPA IPB

E-mail :

Received 27 Januari 2012; accepted 11 April 2012

ABSTRAK

Telah dilakukan sintesis hidroksiapatit (HAp) berpori dengan porogen kitosan, menggunakan metode sol-gel. HAp disintesis dari kalsium yang direaksikan dengan asam fosfat. Kalsium yang digunakan diekstrak dari cangkang telur ayam dan asam fosfat teknis. Kitosan sebagai porogen merupakan material yang biokompatibel, sehingga aman bagi tubuh manusia, karena hidroksiapatit digunakan untuk merekonstruksi tulang yang rusak. Analisis sampel dilakukan dengan menggunakan X-ray Diffraction (XRD), Scanning Electron Microscope (SEM), dan Simulated Body Fluid (SBF). Pola difraksi hidroksiapatit menunjukkan terbentuknya HAp dengan kemurnian tinggi dengan seluruh puncak yang muncul adalah puncak HAp. Dari foto-foto SEM menunjukkan telah terbentuk pori-pori dengan ukuran 1 sampai 2 mikrometer, uji pelepasan Ca pada SBF menunjukkan kondisi negatif setelah pengamatan selama 21 hari.

Kata kunci : Hidroksiapatit, Porogen kitosan, Sol-gel, Cangkang telur.

ABSTRACT

Synthesis of hydroxyapatite (HAp) porous with chitosan porogen, using sol gel method was carried out. HAp is synthesized from calcium reacted with phosphoric acid while calcium used was extracted from chicken eggshell. Chitosan was selected as a porogen which being as a biocompatible material, and safe for the human body, because the application of hydroxyapatite is to reconstruct the damaged bone. Sample analysis was performed by using X-ray Diffraction (XRD), Scanning Electron Microscope (SEM), dan Simulated Body Fluid (SBF). Characterization by XRD shows the diffraction pattern of hydroxyapatite formed with high purity HAp with a peak that appears entirely is the culmination HAp. SEM photos show pores with a size of 1 until 2 micrometers are formed, the release of Ca test in SBF showed a negative condition after observation for 21 days

Key words : Hydroxyapatite , Chitosan porogen, Sol-gel , Eggshell.

PENDAHULUAN

Pemilihan biomaterial yang tepat sangat diperlukan dalam proses pengganti tulang, antara lain mudah diperoleh, biokompatibel, bioaktif, dan tidak toksik (Riyani 2005). Material pengganti tulang yang umum digunakan adalah autograf (penggantian satu bagian tubuh dengan

bagian tubuh lainnya dalam satu individu), allograf (penggantian tulang manusia dengan tulang yang berasal dari manusia lain), xenograf (penggantian tulang manusia dengan tulang yang berasal dari hewan). Namun, material

pengganti tulang ini biasanya tersedia dalam jumlah terbatas (Ratih *et al.* 2003).

Adanya keterbatasan dalam setiap material, memicu perkembangan riset dibidang biomaterial. Hingga saat ini studi mengenai biomaterial terus berkembang, terutama material hidroksiapatit (HAp) yang merupakan senyawa mineral dan bagian dari kelompok mineral apatit, dengan rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Sebagai suatu bahan keramik yang memiliki kesamaan komposisi kimia dengan jaringan tulang (Bahrololoom *et al.* 2009). HAp dapat diperoleh dari sumber alami atau melalui sintesis kimia. Material HAp dapat disintesis dengan menggabungkan sumber Ca dan P dengan nisbah Ca/P sebesar 1,67 (Prabakaran *et al.* 2005). HAp memiliki sifat biokompatibel dan bioaktif.

Akhir-akhir ini, berkembang penelitian pada morfologi HAp berpori dan HAp berpori telah digunakan dalam aplikasi biomedis khususnya regenerasi jaringan tulang, pada seminar sehari Biomaterial yang diadakan oleh PTBIN – BATAN pada tanggal 12 Oktober 2011 DR. Fauzi Kamal spesialis orthopedi dari RSCM mengatakan bahwa hidroksiapatit berpori sangat efektif untuk merekonstruksi tulang yang rusak, karena pori-pori dari HAp akan menjadi pemicu tumbuhnya sel-sel tulang baru, saat ini hidroksiapatit berpori masih impor dan harganya mencapai 10 juta rupiah untuk 5 gram.

Pembentukan HAp berpori dapat dilakukan menggunakan bahan porogen yang akan menghilang selama proses kalsinasi. Bahan-bahan yang dapat digunakan sebagai porogen antara lain parafin, naftalena, pati atau beberapa polimer seperti *polylactic acid (PLA)*, *polyglycolic acid (PGA)*, gelatin, alginat, dan kitosan (Sopyan 2007). Pada penelitian ini digunakan kitosan sebagai porogen karena kitosan adalah polimer alam yang memiliki sifat biodegradabel, tidak beracun, dan biokompatibel (Kim *et al.* 2007). Kitosan dapat diperoleh dari deasetilasi kitin dan tersusun atas unit berulang 2-amino-2-deoksi-D-glukopiranosida yang terhubung oleh ikatan β -1,4 glikosida.

Sintesis hidroksiapatit dapat dilakukan dengan 2 metode, yaitu metode kering dan basah (Aoki 1991). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode basah yaitu metode sol gel. Menurut Madhavi *et al.* (2005), keuntungan menggunakan metode sol gel dalam prosesnya akan menghasilkan HAp yang memiliki kemurnian yang cukup tinggi. Proses sol gel diawali dengan pembentukan koloid yang memiliki padatan tersuspensi di dalam

larutannya (kondisi ini disebut sol). Sol ini kemudian akan mengalami perubahan fasa menjadi gel, yaitu koloid yang memiliki fraksi solid yang lebih besar daripada sol. Gel ini akan mengalami perubahan fasa padat menjadi keras, dan selanjutnya dipanaskan untuk membentuk keramik (Dawnay 1997).

BAHAN DAN METODE

Preparasi Larutan Kitosan

Larutan kitosan dibuat melalui modifikasi metode Kim (2007). Larutan kitosan 4% dibuat dengan melarutkan 4 gram serbuk kitosan ke dalam larutan asam asetat 2% sebanyak 100 mL. Larutan ini diaduk dengan kecepatan pengadukan 300 rpm pada suhu kamar selama 3 jam kemudian dibiarkan selama 24 jam untuk melarutkan kitosan.

Preparasi Cangkang Telur

Tahap pertama, cangkang telur ayam dicuci, untuk menghilangkan kotoran di permukaan, kemudian lapisan membran di bagian dalam cangkang telur ayam dihilangkan. Tahap selanjutnya cangkang telur yang sudah bersih dipanaskan di dalam furnace pada temperatur 1000°C, selama 6 jam (Pankaew 2010).

Sintesis HAp Berpori

Serbuk cangkang telur yang ditambahkan 50 mL etanol 96% kemudian dicampurkan dengan 3 mL H_3PO_4 80% yang dilarutkan dalam 50 mL etanol 96% dilakukan dengan penetesan dari buret sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Kemudian ke dalam campuran tersebut ditambahkan larutan kitosan dengan cara diteteskan dengan menggunakan buret.

Campuran tersebut kemudian diaduk dengan kecepatan pengadukan 300 rpm pada suhu 37°C selama 4 jam untuk mendapatkan campuran larutan yang homogen kemudian dipanaskan dalam media air bersuhu 60°C selama 1 jam. Setelah itu larutan diendapkan dalam suhu kamar selama 24 jam, kemudian diaduk pada suhu 60°C sampai larutan berubah menjadi gel. Gel yang diperoleh dipanaskan dalam furnace pada suhu 1000°C selama 5 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mekanisme Terjadinya Pori

Larutan kitosan dicampurkan ke dalam campuran CaO dan H_3PO_4 , kemudian dipanaskan, pada saat suhu mencapai diatas

100°C, campuran CaO dan H₃PO₄ membentuk *cluster*, karena kitosan tidak larut di dalam campuran CaO dan H₃PO₄, maka larutan kitosan terjebak di dalam *cluster-cluster* tersebut (Gambar 1a dan Gambar 1b). Selama proses pemanasan campuran CaO dan H₃PO₄ akan bereaksi membentuk fasa stabil hidroksiapatit (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂), dan kitosan yang terjebak akan terurai.

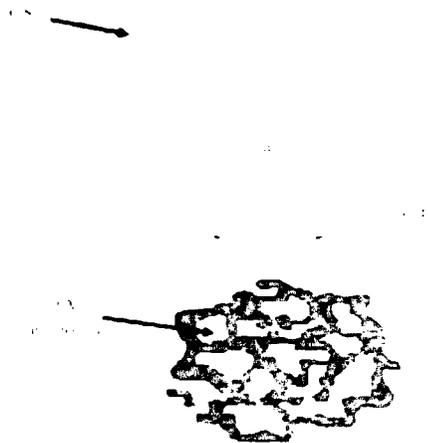
Reaksi lengkap pembentukan hidroksiapatit :



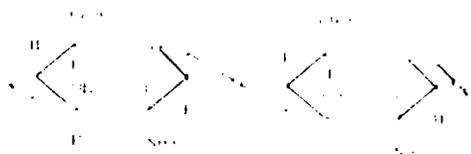
Kitosan akan terbakar pada suhu 600°C dan terurai menjadi unsur-unsurnya pada suhu 1000°C. Sehingga pada pemanasan 1000°C, kitosan akan menghilang dan akan meninggalkan pori-pori pada HAp (Gambar 1b) (Ramli *et al* 2011).

Karakterisasi

Kitosan yang digunakan berasal dari Departemen Biokimia IPB, yang dibuat dari kulit udang. Gambar struktur molekul kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Mekanisme terjadinya pori



Gambar 2. Struktur molekul kitosan (Hale 1986)

Pola Difraksi dari Kitosan

Gambar pola difraksi dari kitosan pada Gambar 3 adalah sama dengan gambar pola difraksi selulosa pada umumnya, kitosan yang digunakan pada penelitian ini mempunyai derajat kristalinitas 68%, yang dihitung dari luas puncak area kristal dibandingkan luas area *amorf*.

Pola Difraksi dari Cangkang Telur Ayam

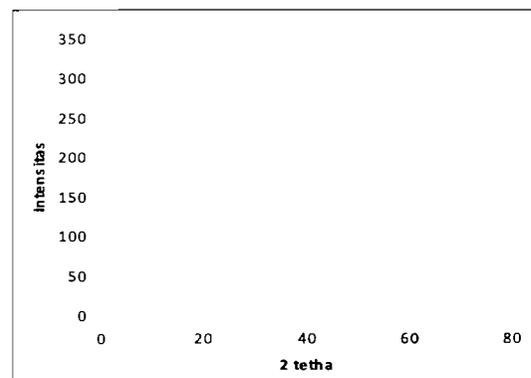
Gambar 4 dan Gambar 5 menunjukkan pola difraksi dari cangkang telur ayam sebelum dan setelah dipanaskan. Sebelum dipanaskan tampak bahwa fasa dari cangkang telur ayam adalah CaCO₃ dan Ca₃(PO₄)₂ dan setelah dipanaskan pada suhu 1000°C, selama 6 jam, fasanya berubah menjadi CaO saja.

Pola difraksi dari hidroksiapatit yang disintesis dari CaO yang diekstrak dari cangkang telur ayam dan direaksikan dengan H₃PO₄ teknis ditunjukkan pada Gambar 6. Kedua bahan tersebut di atas mudah didapat dan relatif murah, dan hasil yang didapat sudah murni. Pada umumnya hasil hidroksiapatit yang disintesis dari CaO dan H₃PO₄, masih menyisakan fasa CaO atau fasa apatit yang lain, tapi dari pola difraksi di bawah ini, tidak tampak fasa CaO ataupun fasa-fasa apatit yang lain. Keberadaan dari fasa-fasa lain tetap masih mungkin, tapi ordenya dibawah 1%, karena difraksi sinar X yang ada di BBIN, tidak dapat mendeteksi fasa-fasa yang ordenya kecil.

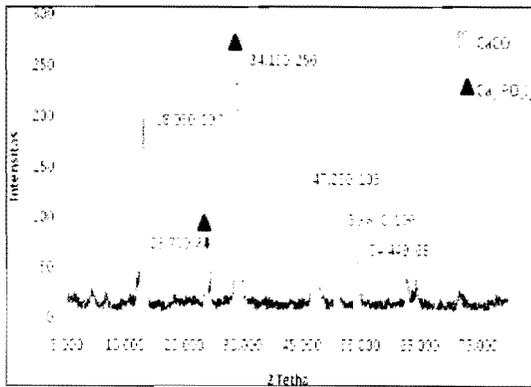
Pola difraksi pada Gambar 6 adalah pola difraksi dari hidroksiapatit yang sudah berpori, dengan porogen kitosan, ternyata keberadaan kitosan selama proses terjadinya pori, sampai seluruh kitosan hilang tidak mempengaruhi terjadinya fasa hidroksiapatit yang murni.

Pola Difraksi Hidroksiapatit

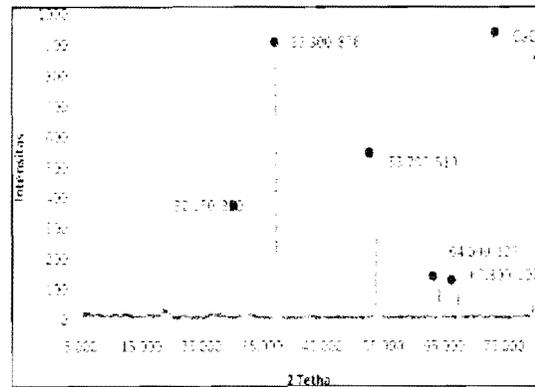
Analisis terjadinya pori pada hidroksiapatit diamati dengan *Scanning Electron Microscopy*.



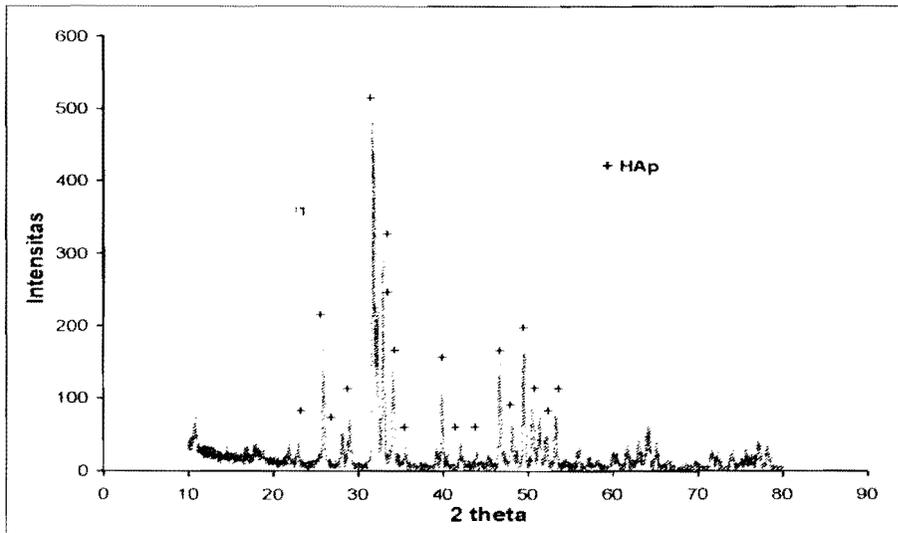
Gambar 3. Pola difraksi kitosan



Gambar 4. Pola difraksi cangkang telur sebelum dipanaskan



Gambar 5. Pola difraksi cangkang telur setelah dipanaskan



Gambar 6. Difraksi hidroksiapatit berpori

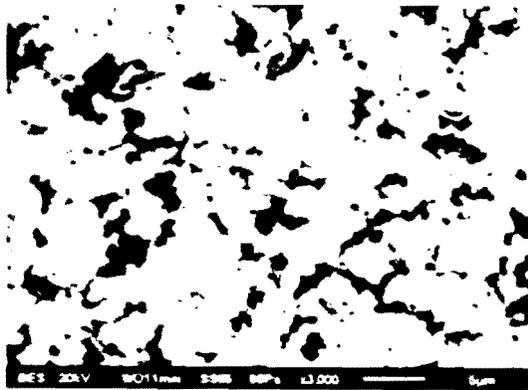
Mekanisme terjadinya pori seperti pada penjelasan di atas, maka jumlah porogen akan mempengaruhi jumlah pori dan ukuran pori, tapi metode pembuatan HAp berpori yang dilakukan pada penelitian ini, penambahan jumlah porogen kitosan cenderung menambah jumlah pori, dibandingkan perbesaran ukuran pori. Atau dengan kata lain penambahan jumlah porogen kitosan, akan cenderung berpengaruh terhadap kuantitas pori dibandingkan kualitas pori. Karena semakin banyak jumlah porogen kitosan akan semakin banyak terjadi "cluster" penjerab kitosan, tapi tidak menambah volume kitosan yang terjebak.

Gambar 7 menunjukkan hidroksiapatit berpori dengan porogen kitosan. Tampak bahwa ukuran pori masih bervariasi, tapi hanya berkisar antara 1 sampai 2 μm .

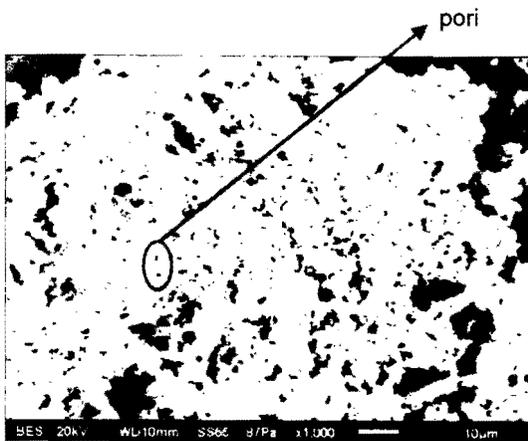
Analisa Kandungan Ca

Sampel direndam dalam larutan *Simulated Body Fluid* yang pada penelitian ini digunakan larutan *infuse* 0,9 NaCl dari pabrik Otsuka, setelah 6 hari perendaman didapat konsentrasi kalsium yang lebih besar dari konsentrasi kalsium dalam larutan *SBF* awal. Peningkatan konsentrasi kalsium dikarenakan adanya sampel yang direndam dalam larutan *SBF*, dimana ion Ca^{2+} yang terkandung dalam sampel dapat mempengaruhi konsentrasi kalsium dalam larutan *SBF*. Dalam hal ini, terjadi pelepasan ion Ca^{2+} dari sampel dan larut dalam pelarut *SBF*.

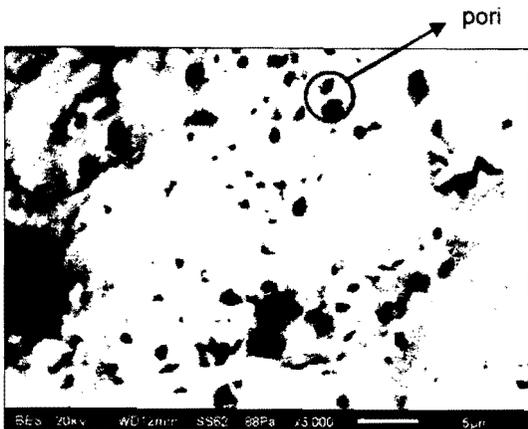
Penurunan konsentrasi kalsium terkait dengan pertumbuhan lapisan apatit pada sampel. Setelah 7 hari perendaman terjadi pengendapan kalsium pada sampel yang



(a). Hidroksiapatit tanpa porogen



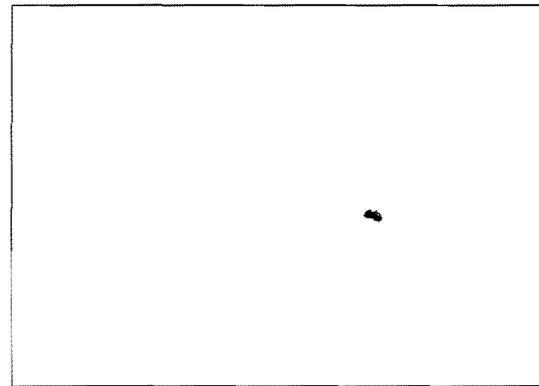
(b). Hidroksiapatit berpori



(c) Hidroksiapatit berpori

Gambar 7. Foto-foto hidroksiapatit berpori

merupakan langkah awal dalam pertumbuhan apatit (Vijayalakshmi and Rajeswari 2006). HAp berpori menunjukkan potensi yang sangat baik untuk membentuk lapisan apatit di permukaannya. Karena adanya pori maka akan memudahkan pertukaran ion dari sampel dengan larutan SBF.



Gambar 8. Variasi konsentrasi kalsium larutan SBF terhadap lamanya waktu perendaman

Gambar 8 memperlihatkan bahwa pada sampel yang memiliki porositas, konsentrasi Ca setelah perendaman 6 hari tercatat 8,3146 ppm, setelah 13 hari perendaman tercatat 7,3932 ppm, dan turun dengan drastis setelah perendaman 21 hari yaitu menjadi 0,8483 ppm.

Hal ini menjelaskan bahwa pembentukan lapisan apatit pada permukaan HAp berpori berlangsung sangat cepat. Sedangkan pada HAp kontrol yang tidak memiliki porositas, terjadi penurunan konsentrasi kalsium yang tidak signifikan setelah 6 hari, 13 hari, dan 20 hari perendaman.

KESIMPULAN

Sintesis hidroksiapatit berpori dengan bahan baku CaO yang diekstrak dari cangkang kulit telur dan H_3PO_4 teknis, dengan porogen kitosan berhasil dibuat dengan metode sol gel. Karakterisasi dengan XRD menunjukkan bahwa HAp berpori yang diperoleh sudah terbentuk fasa HAp murni. Analisis morfologi dengan SEM memperlihatkan HAp berpori dengan ukuran pori 1 sampai 2 μm . Uji *in vitro* menunjukkan bahwa telah terjadi pembentukan lapisan apatit setelah 21 hari perendaman dalam larutan SBF.

DAFTAR PUSTAKA

- Aoki, H. 1991. *Science and medical application of hydroxyapatite*. JAAS: Tokyo, Japan.
- Bahrololoom ME, Javidi M, Javadpour S, Ma J. 2009. Characterisation of natural hydroxyapatite extracted from bovin cortical bone ash. *Journal of Ceramic Processing Research* 10(2): 129-138.
- Dawney EJC. 1997. *Growth and characterization of semiconductor nanoparticles in*

- porous sol-gel film. England: Departement of Electrical and Electronic Engineering, Imperial College.
- Hale A.J. 1986. Chitin as a raw material for product development. Applied biotechnology. *World Biotech Report* 1, London.
- Hong Sun Kim, Jong Tae Kim, Young Jin Jung. 2007. Preparation of a porous chitosan /fibroblast-hydroxyapatite composite matrix for tissue engineering. *Macromolecular Research* 15(1): 65-73.
- Madhavi, S., Ferraris. C, White. T. 2005. Synthesis and crystallization of macroporous hydroxyapatite. *J. Solid State Chem*: 178-264.
- Pankaew P, Hoonvathana E, Limsuwan P, Naemchanthara K. 2010. Temperature effect on calcium phosphate synthesized from chicken eggshells and ammonium phosphate. *Journal of Applied Sciences* 10(24): 3337-3342.
- Prabakaran K, Balamurugan A, Rajeswari S. 2005. Development of calcium phosphate based apatite from Hen's eggshell. *Bull Mater Sci* 28(2): 115-119.
- Ratih, Ngatijo, Widjaksana, Latief A, Bambang. 2003. *Aplikasi hidroksiapatit di bidang medis*. Yogyakarta: Proc.
- Riyani E. 2005. *Karakterisasi senyawa kalsium fosfat karbonat hasil presipitasi menggunakan XRD, SEM, dan EDXA pengaruh perubahan ion F dan Mg*. Skripsi Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rozita Ahmad Ramli, Rohana Adnan, Mohammad Abu Bakar and Sam'an Malik Masudi. 2011. Synthesis and characterization of pure nanoporous hydroxyapatite. *Journal of Physical Science* 22(1): 25-37.
- Septiarini S. 2009. *Pelapisan apatit pada baja tahan karat lokal dan ternitridasi dengan metode sol-gel*. Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Sopyan I, Mel M, Ramesh S, Khalid KA. 2007. Porous hydroxyapatite for artificial bone application. *Science and Technology of Advanced Materials* 8:116-123.
- Vijayalakshmi U and Rajeswari S. 2006. Preparation and characterization of microcrystalline hydroxyapatite using sol gel method. *Trends Biomaterial Artificial Organs* 19(2): 57-62.