

HIDROKSIAPATIT, ALGINAT, DAN KITOSAN SEBAGAI BAHAN *SCAFFOLD* TULANG: STUDI SPEKTROSKOPI

(HYDROXYAPATITE, ALGINATE, AND CHITOSAN FOR BONE SCAFFOLDS: SPECTROSCOPY STUDY)

Lalita El Milla*, Decky Joesiana Indrani**

*Departemen Ilmu Material Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya,

**Departemen Ilmu Material Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia,
Email: deckyji@gmail.com

Abstract

Scaffolds is three dimensional structure that serves as a framework for bone growth. Natural materials are often used in synthesis of bone tissue engineering scaffolds with respect to compliance with the content of the human body. Among the materials used to make scaffold was hydroxyapatite, alginate and chitosan. Hydroxyapatite powder obtained by mixing phosphoric acid and calcium hydroxide, alginate powders extracted from brown algae and chitosan powder acetylated from crab. The purpose of this study was to examine the functional groups of hydroxyapatite, alginate and chitosan. The method used in this study was laboratory experimental using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy for hydroxyapatite, alginate and chitosan powders. The results indicated the presence of functional groups PO_4^{3-} , O-H and CO_3^{2-} in hydroxyapatite. In alginate there were O-H, C=O, COOH and C-O-C functional groups, whereas in chitosan there were O-H, N-H, C=O, C-N, and C-O-C. It was concluded that the third material containing functional groups as found in humans that correspond to the scaffolds material in bone tissue engineering.

Key words: hydroxyapatite, alginate, chitosan, FTIR

Abstrak

Scaffold merupakan struktur tiga dimensi yang berfungsi sebagai kerangka atau *template* untuk pertumbuhan sel tulang. Bahan-bahan alam sering digunakan untuk pembuatan *scaffold* rekayasa jaringan tulang karena kesesuaiannya dengan kandungan tubuh manusia. Di antara bahan yang digunakan untuk membuat *scaffold* adalah hidroksiapatit, alginat dan kitosan. Serbuk hidroksiapatit diperoleh dengan mencampurkan asam fosfat dan kalsium hidroksida, serbuk alginat diekstrak dari alga coklat dan serbuk kitosan merupakan asetilasi dari kepiting. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat gugus-gugus fungsi yang terkandung di dalam hidroksiapatit, alginat dan kitosan. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratoris yaitu dengan menguji serbuk hidroksiapatit, alginat dan kitosan menggunakan spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Hasil menunjukkan adanya gugus fungsi PO_4^{3-} , O-H dan CO_3^{2-} dalam hidroksiapatit, pada alginat terdapat gugus fungsi O-H, C=O, COOH dan C-O-C, sedangkan pada kitosan terdapat gugus fungsi gugus O-H, N-H, C=O, C-N, dan C-O-C. Disimpulkan bahwa pada hidroksiapatit, alginat dan kitosan mengandung gugus fungsi sebagaimana ditemukan pada tulang manusia sehingga sesuai untuk bahan *scaffold* dalam rekayasa jaringan tulang.

Kata kunci: hidroksiapatit, alginat, kitosan, FTIR

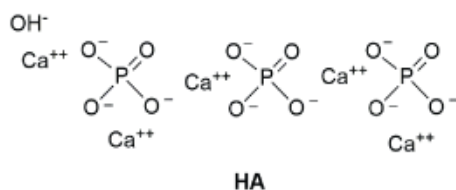
PENDAHULUAN

Upaya perbaikan tulang dibutuhkan ketika tulang mengalami defek akibat trauma, infeksi, reseksi tumor, kelainan kerangka dan pada kasus di mana proses regenerasi tidak seimbang dengan kerusakan tulang.^{1,2} Salah satu alternatif perbaikan tulang yang saat ini menjadi perhatian adalah dengan rekayasa

jaringan. Dalam rekayasa jaringan terdapat tiga komponen utama yaitu sel, faktor-faktor pertumbuhan dan *scaffold* harus memiliki sifat biomimetik dengan jaringan tulang sehingga biokompabilitas dapat tercapai. *Scaffold* yang sesuai untuk rekayasa jaringan tulang dibuat dari material yang berbeda-

beda. Tulang terdiri dari bahan apatit, oleh karena itu salah satu bahan yang telah dimanfaatkan sebagai bahan *scaffold* adalah hidroksiapatit yang memiliki kesamaan kimia dan fisika dengan mineral penyusun tulang dan gigi dengan elemen utama berupa kalsium dan fosfor.⁴ Pada hidroksiapatit terdapat gugus hidroksil (O-H) dan fosfat (PO_4^{3-}) sebagaimana pada Gambar 1.

Upaya perbaikan tulang dibutuhkan ketika tulang mengalami defek akibat trauma, infeksi, reseksi tumor, kelainan kerangka dan pada kasus di mana proses regenerasi tidak seimbang dengan kerusakan tulang.^{1,2} Salah satu alternatif perbaikan tulang yang saat ini menjadi perhatian adalah dengan rekayasa jaringan. Dalam rekayasa jaringan terdapat tiga komponen utama yaitu sel, faktor-faktor pertumbuhan dan *scaffold*.³ *Scaffold* merupakan struktur tiga dimensi yang berfungsi sebagai kerangka/ *template* untuk pertumbuhan sel tulang. Untuk mendukung pertumbuhan sel tulang, *scaffold* harus memiliki sifat biomimetik dengan jaringan tulang sehingga biokompatibilitas dapat tercapai. *Scaffold* yang sesuai untuk rekayasa jaringan tulang dibuat dari material yang berbeda-beda. Tulang terdiri dari bahan apatit, oleh karena itu salah satu bahan yang telah dimanfaatkan sebagai bahan *scaffold* adalah hidroksiapatit yang memiliki kesamaan kimia dan fisika dengan mineral penyusun tulang dan gigi dengan elemen utama berupa kalsium dan fosfor.⁴ Pada hidroksiapatit terdapat gugus hidroksil (O-H) dan fosfat (PO_4^{3-}) sebagaimana pada Gambar 1.

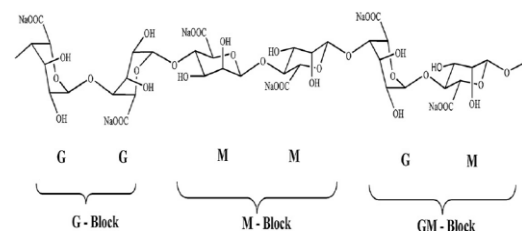


Gambar 1. Struktur kimia hidroksiapatit⁵

Namun, hidroksiapatit memiliki sifat biomekanik yang lemah yaitu kuat tarik yang rendah dan bersifat *brittle*.⁶ Oleh karena itu, saat ini hidroksiapatit banyak dikombinasikan dengan bahan biopolimer untuk membentuk *scaffold* komposit.

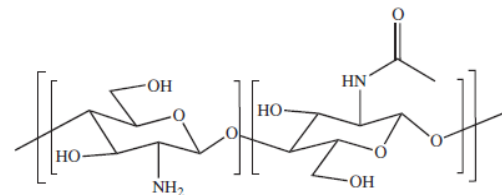
Biopolimer dari alam lebih banyak dipilih sebagai material *scaffold* karena memiliki sifat biokompatibel, biodegradabel, non toksik dan lebih banyak ketersediaannya dibanding polimer sintetik.⁷ Biopolimer dari alam tersebut di antaranya adalah alginat dan kitosan. Alginat merupakan polisakarida asidik yang diekstrak dari alga cokelat (*Phaeophyceae*), termasuk di antaranya *Sargassum sp* yang banyak ditemukan di perairan Indonesia.⁸ Alginat terdiri dari (1-4) β -D-mannuronic acid (M) dan α -L-guluronic

acid (G) yang merupakan asam-asam karbosiklik (R-COOH), yaitu mengandung gugus-gugus O-H, C=O, COOH dan C-O-C sebagaimana pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Sodium Alginat⁹

Pada *scaffold* komposit hidroksiapatit/alginat, terjadi ikatan ionik antara gugus COO^- pada alginat dan Ca^{2+} dari hidroksiapatit.^{10,11} Namun, sel sulit terikat langsung pada alginat karena gel alginat yang bersifat anionik dan tidak ada absorpsi protein pada gel dengan muatan negatif. Oleh karena itu, dalam penggunaan sebagai *scaffold*, dibutuhkan molekul lain yang bersifat kationik untuk mengikat molekul alginat.¹² Beberapa peneliti menambahkan polimer yang memiliki sifat kationik bersama dengan alginat untuk meningkatkan perlekatan sel.^{13,11,14} Polimer yang saat ini banyak digunakan salah satunya adalah kitosan. Kitosan adalah polisakarida linear yang terdiri dari β -(1-4)-linked D-glucosamine (unit deacetylated) yang mengandung gugus-gugus N-H, O-H, C=O, C-N dan C-O-C sebagaimana pada Gambar 3.^{11,15}

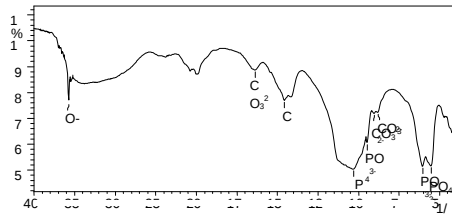


Gambar 3. Struktur kimia kitosan¹⁶

Kitosan diperoleh melalui proses deasetilasi zat kitin yang merupakan struktur eksoskeleton dari krustasea seperti kepiting dan udang. Selain dapat meningkatkan perlekatan sel, kitosan juga memiliki sifat antimikrobal yang bermanfaat dalam aplikasi *scaffold*.¹⁶

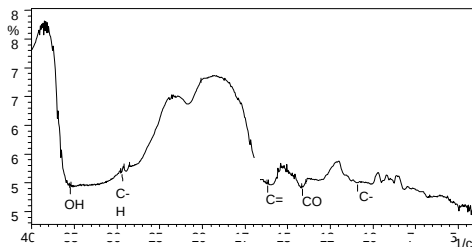
Karakterisasi biomaterial perlu dilakukan untuk mengidentifikasi bahan *scaffold*. Karakterisasi bahan dapat dilakukan dengan analisis FTIR (*Fourier Transform Infrared*). Analisis ini merupakan teknik spektroskopi inframerah yang dapat mengidentifikasi kandungan gugus dalam suatu senyawa.¹⁵

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melihat gugus-gugus fungsi yang terkandung di dalam hidroksiapatit, alginat dan kitosan sehingga dapat dinilai kesesuaiannya untuk digunakan sebagai bahan *scaffold* pada rekayasa jaringan tulang.



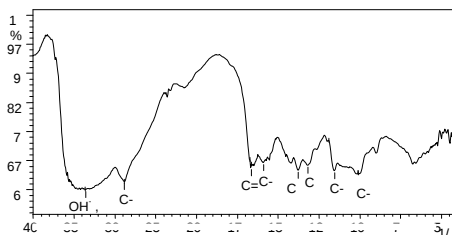
Gambar 4. Spektrum FTIR hidroksiapatit

Alginat menunjukkan spektrum FTIR dengan beberapa bilangan gelombang sebagaimana pada Gambar 5. Bilangan gelombang 3547 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus O-H. Bilangan gelombang 1616 merujuk pada gugus C=O. Bilangan gelombang 1411 cm⁻¹ merupakan gugus COOH. Bilangan gelombang 1091 cm⁻¹ merupakan gugus C-O-C.



Gambar 5. Spektrum FTIR alginat

Kitosan menghasilkan spektrum FTIR dengan beberapa bilangan gelombang sebagaimana pada Gambar 6. Bilangan gelombang 3356 cm⁻¹ merupakan gugus O-H. Bilangan gelombang 1665 cm⁻¹ merupakan gugus amida I (C=O). Bilangan gelombang 1588 cm⁻¹ merujuk pada amida II (C=N). Bilangan gelombang 1376 cm⁻¹ menunjukkan gugus CH₂, 1318 cm⁻¹ menunjukkan CH₃ dan 1020 cm⁻¹ merujuk pada gugus C-O-C. Gugus C-O (amino) muncul pada bilangan gelombang 1154 cm⁻¹. Bilangan gelombang 3450 – 3200 cm⁻¹ termasuk di dalamnya gugus O-H dapat tumpang tindih dengan gugus N-H.



Gambar 6. Spektrum FTIR kitosan

PEMBAHASAN

Hidroksiapatit pada penelitian ini memperlihatkan spektrum FTIR dengan bilangan gelombang yang berada pada kisaran beberapa penelitian lain. Pada penelitian ini gugus fungsi O-H, PO₄³⁻ dan CO₃²⁻ sesuai dengan kisaran bilangan gelombang dari hidroksiapatit yang dihasilkan oleh penelitian Mir, yaitu gugus O-H pada 1000 cm⁻¹, PO₄³⁻ pada 3570 cm⁻¹ dan CO₃²⁻ pada 1490 cm⁻¹. Pada penelitian Arsad, tidak ditemukan adanya bilangan gelombang yang menunjukkan gugus CO₃²⁻, namun gugus O-H muncul pada 3571 cm⁻¹ dan PO₄³⁻ pada 1093 cm⁻¹ sebagaimana kisaran bilangan gelombang penelitian ini.²⁰ Gugus fungsi CO₃²⁻ merupakan substitusi dari ion fosfat yang menunjukkan terbentuknya apatit tipe B. Apatit tipe B merupakan apatit yang terdapat pada hidroksiapatit pada tulang biologis.² Selain itu hidroksiapatit dengan substitusi CO₃²⁻ diketahui memiliki kelarutan yang lebih tinggi dan kristalinitas yang lebih rendah.^{2,8} Adanya gugus CO₃²⁻ pada penelitian ini menguntungkan dalam aplikasi *scaffold*.

Alginat pada penelitian ini menghasilkan spektrum FTIR dengan bilangan gelombang yang berada pada kisaran bilangan gelombang beberapa penelitian lain. Zailanie menghasilkan spektrum FTIR dengan O-H pada bilangan gelombang 3354 cm⁻¹, C=O pada 1618 cm⁻¹ dan COOH pada 1413 cm⁻¹.¹⁸ Golami-poor (2013) menghasilkan spektrum FTIR dengan O-H pada 3443 cm⁻¹, C=O pada 1627 cm⁻¹ dan COOH pada 1421 cm⁻¹.²¹ Mahbub menunjukkan adanya O-H pada 3466 cm⁻¹, C=O pada 1634 cm⁻¹ dan COOH pada 1418 cm⁻¹.²² Adanya gugus COOH menyebabkan alginat mudah membentuk gel karena dengan menambahkan senyawa yang mengandung kation divalent seperti Ca²⁺, Ba²⁺ atau Si²⁺ dapat terbentuk jembatan ionik di antara rantai polimer yaitu dengan kondisi terikatnya gugus-gugus COOH yang disebut sebagai proses *crosslinking*. Oleh karena itu, hal tersebut berguna dalam aplikasi rekayasa jaringan tulang terutama untuk defek yang berbentuk iregular.²³

Kitosan pada penelitian ini juga menunjukkan spektrum FTIR dengan bilangan gelombang yang berada pada kisaran bilangan gelombang beberapa penelitian lain. Salah satunya adalah Limam yang memperlihatkan spektrum FTIR dengan gugus fungsi C=O pada bilangan gelombang 1651 cm⁻¹, C-N pada 1618 cm⁻¹ dan C-O pada 1153 cm⁻¹.²⁴ Selain itu Sakthivel menunjukkan gugus fungsi C=O pada bilangan gelombang 1655 cm⁻¹, C-N pada 1555 cm⁻¹ dan C-O pada 1170 cm⁻¹.²⁵ Intensitas C-N (amida II) pada kitosan penelitian ini lebih besar dibanding C=O (amida I) sebagaimana terlihat pada Gambar 6. Intensitas amida II yang lebih besar dibanding amida

I menunjukkan adanya deasetilasi yang efektif.²⁵ Deasetilasi sendiri merupakan perubahan gugus aseptil menjadi amino. Pada kitosan, gugus amino yang bermuatan positif berguna dalam peningkatan perlekatan sel dan sifat antimikrobal, sehingga menguntungkan dalam proses regenerasi tulang.^{13,14}

Hasil karakterisasi FTIR terhadap hidroksiapatit, alginat dan kitosan pada penelitian ini, menunjukkan bahwa gugus-gugus fungsi yang diperlihatkan sesuai dengan yang terkandung di tulang manusia. Tulang manusia dikatakan merupakan biokomposit yang merupakan fasa inorganik yang terbenam di dalam fasa organik kolagen. Fasa inorganik tulang terdiri

dari apatit tulang yang mengandung gugus PO_4^{3-} , O-H dan CO_3^{2-} , sedangkan fasa organik tulang terdiri dari protein kolagen, yang mengandung gugus C=O (amida I), C-N (amida II), C-O-C dan O-H yang mana gugus-gugus tersebut terlihat pada spektrum FTIR ketiga bahan. Selain itu, pada ketiga bahan terdapat gugus fungsi yang menguntungkan dalam aplikasi *scaffold* yaitu gugus CO_3^{2-} pada hidroksiapatit, COOH pada alginat dan gugus amino pada kitosan. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa hidroksiapatit, alginat dan kitosan yang digunakan di penelitian ini sesuai jika akan digunakan sebagai bahan *scaffold* dalam rekayasa jaringan tulang.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bose S, Roy M, Bandyopadhyay A. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. Trends Biotechnol 2012; 30(10): 546-54.
2. Wu S, Liu X, Yeung KWK, Liu C, Yang X. Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering. Mater Sci Eng R Reports 2014; 80: 1-36.
3. Shrivats AR, McDermott MC, Hollinger JO. Bone tissue engineering: State of the union. Drug Discov Today 2014; 19(6): 781-86.
4. Krishnamurthy G, Science M, Medicine CC. A review on hydroxyapatite-based scaffolds as a potential bone graft substitute for bone tissue engineering applications. JUMMEC 2013; 16(2): 1-6.
5. Iannazzo D, Pistone A, Espro C. Biomimetic Approaches for Tissue Healing Drug Delivery Strategies for Bone Tissue Regeneration. Omi ebooks Gr. 2015: 4.
6. Tripathi G, Basu B. A porous hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering: Physico-mechanical and biological evaluations. Ceram Int 2012; 38(1): 341-9.
7. Venkatesan J, Bhatnagar I, Manivasagan P, Kang K, Kim S. Alginate composites for bone tissue engineering: A review. Int J Biol Macromol 2015; 72: 269-81.
8. Aufan MR, Daulay AH, Indriani D, Nuruddin A. Sintesis scaffold alginat-kitosan-karbonat apatit sebagai bone graft. J Biofisika 2012; 8(1): 16-24.
9. Roy T. Preparation and Characterization of nanocomposites Hydroxyapatite-Chitosan-Alginate microthin nanocomposites. Thesis, Odisha: Department of Ceramic Engineering National Institute of Technology Rourkela, 2014: 38
10. Teng S. Science and The effect of alginate addition on the structure and morphology of hydroxyapatite/gelatin nanocomposites. Compos Sci Technol. 2006; 66: 1532-8.
11. Kim H, Jung G, Yoon J, et al. Preparation and characterization of nano-sized hydroxyapatite/alginate/chitosan composite scaffolds for bone tissue engineering. Mater Sci Eng C. 2015; 54: 20-5.
12. Rinaudo M. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials Polym Int. 2008; 57: 397-430
13. Han J, Zhou Z, Yin R, Yang D, Nie J. Alginate – chitosan / hydroxyapatite polyelectrolyte complex porous scaffolds: Preparation and characterization. Int J Biol Macromol. 2010; 46: 199-205.
14. Jin H, Kim D, Kim T, et al. International Journal of Biological Macromolecules In vivo evaluation of porous hydroxyapatite / chitosan – alginate composite scaffolds for bone tissue engineering. Int J Biol Macromol. 2012; 51(5): 1079-85.
15. Silva SML, Braga CRC, Fook MVL, Raposo CMO, Carvalho LH, Canedo EL. Application of Infrared Spectroscopy to Analysis of Chitosan / Clay Nanocomposites. In: Theophile. Infrared spectroscopy - material science, engineering and technology, Athens: Intech, 2011: 43-62.
16. Croisier F, Jérôme C. Chitosan-based Bio-materials for Tissue Engineering. Eur Polym J. 2013; 49(4): 780-92.
17. Indrani DJ. Komposit hidroksiapatit kalsinasi suhu rendah dengan sebagai material scaffoldk. Disertasi, Jakarta: Program Doktor Bidang Ilmu Material FMIPA, 2012: 169.
18. Zailanie K. Study of Alginate Sargassum Filipendula with FTIR Confirmation. J.Life Sci Biomed 2015; 5(6): 167-70.
19. Mir M, Lima F, Sérgio P, Herrmann DP, Luiz F. XRD, AFM, IR and TGA Study of Nanostructured Hydroxyapatite. 2012; 15(4): 622-7.
20. Arsad MSM, Lee PM, Mara UT. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Nanoparticles and β -TCP Particles. 2011; 7: 184-8.
21. Gholamipoor S, Oromiehie AR, Moham-madi M. Extraction and Characterization of Alginate from Sargassum angustifolium collected from northern coasts of Persian Gulf, Bushehr. In: Khavaran Institute of Higher Education, International Symposium of Advances in Science and Technology, 7th SASTech. Bandar Abbas. 2013
22. Mahbub AM. Studi Ekstraksi Alginat Dari Biomassa Rumput Laut Coklat (Sargassum Cras-

- sifolium) sebagai Adsorben dalam Biosorpsi Ion Logam Cadmium. Skripsi, Depok: Fakultas MIPA Program Studi Kimia, UI. Fakultas MIPA Program Studi Kimia UI, 2012: 104.
23. Lee KY. Alginate : properties and biomedical applications. NIH Public Access. 2013; 37(1): 106-26.
- Limam Z, Selmi S, Sadok S, et al. Extraction and Characterization of chitin and chitosan from crustacean by-products : Biological and physico-chemical properties. 2011; 10(4): 640-7.
24. D. Sakthivel NV and VA. Extraction of Chitin and Chitosan from Mangrove Crab *Sesarma plicatum* from Thengaithittu Estuary Pondicherry Southeast Coast of India. Int J Pharm & Pharmaceutical Res. 2015; 4(1): 12-24.