

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Optimasi sintesis biomaterial kitosan/kolagen/hidroksiapatit dari tulang sapi sebagai pensubstitusi jaringan Tulang

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : Prof. Dr. Sari Edi Cahyaningrum, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Surabaya
NIDN : 0029127002
JabatanFungsional : Guru Besar
Program Studi : Kimia
Nomor HP : 08123290484
Alamat surel (e-mail) : saricahyaningrum@unesa.ac.id
Anggota (1)
Nama Lengkap : Dr. Nuniek Hedyastuti, M.Si
NIDN : 0010117004
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Surabaya
Anggota (2)
Nama Lengkap :
NIDN :
Perguruan Tinggi :
Institusi Mitra (Jika Ada)
Nama Institusi Mitra :
Alamat :
Penanggung Jawab :
TahunPelaksanaan : Tahun ke 1 Dari rencana 3 tahun
BiayaTahun Berjalan : Rp. 148.980.000
BiayaKeseluruhan : Rp.

Surabaya, 31 Desember 2019

KetuaPeneliti,

Prof. Dr. Sari Edi C, M.Si

NIDN 0029127002

Menyetujui,
Ketua LPPM,

Prof. Dr. Darni, M.Hum.
NIDN 0026096502

PROTEKSI ISI LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi laporan ini dalam bentuk apapun kecuali oleh peneliti dan pengelola administrasi penelitian

LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN MULTI TAHUN

ID Proposal: ed234b02-47e6-4aba-b59d-dfb4a3107984
Laporan Kemajuan Penelitian: tahun ke-1 dari 3 tahun

1. IDENTITAS PENELITIAN

A. JUDUL PENELITIAN

Optimasi sintesis biomaterial kitosan/kolagen/hidroksiapatit dari tulang sapi sebagai pensubstitusi jaringan tulang

B. BIDANG, TEMA, TOPIK, DAN RUMPUN BIDANG ILMU

Bidang Fokus RIRN / Bidang Unggulan Perguruan Tinggi	Tema	Topik (jika ada)	Rumpun Bidang Ilmu
Material Maju	Teknologi karakterisasi material dan dukungan industri	Karakterisasi material biokompatibel	Kimia

C. KATEGORI, SKEMA, SBK, TARGET TKT DAN LAMA PENELITIAN

Kategori (Kompetitif Nasional/ Desentralisasi/ Penugasan)	Skema Penelitian	Strata (Dasar/ Terapan/ Pengembangan)	SBK (Dasar, Terapan, Pengembangan)	Target Akhir TKT	Lama Penelitian (Tahun)
Penelitian Kompetitif Nasional	Penelitian Dasar	SBK Riset Dasar	SBK Riset Dasar	3	3

2. IDENTITAS PENGUSUL

Nama, Peran	Perguruan Tinggi/ Institusi	Program Studi/ Bagian	Bidang Tugas	ID Sinta	H-Index
SARI EDI CAHYANINGRUM Ketua Pengusul	Universitas Negeri Surabaya	Kimia		74634	4
Dr NUNIEK HERDYASTUTI S.Si, M.Si Anggota Pengusul 2	Universitas Negeri Surabaya	Kimia	Koordinator Pelaksana uji in vitro, uji in vivo dan toksisitas, penyusun laporan	5995366	2

3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN (JIKA ADA)

Pelaksanaan penelitian dapat melibatkan mitra kerjasama, yaitu mitra kerjasama dalam melaksanakan penelitian, mitra sebagai calon pengguna hasil penelitian, atau mitra investor

Mitra	Nama Mitra
-------	------------

4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

Luaran Wajib

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
1	Artikel di Jurnal Internasional Terindeks di Pengindeks Bereputasi	Accepted	Rasayan journal of Chemistry

Luaran Tambahan

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
1	Prosiding dalam pertemuan ilmiah Nasional	sudah terbit/sudah dilaksanakan	Seminar Nasional Kimia

5. ANGGARAN

Rencana anggaran biaya penelitian mengacu pada PMK yang berlaku dengan besaran minimum dan maksimum sebagaimana diatur pada buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Edisi 12.

Total RAB 3 Tahun Rp. 460,256,000

Tahun 1 Total Rp. 148,980,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	1	1,750,000	1,750,000
Analisis Data	Transport Lokal	OK (kali)	48	100,000	4,800,000
Analisis Data	Biaya konsumsi rapat	OH	60	50,000	3,000,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	200	201,500	40,300,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	2	750,000	1,500,000
Bahan	ATK	Paket	4	989,000	3,956,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	20	2,251,250	45,025,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Paket	1	3,500,000	3,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar nasional	Paket	2	1,500,000	3,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya konsumsi rapat	OH	100	50,000	5,000,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	50	100,000	5,000,000
Pengumpulan Data	Uang harian rapat di luar kantor	OH	160	50,000	8,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	192	30,000	5,760,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	1	989,000	989,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	24	100,000	2,400,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	100	150,000	15,000,000

Tahun 2 Total Rp. 154,121,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	Transport Lokal	OK (kali)	4	100,000	400,000
Analisis Data	Penginapan	OH	10	200,000	2,000,000
Analisis Data	Biaya konsumsi rapat	OH	25	50,000	1,250,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	150	332,000	49,800,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	1	1,411,000	1,411,000
Bahan	ATK	Paket	5	989,000	4,945,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	20	2,185,250	43,705,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Publikasi artikel di Jurnal Internasional	Paket	1	10,000,000	10,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Luaran KI (paten, hak cipta dll)	Paket	2	750,000	1,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar nasional	Paket	3	1,200,000	3,600,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Paket	3	2,000,000	6,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya konsumsi rapat	OH	25	50,000	1,250,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	50	50,000	2,500,000
Pengumpulan Data	Biaya konsumsi	OH	100	50,000	5,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	192	30,000	5,760,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	1	2,500,000	2,500,000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	50	100,000	5,000,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	75	100,000	7,500,000

Tahun 3 Total Rp. 157,155,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	Biaya konsumsi rapat	OH	20	50,000	1,000,000
Analisis Data	Transport Lokal	OK (kali)	30	50,000	1,500,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	200	207,000	41,400,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Bahan	ATK	Paket	8	998,000	7,984,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	20	2,917,750	58,355,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar nasional	Paket	1	1,500,000	1,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Paket	1	4,000,000	4,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Publikasi artikel di Jurnal Internasional	Paket	1	10,000,000	10,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Luaran KI (paten, hak cipta dll)	Paket	1	736,000	736,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya konsumsi rapat	OH	30	50,000	1,500,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	32	100,000	3,200,000
Pengumpulan Data	Biaya konsumsi	OH	148	50,000	7,400,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	191	30,000	5,730,000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	20	200,000	4,000,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	60	147,500	8,850,000

6. KEMAJUAN PENELITIAN

A. RINGKASAN: Tuliskan secara ringkas latar belakang penelitian, tujuan dan tahapan metode penelitian, luaran yang ditargetkan, serta uraian TKT penelitian.

Indonesia adalah negara tertinggi di Asia dengan jumlah pemakai biomaterial bone graft untuk pensubstitusi tulang dan implan gigi. Pemakaian biomaterial tersebut penggunaannya sangat banyak, tetapi ketersediaannya belum mencukupi karena jumlah kebutuhan meningkat setiap tahunnya. Selama ini Indonesia mencukupi kebutuhan biomaterial tersebut dengan cara impor, sehingga harga biomaterial bone graft masih mahal, karena itulah inovasi teknologi untuk mengembangkan biomaterial bone graft sangat diperlukan. Beberapa peneliti mulai mengembangkan penelitian tentang sintesis bone graft, tetapi yang dilakukan adalah sintesis dengan memadukan 2 bahan baku. Perpaduan 2 bahan baku mempunyai beberapa kelemahan. Tulang manusia terdiri dari komponen anorganik dan organik. Komponen anorganik didominasi hidroksiapatit sedangkan komponen organik didominasi kolagen dan glukosamin. Berdasarkan hal tersebut pada penelitian ini bone graft disintesis dari 3 bahan baku yaitu kolagen, hidroksiapatit dan kitosan.. dengan harapan bone graft yang dihasilkan mempunyai struktur dan komposisi yang mirip tulang manusia. Penelitian sebelumnya (2016-2018) menunjukkan bahwa perpaduan kitosan/kolagen cakar ayam/ hidroksiapatit cangkang telur menghasilkan bone graft yang mempunyai kualitas yang kurang sesuai apabila digunakan sebagai penstubsitusi jaringan tulang, karena itu pada penelitian ini akan dilakukan optimasi penggantian bahan baku yaitu kitosan/kolagen tulang sapi/hidroksiapatit tulang sapi. Selain itu juga akan dicari kondisi

opyimumnya sehingga dapat memenuhi kualitas sebagai pensubstitusi jaringan tulang. Tujuan jangka panjang penelitian ini adalah menghasilkan inovasi teknologi di bidang material maju yang bermanfaat bagi dunia kesehatan. Pada penelitian ini sintesis biometrial

dilakukan dengan memanfaatkan bahan dasar lokal untuk menghasilkan bone graft yang mempunyai secara struktur, dan komposisi mirip tulang alami, menguntungkan bagi proses osteokonduktif, osteoinduksi dan osteogenesis, biokompatibilitas tinggi dan non toksik,. Target khusus adalah mendapatkan kondisi optimum untuk menghasilkan bone graft yang disintesis dengan menggabungkan kalsinasi dan metode ex-situ serta data karakteristik bone graft yang dihasilkan yang dapat dipublikasikan pada jurnal internasional dan paten Untuk mencapai target tersebut maka penelitian ini dilakukan dalam 3 tahun. Pada tahun pertama dilakukan sintesis bone graft dengan bahan dasar kolagen yang diisolasi dari tulang sapi, hidroksiapatit yang diisolasi dari tulang sapi dengan metode kalsinasi dan kitosan yang diisolasi dari cangkang udang, beberapa variabel yang dipelajari adalah komposisi, suhu kalsinasi, waktu freeze drying. Bone graft yang dihasilkan dikarakterisasi dengan SEM, GSA, kuat tekan dan FTIR, disusun artikel untuk publikasi pada jurnal internasional. Pada tahun kedua, untuk mendukung data tahun pertama maka bone graft yang dihasilkan dikarakterisasi XRD, TGA, PSA, uji fotostabilitas dan uji swelling. Publikasi pada jurnal internasional dan paten Pada Tahun ketiga: uji laju biodegradasi, uji kestabilan asam, uji in vitro, in vivo dan uji sitotoksitas. Secara keseluruhan penelitian ini mempunyai nilai TKT sesuai dengan standar penelitian dasar yaitu 3. Pada akhir penelitian ini selain dihasilkan bone graft yang mempunyai karakteristik sesuai untuk pensubstitusi jaringan tulang juga menghasilkan publikasi pada jurnal internasional, karakterisasi biomaterial bone graft dan paten. Pada tahun pertama sudah berhasil dilakukan sintesis hidroksiapatit dari tulang sapi dengan berbagai variasi suhu kalsinasi, sintesis kolagen dari tulang sapi dan sintesis komposit bone graft dari hidroksiapatit tulang sapi/ kolagen tulang sapi/ kitosan dengan berbagai variasi komposisi. Semua material yang dihasilkan telah dilakukan beberapa analisis instrumen untuk karakterisasinya dan diperoleh data1. Karakteristik kimia yang dihasilkan dari komposit hidroksiapatit kolagen kitosan ketiga komposit memiliki gugus fungsional OH-, PO43-, CO32- yang berasal dari hidroksiapatit serta gugus -NH2, C=O yang berasal dari kolagen dan kitosan. Gugus yang muncul menunjukkan bahwa telah terjadi ikatan antar hidroksiapatit, kolagen dan kitosan. Ketiga komposit dihasilkan fasa hidroksiapatit dan fasa apatit karbonat. Fasa karbonat berasal dari CO2 dari udara bebas pada saat proses sintesis dan fasa karbonat dari hidroksiapatit tulang sapi. Pada komposit (7:2:1) dihasilkan warna komposit kuning pucat, pada komposit (7:1,5:1,5) dihasilkan komposit berwarna kuning dan pada komposit (7:1:2) dihasilkan komposit dengan kuning gelap.

2. Karakteristik fisika yang dihasilkan dari komposit hidroksiapatit kolagen kitosan (7:2:1) memiliki nilai derajat kristanilitas sebesar 83,65 %, memiliki nilai kuat tekan sebesar 1,307 Mpa, menghasilkan lapisan apatit mineral pada permukaan komposit dan memiliki ukuran pori sebesar 2 – 4,814 μm . Pada komposit (7:1,5:1,5) memiliki derajat kristanilitas sebesar 79,11%, memiliki nilai kuat tekan sebesar 1,065 Mpa, dan dihasilkan lapisan apatit mineral pada permukaan komposit dengan ukuran pori yang dihasilkan sebesar 2 – 4,438 μm . Pada komposit (7:1:2) memiliki derajat kristanilitas sebesar 82,41%, memiliki nilai kuat tekan sebesar 1,296 MPa, dan dihasilkan partikel berbentuk granula dengan lapisan apatit mineral yang kurang menyebar pada komposit, serta ukuran pori sebesar 500 – 788,4 nm. penurunan derajat kristanilitas dibandingkan dengan hidroksiapatit, terbentuknya lapisan mineral apatit pada komposit menunjukkan bahwa hidroksiapatit-kolagen-kitosan telah berikatan. Luaran yang dihasilkan adalah artikel pada jurnal internasional terindex scopus sudah tahap revisi (3 kali) dan artikel pada seminar nasional kimia UM sudah dilaksanakan pada tanggal 6 Nopember 2019

B. KATA KUNCI: Tuliskan maksimal 5 kata kunci.

optimasi_ ; hidrosiapatit_ kolagen_kitosan_ ; jaringan_tulang

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

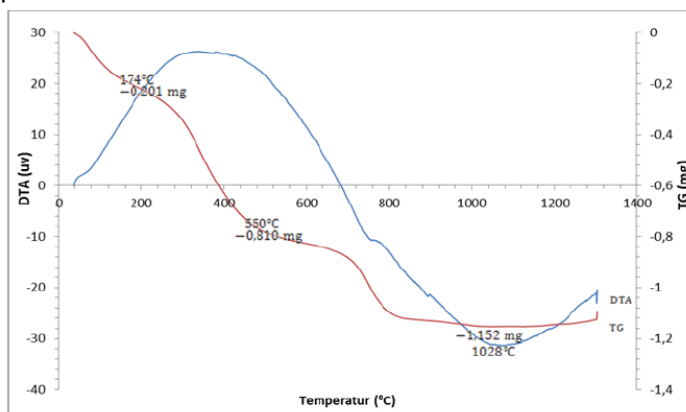
Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian meliputi data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

A. Sintesis Hidroksiapatit

Tulang sapi dicuci untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang masih menempel pada tulang sapi kemudian direbus dalam tekanan tinggi (dipresto) untuk menghilangkan daging-daging serta zat-zat organik yang masih menempel setelah itu dijemur di bawah sinar matahari untuk mengurangi kadar air yang ada pada tulang sapi.

Tulang sapi yang sudah kering kemudian direndam dalam NaOH 1% untuk menghilangkan lemak-lemak yang tidak hilang ketika tulang sapi dipresto. Setelah direndam dengan NaOH 1% tulang sapi dibilas dengan menggunakan aquademineral, hal ini dilakukan untuk menghilangkan sisa-sisa NaOH yang masih menempel dalam tulang sapi kemudian tulang sapi kembali dijemur di bawah sinar matahari hingga kering. Tulang sapi yang sudah kering kemudian dikalsinasi pada suhu 900oC selama 6 jam. Proses kalsinasi merupakan proses pemanasan pada suhu tinggi yang bertujuan untuk menghilangkan kandungan air, karbon dioksida atau gas lain serta senyawa-senyawa organik seperti lemak dan protein sehingga didapatkan hasil akhir berupa mineral hidroksiapatit yang memiliki rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Hasil TGA [1] menunjukkan bahwa sampel terjadi kehilangan massa sebesar 3,045% pada suhu 37–174oC. Kehilangan massa pada suhu 174oC ini mengindikasikan adanya proses dehidrasi pada pengotor dari tulang sapi yang dipanaskan. Pada suhu 174–550oC sampel mengalami kehilangan massa sebesar 12,27%, hasil ini menunjukkan adanya puncak eksotermik pada suhu 350oC dan mengindikasikan bahwa terjadi proses dehidrasi dan juga pelepasan zat organik lain yang ada pada tulang sapi ketika mengalami kenaikan suhu pemanasan. Pada suhu 550-1028oC sampel kehilangan massa sebesar 17,45% dan menunjukkan terbentuknya puncak endotermik pada suhu 1060oC. Puncak endotermik pada suhu tersebut mulai mengalami perubahan fasa yaitu hidroksiapatit. Penurunan massa dari sampel berbahan tulang sapi dengan proses kalsinasi menjadi 67,235% karena kehilangan massa total sebesar 32,765% seperti terlihat pada Gambar 1.



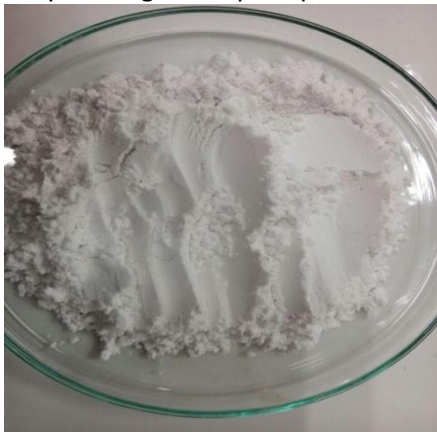
Gambar 1. analisa GTA/TG

Pada penelitian ini dilakukan kalsinasi pada suhu 900oC karena suhu 900oC merupakan suhu optimum dari hidroksiapatit. Selain itu, pada suhu 900oC dihasilkan difraktogram dengan puncak yang tajam dan intensitas tinggi yang mengindikasikan bahwa derajat kristalinitas hidroksiapatit hasil

kalsinasi tinggi. Jika hidroksiapatit dikalsinasi dibawah suhu 900oC maka tulang sapi belum sepenuhnya menjadi hidroksiapatit namun masih berupa karbon yang berwarna hitam sedangkan jika hidroksiapatit dikalsinasi diatas suhu 900oC maka strukturnya akan menjadi rusak dan apabila hidroksiapatit dikalsinasi pada suhu 900oC kurang dari 6 jam , difraktogram yang dihasilkan memiliki puncak yang lebar dengan intensitas rendah yang mengindikasikan derajat kristalinitasnya rendah sedangkan ketika hidroksiapatit dikalsinasi pada suhu 900oC selama lebih dari 6 jam, difraktogram yang dihasilkan juga lebar dengan intensitas rendah karena kristal sudah mengalami kerusakan. Setelah dikalsinasi pada suhu 900oC selama 6 jam maka dilakukan proses pendinginan secara perlahan-lahan di dalam tanur hingga sampel mencapai suhu ruang. Apabila hidroksiapatit hasil kalsinasi diambil secara langsung pada suhu 900oC, maka akan menyebabkan kejutan termal yaitu proses perubahan suhu secara mendadak. Kejutan termal ini akan menyebabkan morfologi permukaan dari hidroksiapatit mengalami perubahan yang ditandai terbentuknya gumpalan yang retak dan terpecah.

Hidroksiapatit yang dihasilkan kemudian digerus dan diseragamkan ukurannya dengan cara diayak dengan ayakan 100 mesh dengan tujuan untuk memperbesar luas permukaan. Luas permukaan yang besar akan mempercepat reaksi kimia ketika dikompositkan dengan kolagen dan kitosan sehingga diharapkan interaksi antara hidroksiapatit/kolagen/kitosan dapat terjadi secara cepat.

Hidroksiapatit yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki rendemen sebesar 69,44%. Menurunnya bobot antara sebelum dan sesudah kalsinasi disebabkan karena selama kalsinasi terjadi dekomposisi senyawa organik seperti protein dan lemak serta terjadi pelepasan air dan gas karbon dioksida.



Gambar 2. Serbuk hidroksiapatit

Ekstraksi kolagen dari tulang sapi



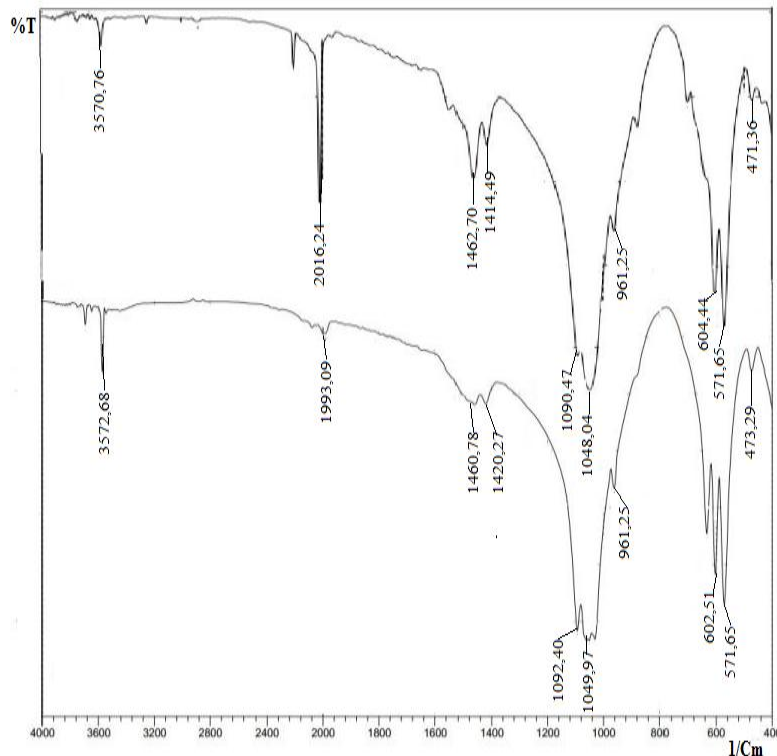
Hasil karakterisasi hidroksiapatit dari tulang sapi

Hidroksiapatit yang dihasilkan dari tulang sapi dianalisis gugus fungsinya dengan menggunakan FTIR dan fasa kristal, derajat kristalinitas serta ukuran kristalnya dengan menggunakan XRD. Hasilnya

karakterisasinya sebagai berikut:

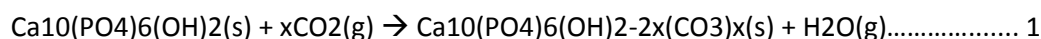
Analisa gugus fungsi dengan menggunakan FTIR

Analisa gugus fungsi dengan menggunakan FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional yang terdapat pada hidroksiapatit yang dihasilkan dari tulang sapi. Analisa gugus fungsi dilakukan pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm⁻¹. Hasil FTIR dari hidroksiapatit ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektra Hidroksiapatit dari tulang sapi (A) dan hidroksiapatit dari Bank Jaringan (B)

Berdasarkan spektra FTIR dari Gambar 3, maka dapat dilihat bahwa hidroksiapatit hasil kalsinasi dari tulang sapi mirip dengan hidroksiapatit dari Bank Jaringan hal ini dibuktikan dari gugus-gugus fungsi khas milik hidroksiapatit yang muncul pada bilangan gelombang yang hampir sama. Hidroksiapatit dari tulang sapi yang dianalisis menunjukkan pita absorpsi dari gugus OH⁻ pada bilangan gelombang 3572,68 cm⁻¹ ; 1993,09 cm⁻¹ dan 602,51 cm⁻¹ sedangkan hidroksiapatit dari Bank Jaringan menunjukkan pita absorpsi dari gugus OH⁻ pada bilangan gelombang 3570,76 cm⁻¹ ; 2016,24 cm⁻¹ dan 604,44 cm⁻¹. Pada Gambar 2 terlihat bahwa spektra dari gugus OH⁻ terlihat runcing tidak seperti biasanya yang terlihat landai ini dikarenakan pada senyawa hidroksiapatit gugus OH⁻ berikatan dengan logam Ca²⁺.Gugus PO₄³⁻ mempunyai 4 mode vibrasi yaitu vibrasi simetri stretching (υ₁) dengan bilangan gelombang sekitar 956 cm⁻¹, vibrasi simetri bending (υ₂) dengan bilangan gelombang sekitar 430-460 cm⁻¹, vibrasi asimetri stretching (υ₃) dengan bilangan gelombang sekitar 1040-1090 cm⁻¹, vibrasi asimetri bending (υ₄) dengan bilangan gelombang sekitar 575-610 cm⁻¹. Hidroksiapatit yang dikalsinasi dari tulang sapi menunjukkan bahwa terdapat pita absorpsi dari gugus karbonat (CO₃²⁻) pada bilangan gelombang sekitar 1400 cm⁻¹. Adanya gugus karbonat pada hidroksiapatit yang dihasilkan disebabkan karena terjadi kontak langsung antara sampel hidroksiapatit dengan karbon dioksida (CO₂) di udara. Reaksi antara hidroksiapatit dengan gas CO₂ di udara adalah sebagai berikut :



Tabel 1. Gugus fungsional hidroksiapatit hasil kalsinasi dan hidroksiapatit dari Bank Jaringan

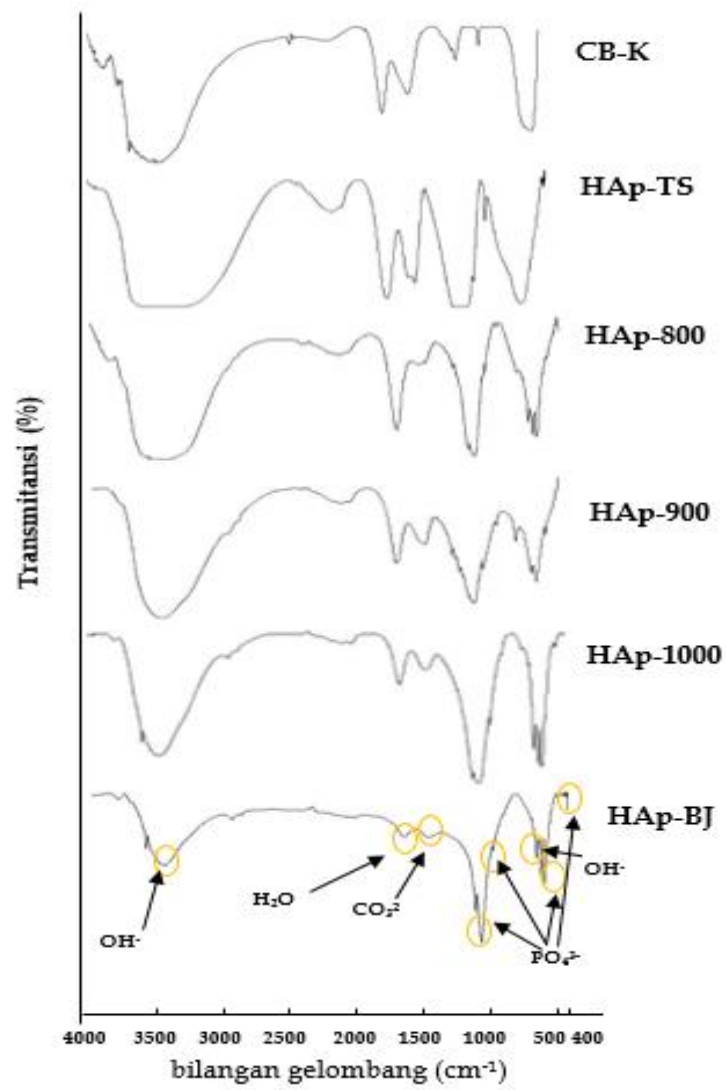
Gugus Fungsional	Bilangan gelombang (cm-1)	
	HA Bank Jaringan	HA tulang sapi
-PO43-	961,25	961,25
	473,29	471,36
	1049,97	1048,04
	1092,40	1090,47
	571,65	571,65
-CO32-	1420,27	1414,49
	1460,78	1462,70
-OH	602,51	604,44
	1993,09	2016,24
	3572,68	3570,76

Analisa fasa kristal, derajat kristalinitas dan ukuran kristal dengan menggunakan XRD Pada penelitian ini dilakukan karakterisasi dengan menggunakan instrument X-Ray Diffraction (XRD) untuk menganalisa fasa kristal, derajat kristalinitas dan ukuran kristal serbuk hidroksiapatit yang diperoleh dari kalsinasi tulang sapi. Analisa fasa dilakukan dengan membandingkan data hasil karakterisasi XRD dengan data JCPDS (Joint Commite on Powder Diffraction Standards). Hidroksiapatit yang dikalsinasi dari tulang sapi memiliki kemiripan dengan hidroksiaptit dari Bank Jaringan yang telah diaplikasikan dalam bidang medis di Rumah Sakit Dr. Soetomo. Kedua hidroksiapatit didominasi oleh fasa hidroksiapatit dengan puncak tertinggi berada pada sudut $2\theta=31,8023^\circ$, ini sesuai dengan data JCPDS nomor 09-0432. Hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) muncul dengan intensitas relatif sebesar 100%. Fasa lainnya yang terbentuk pada kedua hidroksiapatit yaitu apatit karbonat tipe-A (AKA) dan apatit karbonat tipe-B (AKB). AKA ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$) terbentuk karena ion karbonat menggantikan ion OH^- pada struktur hidroksiapatit sedangkan AKB ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_3(\text{CO}_3)(\text{OH})_2$) terbentuk karena ion karbonat menggantikan ion PO_4^{3-} pada struktur hidroksiapatit. AKA muncul pada sudut $2\theta=26,0214^\circ$ serta $32,2708^\circ$ yang sesuai dengan data JCPDS nomor 35-0180. AKA muncul dengan intensitas relatif masing-masing sebesar 40,69% dan 63,24%. AKB muncul pada sudut $2\theta=28,234^\circ$ ini sesuai dengan data JCPDS nomor 19-0272. AKB muncul dengan intensitas relatif sebesar 7,54%. Pada penelitian ini fasa AKA lebih mendominasi apabila dibandingkan dengan fasa AKB karena pada penelitian ini senyawa hidroksiapatit dihasilkan dari proses kalsinasi pada temperatur tinggi yaitu 900°C namun apabila

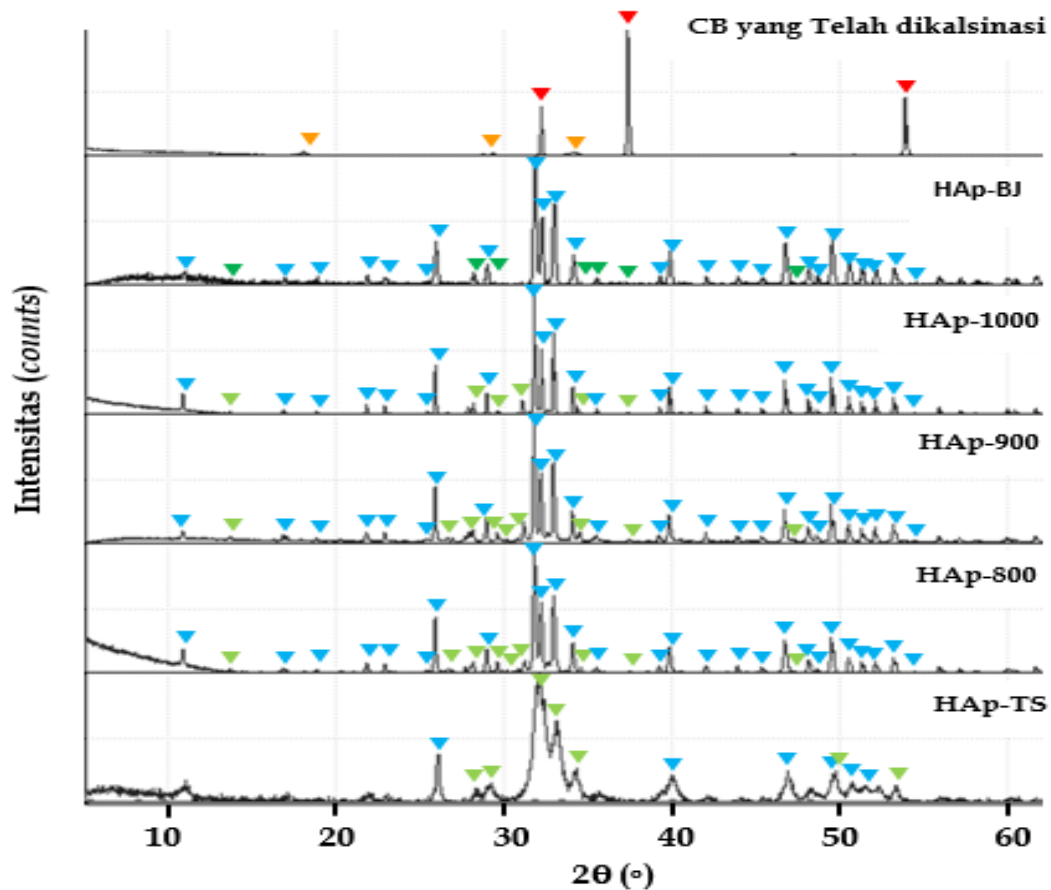
sintesis senyawa hidroksiapatit dilakukan pada suhu rendah yaitu 60-100°C maka fasa AKB akan lebih mendominasi (Elliott, J.C., 1973). Nurmawati(2007) mengemukakan bahwa adanya perpaduan karbonat tidak membahayakan karena pada tulang manusia juga mengandung apatit karbonat. Bukti adanya fasa AKA dan AKB ini memperkuat dugaan hasil karakterisasi dengan FTIR dimana dari analisa gugus fungsional diketahui terdapat pita absorpsi dari gugus karbonat pada bilangan gelombang sekitar 1400 cm^{-1} .

Hidroksiapatit yang dikalsinasi dari tulang sapi memiliki derajat kristalinitas sebesar 95,918% dengan ukuran kristalnya berada pada range 18,54-137,73 nm dengan rata-rata ukuran kristalnya sebesar 67,05 nm. Ukuran kristal yang cocok untuk digunakan sebagai implan tulang adalah kurang dari 100 nm dan dalam penelitian ini, persentase ukuran kristal yang sesuai untuk diaplikasikan sebagai implan tulang sebesar 85,71% sedangkan 14,29% sisanya memiliki ukuran kristal yang terlalu besar apabila diaplikasikan sebagai implan tulang. Berdasarkan ISO-13779: 2008, derajat kristalinitas hidroksiapatit yang akan digunakan sebagai implan tulang harus lebih dari 95%. Derajat kristalinitas merupakan besaran yang menyatakan banyaknya kandungan kristal dalam suatu material dengan membandingkan luasan kurva kristal dengan luasan total dari material tersebut [2]. Hasil penelitian [3] menghasilkan hidroksiapatit dengan ukuran kristal berada pada range 50-100 nm. Ukuran kristal dalam satuan nanometer lebih mudah diserap ketika diaplikasikan untuk bidang medis karena luas permukaan kontak hidroksiapatit dengan jaringan sekitarnya meningkat sehingga ikatan antarmuka jaringan dengan hidroksiapatit akan semakin meningkat pula.

Pengaruh suhu kalsinasi



Pengaruh suhu kalsinasi pada sistesis hidroksiapatit



Difraktogram pengaruh suhu kalsinasi pada sintesis hidroksiapatit

Sampel	β (rad)	Fraksi		kristalinitas (%)
		Amorf	crystal	
CA-K	0,007	0,700	74,200	99,065
HAp-TS	0,033	2,970	19,074	86,527
HAp-8	0,022	1,760	52,800	96,774
HAp-9	0,019	1,140	57,570	98,058
HAp-10	0,017	1,020	80,750	98,753

Analisis fasa kristal dari hidroksiapatit pada berbagai variasi suhu kalsinasi

Sintesis komposit HA/Coll/Chi

Sintesis komposit HA/Coll/Chidilakukan dengan menggunakan metode ex-situ. Metode ex-situ merupakan metode sintesis komposit yang dilakukan setelah sampel utama terbentuk, dilanjutkan dengan penambahan polimer. Dalam penelitian ini sampel utamanya adalah hidroksiapatit kemudian ditambahkan dengan polimer organik yaitu kolagen dan kitosan. Metode ex-situ dipilih karena tulang sapi hasil kalsinasi pada suhu 900oC selama 6 jam sudah mengandung senyawa hidroksiapatit sehingga tidak memungkinkan untuk menggunakan metode in-situ.



Komposit HA/Coll/Chi dengan Variasi Komposisi 7:1.5:1,5(A) dan 7:2:1 (B)

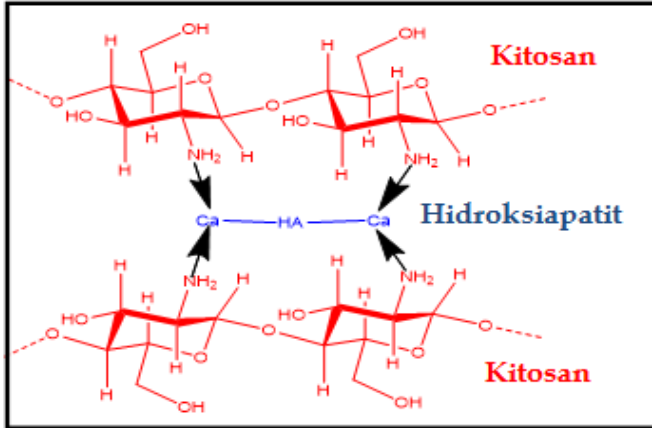
Kolagen dipilih untuk dikompositkan dengan hidroksiapatit untuk digunakan sebagai implan tulang karena kolagen mampu memperbaiki sifat hidroksiapatit yang rapuh. Kolagen mampu memberikan kelenturan dan ketahanan pada jaringan tulang serta memberikan sifat fleksibel. Tulang yang tidak mengandung kolagen akan menjadi rapuh dan mudah patah. Menurut Widyaning [4] komposit kolagen-hidroksiapatit berbentuk scaffold banyak dimanfaatkan untuk memperbaiki jaringan tulang yang rusak. Penelitian [5] menyatakan bahwa komposit hidroksiapatit-kolagen berpotensi menjadi bone graft, karena permukaan hidroksiapatit-kolagen cocok untuk media perlekatan sel, kekuatan tekan komposit ini melebihi nilai minimal untuk tulang serta komposit hidroksiapatit-kolagen terbukti non-toksik dengan presentase sel hidup sekitar 100% yang mendukung regenerasi tulang. Selain ditambahkan dengan kolagen, untuk memberikan pori pada bone graft agar bisa ditumbuhi jaringan maka hidroksiapatit ditambahkan dengan kitosan. Kitosan adalah salah satu polimer alami yang berpotensi digunakan sebagai serat/filler dalam pembuatan komposit. Kitosan memiliki sifat biodegradabel, bioresorbabel, biokompatibel, non-toksik, antibakteri dan osteokonduktif. Karakter osteokonduktif yang dimiliki kitosan dapat mempercepat pertumbuhan osteoblast pada komposit hidroksiapatit-kitosan sehingga dapat mempercepat pembentukan tulang baru [6].

Sintesis komposit HA/Coll/Chidiawali dengan preparasi larutan hidroksiapatit, kolagen dan kitosan. Hidroksiapatit dan kolagen ditambahkan dengan aquademineral dengan tujuan untuk meningkatkan homogenitasnya ketika dicampurkan dengan larutan kitosan (Yildirim, 2004) sedangkan kitosan dilarutkan dengan menggunakan asam asetat 5% (v/v).

Pada penelitian digunakan variasi komposisi HA/Coll/Chi 7:2:1 ; 7:1,5:1,5 dan 7:1:2. Variasi ini disesuaikan dengan komposisi yang ada pada tulang manusia. Substansi interseluler (matriks tulang) manusia terdiri dari komponen anorganik (69%) yang berupa material hidroksiapatit (99%), komponen organik (22%) yang berupa kolagen tipe I dan glikosaminoglikan serta air (9%). Pada penelitian ini senyawa glikosaminoglikan diwakilkan oleh kitosan karena kitosan memiliki struktur yang hampir mirip dengan glikosaminoglikan. Selain itu, variasi komposisi tersebut dipilih dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh dari penambahan senyawa organik seperti kolagen dan kitosan pada sintesis bone graft sebagai kandidat implan tulang.

Setelah larutan hidroksiapatit, kolagen dan kitosan telah selesai dibuat maka langkah selanjutnya adalah mensintesis komposit hidroksiapatit/kitosan dengan cara larutan hidroksiapatit yang telah

dibuat ditambahkan pada larutan kitosan tetes demi tetes sambil diaduk dengan menggunakan magnetic stirrer. Penambahan larutan hidroksiapatit dilakukan tetes demi tetes supaya larutan hidroksiapatit terdistribusi sempurna pada larutan kitosan dan agar terjadi interaksi antara hidroksiapatit dan kitosan. Interaksi antara hidroksiapatit dan kitosan terjadi ketika ion Ca^{2+} dari hidroksiapatit berikatan secara kovalen koordinasi dengan gugus $-\text{NH}_2$ dari kitosan (Cheng et al, 2009).



Gambar 4. Interaksi hidroksiapatit/kitosan [7]

Langkah selanjutnya adalah penambahan larutan kolagen tetes demi tetes pada komposit hidroksiapatit/kitosan. Penambahan tetes demi tetes ini bertujuan untuk meningkatkan distribusinya dan agar terjadi interaksi antara komposit hidroksiapatit/kitosan dengan kolagen. Dari Gambar 5 dapat diketahui bahwa interaksi komposit HA/Coll/Chit terjadi ketika ion Ca^{2+} dari hidroksiapatit berikatan secara kovalen koordinasi dengan gugus $-\text{NH}_2$ dari kitosan dan gugus $-\text{COOH}$ dari kolagen. Komposit hidroksiapatit/kolagen/kitosan yang telah terbentuk kemudian dinetralkan dengan menggunakan Na_2HPO_4 1M hingga pH menjadi 7 untuk disesuaikan dengan keadaan pada tulang manusia. Selanjutnya komposit yang telah netral dibekukan dalam freezer dan diliofilisasi dengan menggunakan freeze dry pada suhu -80°C selama 7 jam. Pada prinsipnya metode freeze-drying terdiri atas dua urutan proses, yaitu pembekuan yang dilanjutkan dengan pengeringan. Proses pengeringan yang terjadi pada vacuum freeze dry chamber disebut liofilisasi. Liofilisasi adalah proses mengeringkan suatu bahan dengan cara menyublimkan air. Dalam hal ini, proses pengeringan berlangsung pada saat bahan dalam keadaan beku, sehingga proses perubahan yang terjadi adalah sublimasi. Sublimasi dapat terjadi jika suhu dan tekanan ruang sangat rendah, yaitu dibawah titik tripel air (suhu $0,01^\circ\text{C}$ dan tekanan $0,61$ Kpa). Pada saat pembekuan terbentuk kristal-kristal es didalam komposit. Kemudian pada saat pengeringan, kristal es tersebut akan tersublimasi dan meninggalkan rongga (pori) di dalam komposit (Ichsan, 2012). Komposit yang dihasilkan berupa serbuk berwarna putih hingga putih kekuningan. Warna kuning pada serbuk yang dihasilkan karena adanya kandungan kitosan. Semakin banyak kandungan kitosan pada komposit HA/Coll/Chi, maka serbuk yang dihasilkan warnanya semakin putih kekuningan .

Reaksi hipotetik antara HA/Coll/Chi adalah sebagai berikut :

Hidroksiapatit

Kitosan

Gambar 5 Reaksi hipotetik hidroksiapatit/kolagen/kitosan

Karakterisasi komposit HA/Coll/Chi

Komposit HA/Coll/Chi yang dihasilkan dikarakterisasi gugus fungsinya dengan menggunakan FTIR, fasa kristal, ukuran kristal serta derajat kristalinitasnya menggunakan XRD, morfologi permukaan dengan menggunakan SEM, luas permukaan, volume pori dan ukuran pori dengan menggunakan SAA serta kekuatan tekan menggunakan autograph.

Analisis Gugus Fungsi

Analisis gugus fungsi dilakukan dengan menggunakan FTIR. Analisis gugus fungsi ini bertujuan untuk mengetahui gugus fungsional yang terkandung dalam komposit hidroksiapatit/kolagen/kitosan yang meliputi gugus PO_4^{3-} dan OH^- dari hidroksiapatit, gugus C=O dan $-\text{NH}_2$ dari kitosan dan kolagen. Analisis gugus fungsi ini juga bertujuan untuk melihat kemungkinan terjadinya reaksi yang ditandai dengan adanya pergeseran spektra, kenaikan maupun penurunan intensitas serta hilang ataupun munculnya spektrabarunya pada bilangan gelombang dalam rentang $4000\text{--}400\text{cm}^{-1}$. Spektra FTIR dari hidroksiapatit tulang sapi, kolagen, kitosan pada gambar 5.

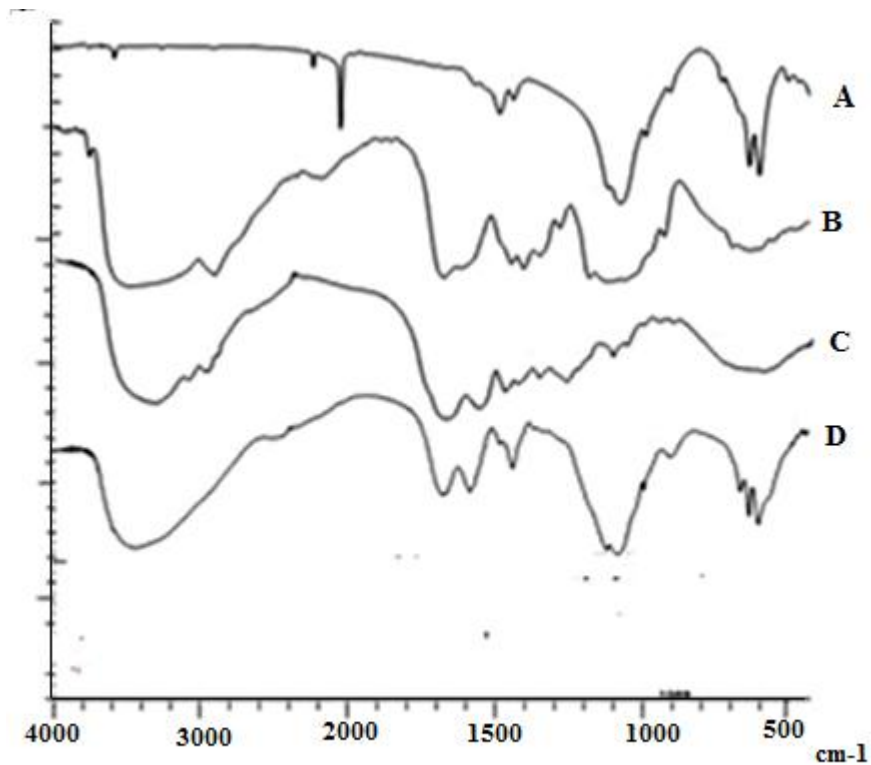
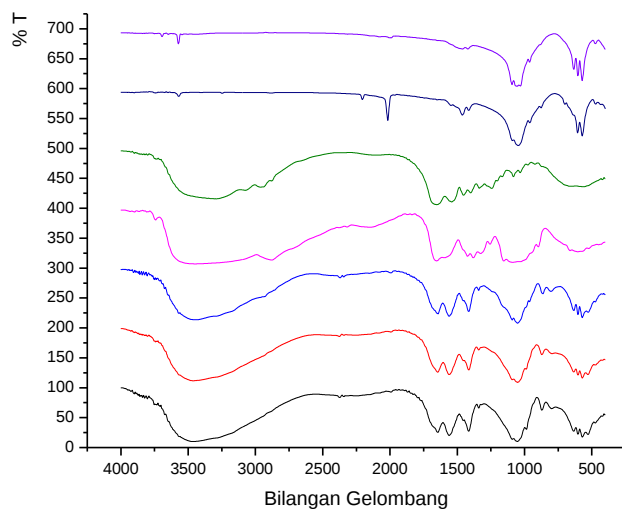


Figure 6 (a) Spektra IR Hap, (b) Chitosan, (c) Collagen, (d) Bone graft

Sedangkan Gambar 7 dan komposit HA/Coll/Chi hidroksiapatit tulang sapi, kolagen, kitosan dengan variasi massa 8:1:1 (D); 8:1.5:0.5 (E) dan 8:0.5:1.5 (F) diperlihatkan pada Gambar



Gambar 6 Gambar 4 Hasil analisis FTIR hidroksiapatit bank jaringan (A), Hidroksiapatit tulang sapi (B), Kolagen (C), Kitosan (D), Komposit 7:2:1(E), komposit 7:1,5:1,5(F), komposit 7:1:2(G)

Tabel 2. Spektra FTIR dari hidroksiapatit dan komposit HA/Coll/Chi

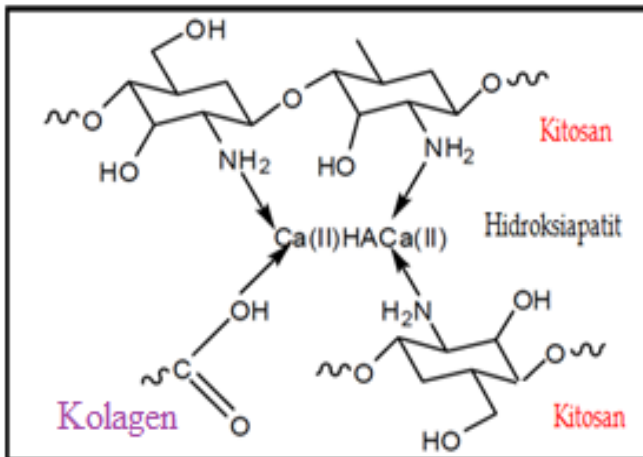
Gugus Fungsional	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)						
	HA Bank Jaringan	HA tulang sapi	Kitosan	Kolagen	Komposit 7:2:1	Komposit 7:1,5:1,5	Komposit 7:1:2
-PO ₄ ³⁻	961,25	961,25	-	-	959,32	995,96	961,25
	473,29	471,36	-	-	-	-	-
	1049,97 1092,40	1048,04 1090,47	-	-	1053,82 1090,47	1063,47 1090,47	1055,75 1090,47
	571,65	571,65	-	-	569,72	569,72	571,65
-CO ₃ ²⁻	1420,27 1460,78	1414,49 1462,70			1412,56 1458,85	1414,49 1456,92	1414,49 1458,85
	602,51 1993,09 3572,68	604,44 2016,24 3570,76	3391,39	3291,10	602,51 - 3443,46	604,44 - 3426,10	602,51 - 3456,96
-C=O	-	-	1595,78	1649,79	1653,64	1647,86	1645,93

Berdasarkan Tabel 2 terlihat bahwa hasil spektra FTIR hidroksiapatit dari tulang sapi (Gambar.6.A) muncul pita absorpsi pada bilangan gelombang 961,25 cm⁻¹ ; 471,36 cm⁻¹ ; 1048,04 cm⁻¹ dan 1090,47 cm⁻¹ serta 571,65 cm⁻¹ yang mengindikasikan adanya gugus –PO₄³⁻. Pada spektra hidroksiapatit juga muncul pita absorpsi pada bilangan gelombang 604,44 cm⁻¹ ; 2016,24 cm⁻¹ dan 3570,76 cm⁻¹ yang mengindikasikan adanya gugus –OH- serta bilangan gelombang 1414,49 cm⁻¹ dan 1462,70 cm⁻¹ yang mengindikasikan adanya gugus –CO₃²⁻.

Hasil spektra FTIR milik kolagen sapi (Gambar 6.B) menunjukkan adanya gugus-gugus khas dari kolagen yaitu –NH ; OH dan C=O. Pada bilangan gelombang 3291,10 cm⁻¹ muncul pita absorpsi dari vibrasi stretching gugus –NH yang berasosiasi dengan ikatan hidrogen dengan OH dari hidroksiprolin. Pada bilangan gelombang 1649,79 cm⁻¹ muncul pita absorpsi dari amida I dari vibrasi stretching gugus karbonil (C=O) yang membuktikan struktur sekunder protein. Struktur sekunder protein adalah struktur 3 dimensi yang menggambarkan hubungan antar atom yang dipengaruhi ikatan nonkovalen seperti ikatan hidrogen. Pada bilangan gelombang 1541,76 cm⁻¹ terdapat pita absorpsi dari amida II yang muncul dari adanya ikatan NH yang membuktikan struktur tripel heliks dari kolagen. Gugus amina (C-N) milik kolagen muncul pada bilangan gelombang 1165,69 cm⁻¹ . Hasil spektra FTIR kitosan (Gambar 4.6.C) menunjukkan adanya gugus-gugus khas milik kitosan. Pada bilangan gelombang 3391,39 cm⁻¹ terjadi tumpang tindih serapan vibrasi rentangan gugus –OH- dan N-H sedangkan vibrasi bengkokan N-H dari NH₂ muncul pada bilangan gelombang 1653,64 cm⁻¹. Spektra FTIR pada penelitian ini muncul pita absorpsi pada bilangan gelombang 1325,77 cm⁻¹ yang mengindikasikan adanya vibrasi rentangan C-N yang menunjukkan masih adanya gugus –NHCOCH₃, karena kitosan pada penelitian ini memiliki derajat deasetilasi sebesar 85 %. Pada bilangan gelombang 2880,29 cm⁻¹ terdapat pita serapan dari vibrasi rentangan C-H pada –CH₂- alifatik yang diperkuat dengan munculnya serapan vibrasi bengkokan –CH₂- pada bilangan gelombang 1424,13 cm⁻¹ sedangkan vibrasi bengkokan –CH₃ muncul pada bilangan gelombang 1379,77 cm⁻¹. Pita absorpsi dari vibrasi rentangan C-O muncul pada bilangan gelombang 1154,12 cm⁻¹ dan diperkuat pada bilangan gelombang 1088,54 cm⁻¹. Pita absorpsi dari C-O ini bisa berasal dari ikatan C-O-C atau C-O-H.

Komposit HA/Coll/Chi (Gambar 6.A-C) mengandung gugus -PO₄³⁻ dan –OH dari hidroksiapatit, gugus C=O serta –NH₂ dari kitosan dan kolagen. Pada komposit dengan rasio HA:Coll:Chisebesar 7:2:1 pita

absorpsi dari gugus PO_4^{3-} muncul pada bilangan gelombang 959,32 cm^{-1} (ν_1); 1053,82 dan 1090,47 cm^{-1} (ν_3) serta 569,72 cm^{-1} (ν_4) sedangkan pita absorpsi dari vibrasi regangan gugus OH - yang tumpang tindih dengan vibrasi regangan gugus NH_2 dari kolagen dan kitosan muncul pada bilangan gelombang 3443,46 cm^{-1} dengan spektrayang melebar/broadening yang disebabkan karena adanya interaksi antar unsur penyusun dari komposit, seperti ikatan hidrogen antara kitosan-hidroksiapatit. Ikatan hidrogen antara kitosan dengan hidroksiapatit diperlihatkan pada Gambar 4.8 Gugus OH dan NH_2 dari kitosan berikatan dengan gugus OH dari hidroksiapatit. Pita absorpsi gugus karbonil (C=O) dari kitosan dan kolagen muncul pada bilangan gelombang 1653,64 cm^{-1} dan untuk komposit dengan rasio HA:Coll:Chi 7:1,5:1,5 pita absorpsi dari gugus PO_4^{3-} muncul pada bilangan gelombang 995,96 cm^{-1} (ν_1); 1063,47 dan 1090,47 cm^{-1} (ν_3) serta 569,72 cm^{-1} (ν_4) sedangkan pita absorpsi dari vibrasi regangan gugus OH - yang tumpang tindih dengan vibrasi regangan gugus NH_2 dari kolagen dan kitosan muncul pada bilangan gelombang 3426,10 cm^{-1} dan pita absorpsi dari gugus karbonil milik kitosan dan kolagen muncul pada bilangan gelombang 1647,86 cm^{-1} . Komposit HA:Coll:Chidengan rasio 7:1:2 memiliki pita absorpsi dari gugus PO_4^{3-} muncul pada bilangan gelombang 961,25 cm^{-1} (ν_1); 1055,75 dan 1090,47 cm^{-1} (ν_3) serta 571,65 cm^{-1} (ν_4) sedangkan pita absorpsi dari vibrasi regangan gugus OH - yang tumpang tindih dengan vibrasi regangan gugus NH_2 dari kolagen dan kitosan muncul pada bilangan gelombang 3456,96 cm^{-1} dan serapan gugus karbonil dari kitosan dan kolagen muncul pada bilangan gelombang 1645,93 cm^{-1} . Adanya interaksi dari hidroksiapatit, kolagen dan kitosan terlihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Interaksi komposit HA/Coll/Chi [8]

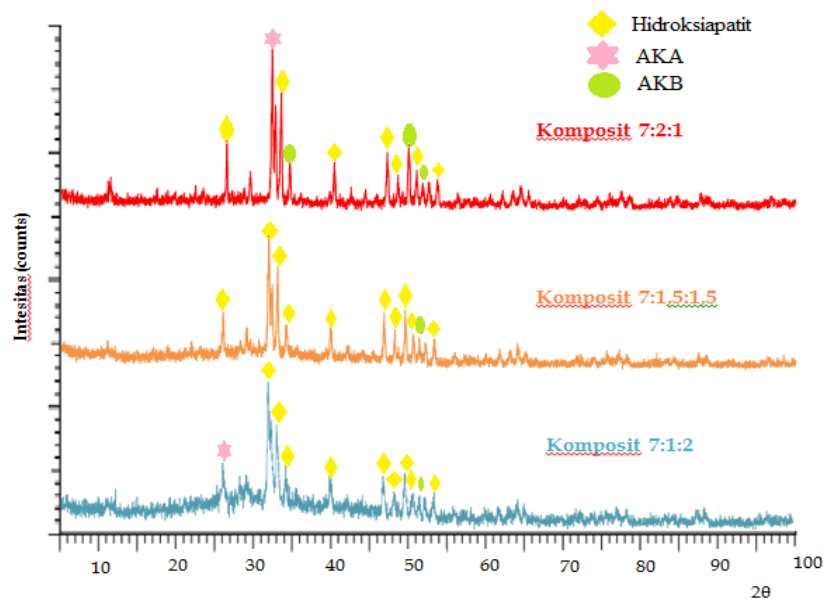
Analisis fasa kristal, ukuran kristalit dan derajat kristalinitas

Analisa fasa kristal, ukuran kristal dan derajat kristalinitas dari komposit HA/Coll/Chiyang dihasilkan dilakukan dengan menggunakan instrumentX-Ray Diffraction (XRD).

Analisis Fasa

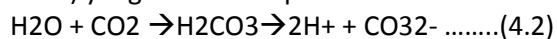
Analisis fasa dilakukan untuk mengetahui fasa dari komposit HA/Coll/Chiyang telah dihasilkan.

Analisis fasa dilakukan dengan membandingkan difraktogram hasil XRD dari komposit dengan database Joint Committee on Powder Difraction Standards (JCPDS). Difraktogram komposit ditunjukkan pada Gambar 10.



Gambar 10. Difraktogram komposit HA/Coll/Chi

Dari Gambar 10 terlihat bahwa keseluruhan komposit HA/Coll/Chiyang dihasilkan memiliki fasa dominan hidroksiapatit. Pada komposit HA/Coll/Chidengan komposisi massa 7:2:1 puncak 2θ tertinggi dimiliki oleh fasa apatit karbonat tipe-A (AKA). AKA dengan intensitas relatif sebesar 100% muncul pada sudut $2\theta = 32,2522^\circ$ ini sesuai dengan data JCPDS nomor 35-0180. Pada komposit dengan perbandingan 7:2:1 fasa hidroksiapatit muncul pada sudut $2\theta = 33,0758^\circ$ yang diperkuat dengan sudut $2\theta = 25,8345^\circ$; $39,9906^\circ$; $47,1423^\circ$; $48,5337^\circ$; $50,9252^\circ$; $51,7049^\circ$ serta $53,6275^\circ$ yang sesuai dengan data JCPDS nomor 09-0432 sedangkan apatit karbonat tipe-B (AKB) muncul pada sudut $2\theta = 34,5373^\circ$; $49,9117^\circ$ dan $52,5179^\circ$ ini sesuai dengan data JCPDS nomor 19-0272. Pada komposit HA/Coll/Chidengan komposisi massa 7:1,5:1,5 fasa hidroksiapatit muncul dengan intensitas relatif sebesar 100% pada sudut $2\theta = 31,7950^\circ$ yang diperkuat dengan sudut $2\theta = 25,5250^\circ$; $39,8240^\circ$; $46,7124^\circ$; $48,1074^\circ$; $49,4766^\circ$; $50,5104^\circ$; $51,2921^\circ$ serta $53,1987^\circ$. AKA muncul pada sudut $2\theta = 26,5933^\circ$ serta $30,5933^\circ$ sedangkan AKB muncul pada sudut $2\theta = 52,7745^\circ$. Pada komposit HA/Coll/Chidengan komposisi massa 7:1:2 puncak 2θ tertinggi juga dimiliki oleh fasa hidroksiapatit yang muncul pada sudut $2\theta = 32,0168^\circ$ dan diperkuat dengan sudut $2\theta = 39,9122^\circ$; $46,7736^\circ$; $48,1913^\circ$; $51,4150^\circ$ serta $53,2793^\circ$ sedangkan AKA muncul pada sudut $2\theta = 25,9743^\circ$ dan AKB muncul pada sudut $2\theta = 52,1897^\circ$. Substitusi ion karbonat pada kisi kristal hidroksiapatit bisa disebabkan adanya reaksi antara gas karbon dioksida yang ada di atmosfer dengan ion hidroksil yang berasal dari pelarut seperti aquademineral sehingga dihasilkan gugus karbonat (CO_3^{2-}) (Suryadi, 2011) yang memenuhi persamaan reaksi 4.2 berikut ini (Fleet, 2015) :

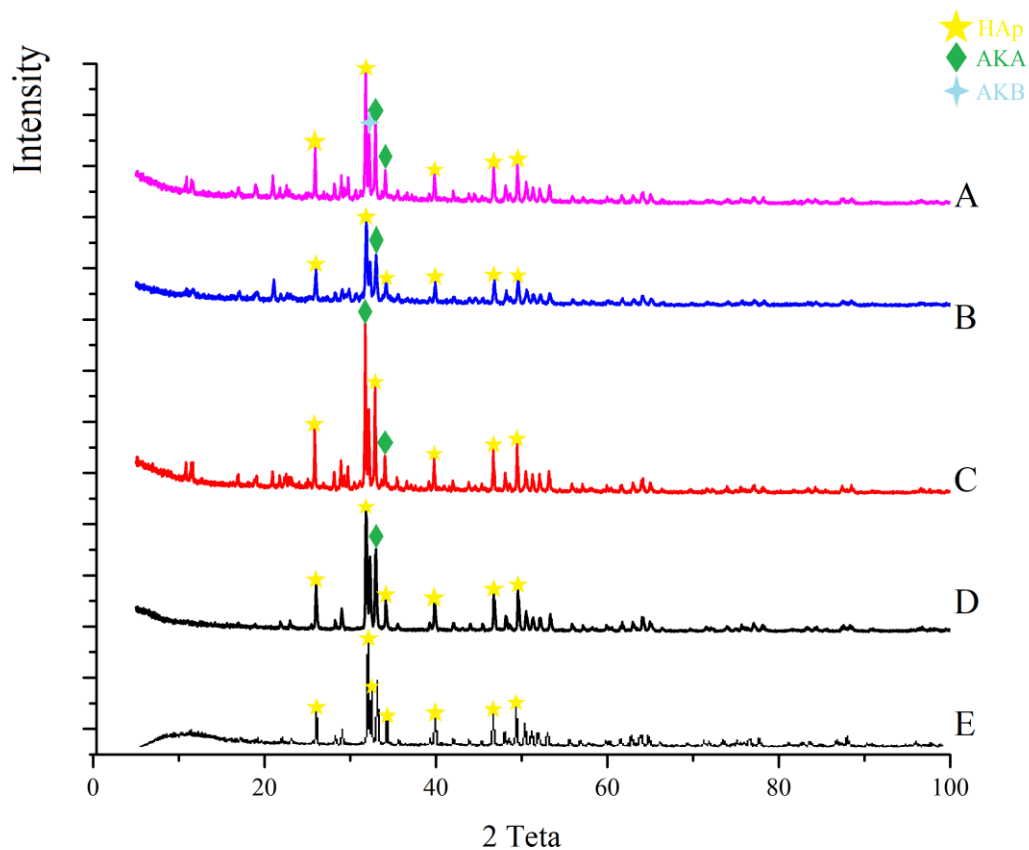


Adanya gas karbon dioksida bebas di atmosfer sulit untuk dihindari selama proses sintesis komposit hidroksiapatit/kolagen/kitosan. Solusi untuk mengusir gas karbon dioksida yaitu dengan inertisasi lingkungan atau menggunakan suatu reaktor dengan mengalirkan gas inert seperti gas nitrogen. Nurmawati (2007) mengemukakan bahwa adanya senyawa karbonat tidak membahayakan karena pada tulang manusia juga mengandung senyawa karbonat baik dalam bentuk AKA maupun AKB. Adanya AKA dan AKB akan membantu pada proses mekanisme ikatan antara hidroksiapatit dan tulang lebih cepat sehingga proses regenerasi tulang bisa berjalan lebih cepat. Hidroksiapatit dapat berperan dalam proses penyembuhan tulang karena hidroksiapatit ikut berperan dalam proses osteogenesis, hal ini karena sifat hidroksiapatit yang osteokonduktif dan osteoinduksi. Hidroksiapatit bersifat osteokonduktif karena hidroksiapatit mampu berperan sebagai scaffold untuk media osteoblast untuk melekat, hidup dan berkembang dengan baik di dalam defek tulang. Hidroksiapatit bersifat osteoinduksi karena hidroksiapatit mampu menstimulasi proses pembentukan tulang baru

(osteogenesis) dengan cara bone graft aktif menstimulasi dan menginduksi sel-sel osteoblast dari jaringan sekitar untuk berpoliferasi dan berdiferensiasi dalam pembentukan tulang baru [9]. Proses pembentukan tulang melibatkan proses dari osteoklas dan osteoblast. Osteoklas adalah proses reabsorpsi tulang atau yang sering disebut demineralisasi sedangkan osteoblast merupakan proses sintesis matriks baru (Said, 2014). Proses pembentukan tulang (osteogenesis) terjadi melalui 3 fase (1) fase inflamasi yaitu pada tingkat seluler, sel-sel inflamasi (neutrofil, makrofag dan fagosit) dan fibroblast akan menginfiltrasi daerah luka yang distimulasi oleh prostaglandin. (2) fase reparasi yaitu merangsang pertumbuhan dengan cara menginduksi dan menjadi media bagi osteoblast untuk melekat, hidup dan berkembang dengan baik di dalam defek tulang yang kemudian luka akan distabilisasi oleh kartilago yang nantinya akan menjadi tulang. (3) fase remodeling yaitu fase untuk memperbaiki bentuk, struktur serta sifat mekanis tulang [9].

Dari Gambar 11 dijabarkan tahapan-tahapan dari pembentukan tulang setelah dilakukan implan dengan menggunakan bone graft. Tahapan-tahapan itu meliputi (1 dan 2) pelarutan permukaan hidroksiapatit (3) kondisi kesetimbangan telah terbentuk antara lapisan fisiologi dengan permukaan hidroksiapatit (4) adsorpsi protein-protein serta senyawa organik lainnya (5) adhesi sel (6,7 dan 8) perkembangan sel hingga terbentuk sel tulang baru.

Fenomena tersebut merupakan sifat dari hidroksiapatit yang bioaktif. Bioaktif diartikan sebagai sifat hidroksiapatit yang akan terlarut sedikit demi sedikit tetapi membantu pembentukan suatu lapisan permukaan apatit biologis sehingga menghasilkan ikatan kimia yang baik antara implan dengan tulang. Implan yang dihasilkan dengan sifat ini memiliki sifat mekanik yang baik.

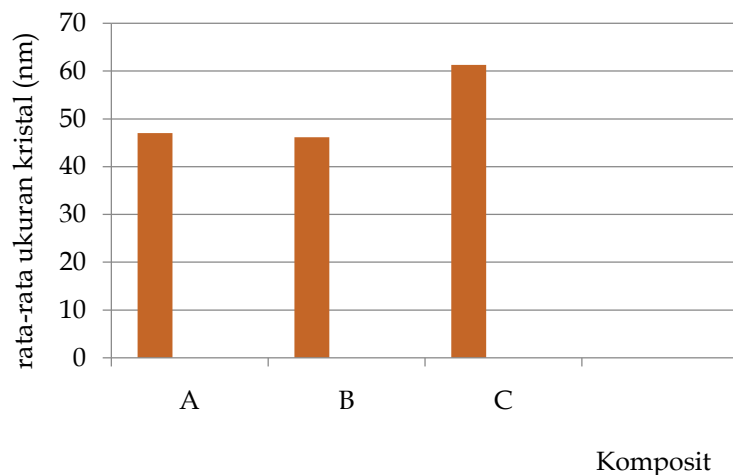


Gambar 11 Diffractogram komposit HA/Coll/Chi 7:1:2 (A); 7:1.5:1.5 (B); 7:2:1 (C) ; Hap tulang sapi (D) dan Hap bank jaringan (E)

Analisis Ukuran Kristal

Analisa ukuran kristal dilakukan untuk mengetahui ukuran kristal dari komposit HA/Coll/Chi yang telah dihasilkan. Ukuran kristal dihitung berdasarkan persamaan Scherrer. Analisa ukuran kristal sangat dibutuhkan karena ukuran kristal berpengaruh pada ikatan antarmuka jaringan dengan implan. Ukuran partikel yang semakin kecil terutama dalam ukuran nanometer akan menghasilkan luas permukaan kontak antara implan dengan jaringan semakin besar sehingga ikatan antarmuka antara jaringan dengan hidroksiapatit juga semakin meningkat.

Komposit HA/Coll/Chi dengan komposisi massa 7: 2: 1 memiliki ukuran kristal dalam range 11,29-286,46 nm dengan rata-rata ukuran kristal sebesar 46,99 nm. Ukuran kristal yang cocok untuk digunakan sebagai implan tulang adalah kurang dari 100 nm. Komposit HA/Coll/Chi dengan komposisi massa 7: 1,5: 1,5 memiliki persentase ukuran kristal yang sesuai untuk diaplikasikan sebagai implan sebesar 86,96% sedangkan 13,04% sisanya memiliki ukuran kristal yang terlalu besar untuk diaplikasikan sebagai implan. Komposit HA/Coll/Chi dengan komposisi massa 7:1:2 memiliki ukuran kristal dalam range 24,89-122,17 nm dengan rata-rata ukuran kristal sebesar 46,15 nm sedangkan komposit HA/Coll/Chi dengan komposisi massa 8:0.5:1.5 memiliki ukuran kristal dalam range 28,88-214,35 nm dengan rata-rata ukuran kristal sebesar 61,30 nm. Pada komposit dengan komposisi 7:1,5:1,5 persentase ukuran kristal yang sesuai untuk diaplikasikan sebagai implan sebesar 96,55% sedangkan untuk komposit dengan variasi massa 7:2:1 persentase ukuran kristal yang sesuai untuk diaplikasikan sebagai implan sebesar 88,46%.



Gambar 12 Grafik rata-rata ukuran kristal komposit HA/Coll/Chidengan variasi massa 7:2:1 (A) ; 7:1,5:1,5 (B) dan 7:1:2 (C)

Ukuran kristal yang dihasilkan dari komposit A dan B tidak jauh berbeda sedangkan ukuran kristal dari komposit C mengalami peningkatan yang cukup signifikan. Ukuran kristal dipengaruhi oleh laju pertumbuhan kristal. Jika laju pertumbuhan kristal berjalan cepat maka akan dihasilkan kristal dengan ukuran yang besar begitupula sebaliknya jika laju pertumbuhan kristal berjalan lambat maka kristal yang dihasilkan akan memiliki ukuran yang kecil. Komposit C memiliki rata-rata ukuran kristal yang paling besar hal ini disebabkan karena laju pertumbuhan kristal pada komposit C lebih cepat bila dibandingkan dengan laju pertumbuhan kristal dari komposit A dan B.

Ukuran kristal yang cocok untuk digunakan sebagai implan tulang adalah kurang dari 100 nm sedangkan ukuran kristal pada manusia bergantung pada jenis tulang. Jenis tulang yang berfungsi untuk melindungi organ-organ bagian dalam memiliki ukuran kristal yang lebih besar sedangkan jenis tulang yang berfungsi sebagai penyokong memiliki ukuran kristal yang lebih kecil karena selama hidupnya tulang mendapat tekanan dari berat tubuh yang harus disokongnya. Nurmawati (2007) telah melakukan karakterisasi terhadap tulang manusia dengan variasi umur, jenis kelamin dan jenis

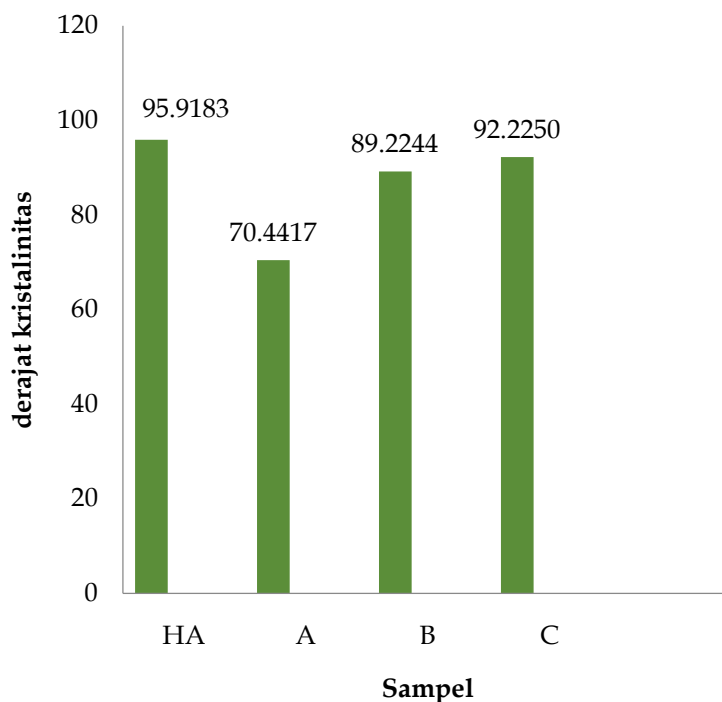
tulang yang digunakan dan hasilnya ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Ukuran kristal pada tulang manusia dengan variasi umur, jenis kelamin dan jenis tulang

Kode Sampel	Umur Tulang	Jenis Kelamin	Jenis Tulang	Ukuran Kristal (nm)
A	Satu Hari	Laki-Laki	Paha	19,97
B	25 Tahun	Wanita	Iga	18,86
C	31 Tahun	Laki-Laki	Iga	19,80
D	31 Tahun	Laki-Laki	Kepala	23,01
E	37 Tahun	Laki-Laki	Tibia	19,33
F	65 Tahun	Laki-Laki	Iga	21,13

Analisis Derajat Kristalinitas

Analisa derajat kristalinitas dilakukan untuk mengetahui derajat kristalinitas dari komposit HA/Coll/Chiyang dihasilkan sehingga dapat diketahui kekuatan ikatan dari komposit hasil sintesis. Derajat kristalinitas adalah besaran yang menyatakan perbandingan luasan kurva kristal dengan luasan total material. Derajat kristalinitas dari serbuk hidroksiapatit dan komposit HA/Coll/Chidengan variasi massa ditampilkan pada Gambar 12.



Gambar 13 Grafik derajat kristalinitas hidroksiapatit dan komposit HA/Coll/Chi dengan variasi massa 7:2:1 (A) ; 7:1,5:1,5 (B) dan 7:1:2 (C)

Dari Gambar 12 terlihat bahwa derajat kristalinitas dari hidroksiapatit mengalami penurunan ketika berubah menjadi komposit HA/Coll/Chi hal ini karena hidroksiapatit ditambahkan dengan polimer organik seperti kolagen dan kitosan. Kolagen dan kitosan bersifat amorf sehingga mampu menurunkan derajat kristalinitas dari hidroksiapatit ketika dalam bentuk komposit. Semakin banyak

polimer organik yang ditambahkan maka penurunan derajat kristalinitas semakin besar. Adanya penurunan derajat kristalinitas tersebut menandakan bahwa komposit HA/Coll/Chitosan berikatan. Semakin rendah derajat kristalinitas maka ikatan antara komposit menjadi semakin kuat. Pada penelitian ini, komposit A memiliki derajat kristalinitas paling rendah sehingga dapat dikatakan bahwa komposit A memiliki ikatan yang lebih kuat apabila dibandingkan dengan komposit B ataupun C. Pada komposit A derajat kristalinitasnya paling rendah dikarenakan pada komposit A mengandung lebih banyak kitosan sehingga komposit yang dihasilkan lebih berongga. Komposit yang memiliki banyak rongga akan memiliki kerapatan kristal yang kecil sehingga derajat kristalinitasnya juga akan semakin rendah.

Nurmawati (2007) telah melakukan karakterisasi derajat kristalinitas pada tulang manusia dengan variasi umur, jenis kelamin dan jenis tulang yang digunakan dan hasilnya ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Derajat kristalinitas pada tulang manusia dengan variasi umur, jenis kelamin dan jenis tulang

Kode Sampel	Umur Sampel	Jenis Kelamin	Jenis Tulang	Derajat kristalinitas (%)
A	Satu Hari	Laki-Laki	Paha	73,73
B	25 Tahun	Wanita	Iga	87,49
C	31 Tahun	Laki-Laki	Iga	69,44
D	31 Tahun	Laki-Laki	Kepala	87,29
E	37 Tahun	Laki-Laki	Tibia	81,01
F	65 Tahun	Laki-Laki	Iga	87,59

Derajat kristalinitas pada tulang manusia bergantung pada umur tulang. Tulang manusia selalu mengalami mineralisasi semasa hidupnya. Mineralisasi adalah suatu proses berubahnya substansi organik menjadi anorganik sehingga dapat dikatakan bahwa semakin bertambahnya umur menyebabkan jumlah mineral tulang manusia juga semakin meningkat. Proses mineralisasi terjadi karena rangka organik tulang menyimpan garam organik seperti trikalsium fosfat melalui proses substansi dan penambahan ion-ion. Senyawa trikalsium fosfat kemudian akan berubah menjadi kristal-kristal hidroksiapatit seiring semakin bertambahnya umur tulang. Sehingga dapat dikatakan bahwa semakin bertambah umur maka derajat kristalinitasnya semakin besar karena semakin banyak kristal apatit yang terbentuk.

Analisis kuat tekan

Analisa kuat tekan dilakukan dengan menggunakan autograph. Analisa ini bertujuan untuk mengetahui kekuatan tekan dari komposit HA/Coll/Chi yang akan diaplikasikan sebagai implan tulang. Analisa kuat tekan sangat diperlukan karena salah satu indikator penting suatu material sesuai untuk digunakan sebagai implan tulang adalah dari segi kekuatan tekannya.

Tulang berfungsi sebagai penyokong dan pelindung organ-organ bagian dalam pada tubuh manusia sehingga ketika terjadi kerusakan seperti fraktur maka dibutuhkan suatu implan yang kuat dan tidak mudah patah lagi ketika mengalami tekanan karena harus menyokong bagian tubuh lainnya.

Kekuatan tekan pada tulang manusia bergantung pada bentuk tulang. Tulang dengan bentuk padat seperti tulang cortical memiliki kekuatan tekan dalam range 30-160 MPa sedangkan tulang dengan bentuk pori seperti tulang cancellous memiliki kekuatan tekan yang berada dalam range 2-12 MPa. Kekuatan tulang cancellous lebih rendah bila dibandingkan dengan tulang cortical karena tulang cancellous mengandung banyak pori. Semakin banyak pori maka kekuatan mekanik tulang akan semakin rendah.

Hasil uji kekuatan tekan dengan menggunakan autograph dari masing-masing komposit HA/Coll/Chitosan dengan variasi massa ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Tabel 5. Hasil uji kekuatan tekan dari komposit HA/Coll/Chi dengan variasi massa

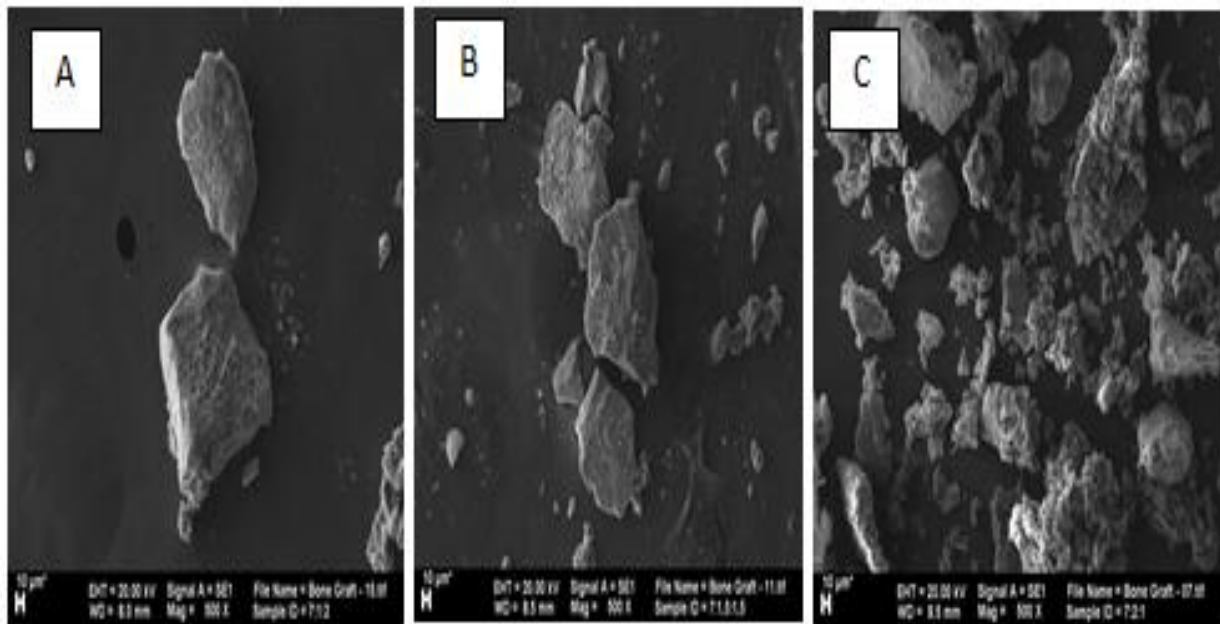
Sampel	Kekuatan tekan (MPa)
Komposit hidroksiapatit/kolagen/kitosan 7:2:1	144,9657
Komposit hidroksiapatit/kolagen/kitosan 7:1,5: 7: 1,5	164,1523
Komposit hidroksiapatit/kolagen/kitosan 7:1:2	164,5787

Berdasarkan Tabel 5 terlihat bahwa komposit HA/Coll/Chidengan komposisi massa 7:1:2 memiliki kekuatan tekan paling rendah yaitu sebesar 144,9657 MPa sedangkan komposit HA/Coll/Chidengan komposisi massa 7:2:1 Memiliki kekuatan tekan paling besar yaitu sebesar 164,5787 MPa. Kekerasan pada tulang manusia memiliki korelasi dengan kolagen yang merupakan suatu protein. Semakin banyak kolagen maka tulang akan semakin keras sehingga kekuatan tekannya juga akan meningkat. Pada penelitian ini, komposit HA/Coll/Chiyang telah disintesis telah memenuhi standard kuat tekan pada tulang cortical manusia sehingga ketika akan diaplikasikan menjadi implan maka komposit ini tidak akan mudah rusak atau patah ketika terkena tekanan dalam aktifitas sehari-hari.

Solechan (2015) melakukan penelitian tentang pembuatan scaffolds rekonstruksi mandibular dari material hidroksiapatit dan pati ketela dengan variasi 80% hidroksiapatit + 20% pati ketela dan 70% hidroksiapatit + 30% pati ketela dan hasilnya adalah variasi 80% hidroksiapatit + 20% pati ketela menghasilkan kekuatan tekan sebesar 52 MPa sedangkan variasi 70% hidroksiapatit + 30% pati ketela menghasilkan kekuatan tekan sebesar 65 MPa. Hasil penelitian [10] menunjukkan pengujian bending biomaterial hidroksiapatit dari tulang sapi sebagai prosthesis sendi rahang pada manusia dengan membuat komposit hidroksiapatit-resin unsaturated polyester dengan variasi fraksi volume 40%, 50%, 60% dan 70% hidroksiapatit dan diketahui bahwa nilai tegangan maksimum yang mampu diterima material hidroksiapatit sebesar 31,2523 MPa dan nilai tegangan bending optimal berada pada spesimen dengan presentase hidroksiapatit 50% fraksi volume. Upaya peningkatan kuat tekan komposit hidroksiapatit/kitosan sebagai kandidat aplikasi implan tulang kortikal dengan variasi kitosan 0%, 15%, 20%, 22,5% dan 25% dan tekanan kompaksi 452,94 MPa ; 566,17 MPa dan 679,41 MPa dan hasilnya adalah komposit hidroksiapatit/kitosan dengan variasi kitosan 20% dengan tekanan kompaksi sebesar 679,41 MPa menghasilkan kekuatan tekan optimum yaitu sebesar 10,5914±0,0363 MPa

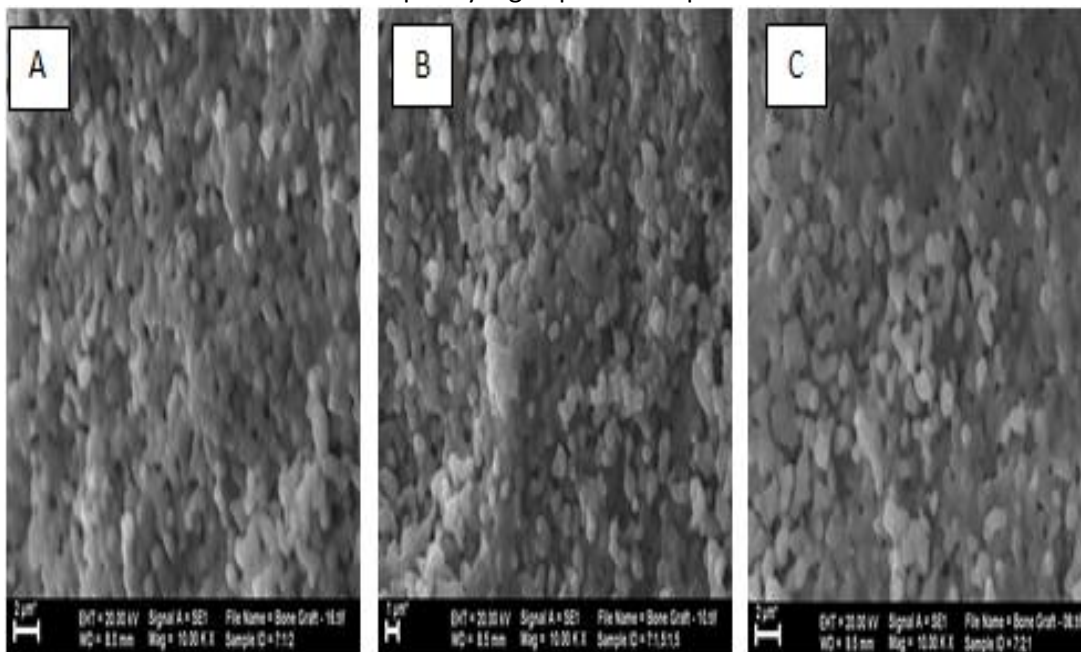
Analisis morfologi permukaan, luas permukaan dan pori

Analisa morfologi permukaan dilakukan untuk mengetahui morfologi dari komposit HA/Coll/Chidengan variasi massa. Analisa morfologi permukaan dilakukan dengan menggunakan Scanning Electron Microscopy dan hasilnya seperti yang ada pada Gambar 13.



Gambar 14. Morfologi permukaan komposit HA/Coll/Chi 7:2:1 (A); 7:1.5:1,5 (B) dan 7:1:2(C) dengan perbesaran 500x

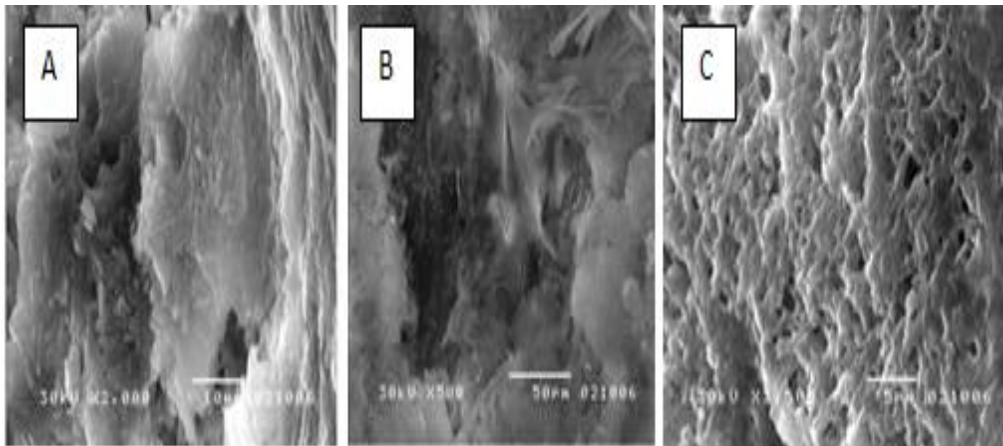
Dari Gambar 13 terlihat bahwa apabila komposit HA/Coll/Chidiperbesar 500x maka morfologi permukaan yang terbentuk berupa bongkahan, namun ketika Gambar 13 diperbesar lagi hingga 10.000x maka akan terlihat bahwa komposit HA/Coll/Chiyang dihasilkan memiliki morfologi permukaan berupa butiran-butiran halus dengan ukuran yang seragam dan terdapat pori-pori dipermukaannya [12]. Pori-pori yang dihasilkan berbentuk bulat dengan ukuran yang tidak sama serta tidak terdistribusi merata seperti yang dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 15. Morfologi permukaan komposit HA/Coll/Chi 7:2:1 (A); 7:1,5:1,5 (B) dan 7:1:2 (C) dengan perbesaran 10.000x

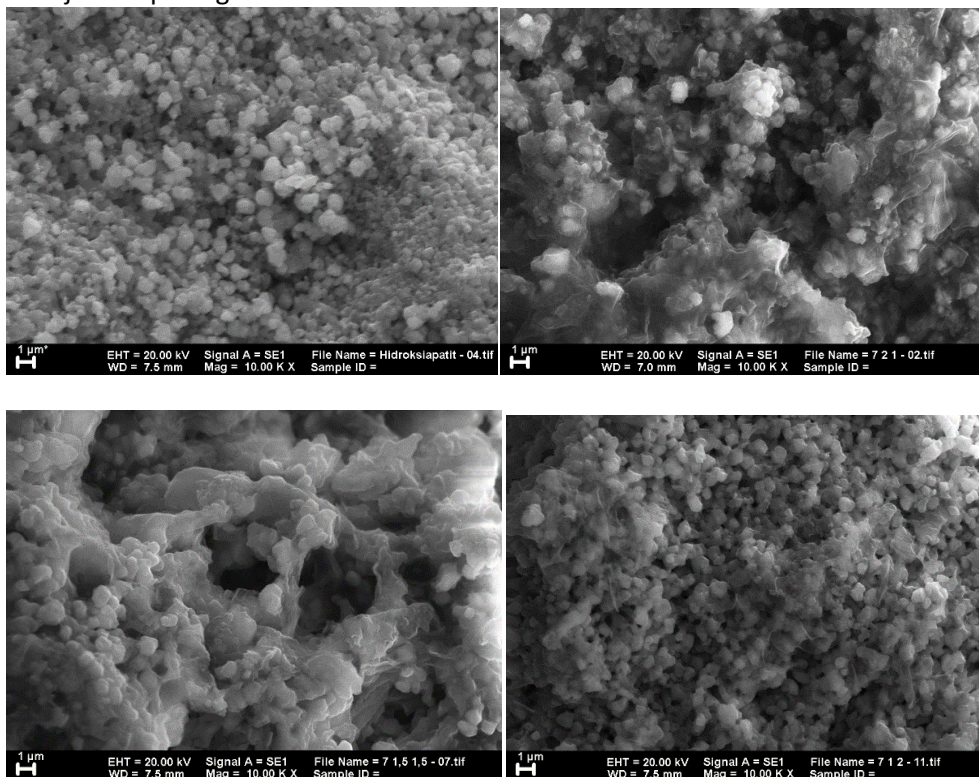
Morfologi permukaan dari material yang sesuai untuk digunakan sebagai implan berupa butiran

halus dengan ukuran yang seragam karena implan yang berupa butiran halus dengan ukuran seragam memiliki luas permukaan yang lebih besar sehingga ikatan yang kuat antara implan dengan jaringan tulang manusia bisa diperoleh. Morfologi permukaan dari tulang manusia dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Morfologi permukaan tulang paha laki-laki yang berumur satu tahun (A) tulang iga wanita berumur 25 tahun (B) dan tulang iga laki-laki yang berumur 31 tahun [14]

Hasil analisis morfologi permukaan untuk bone graft dengan berbagai variasi komposisi juga ditunjukkan pada gambar 16 berikut:



Gambar 16 morfologi permukaan tulang sapi (A), bone graft 7:2:1 (B), bone graft 7:1.5:1.5 (C), bone graft 7:1:2 (D), 10.000x

.....

.....

.....

.....

.....

D. STATUS LUARAN: Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta mengunggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Simlitabmas.

Luaran wajib berupa artikel pada jurnal internasional terindex Scopus "Journal of Metals, Materials and Minerals" dengan status review (sudah 3 kali revisi), luaran tambahan artikel dengan judul "Sintesis Dan Karakterisasi Hidroksiapatit Dengan Teknik Pengendapan Basah Sebagai Kandidat Implant Tulang" sudah dipresentasikan pada seminar nasional kimia di Universitas Negeri Malang, tanggal 6 Nopember 2019

.....

.....

.....

.....

.....

E. PERAN MITRA: Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (untuk Penelitian Terapan, Penelitian Pengembangan, PTUPT, PPUPT serta KRUPPT). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas.

.....

.....

.....

.....

.....

F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

Kendala yang dialami adalah beberapa analisis harus dilakukan di luar Unesa dan mengantri, walaupun demikian sudah bisa diatasi.....

.....

.....

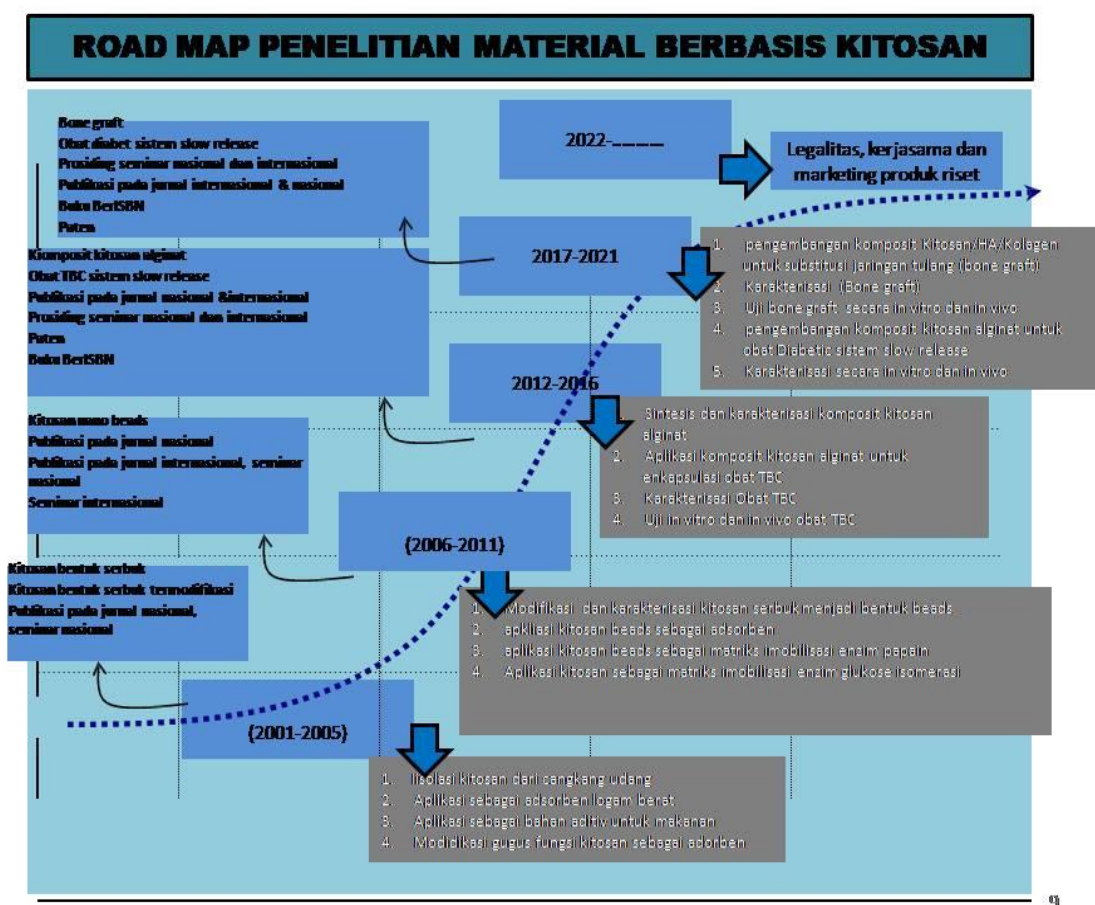
.....

.....

.....

G. RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA: Tuliskan dan uraikan rencana penelitian di tahun berikutnya berdasarkan indikator luaran yang telah dicapai, rencana realisasi luaran wajib yang dijanjikan dan tambahan (jika ada) di tahun berikutnya serta *roadmap* penelitian keseluruhan. Pada bagian ini diperbolehkan untuk melengkapi penjelasan dari setiap tahapan dalam metoda yang akan direncanakan termasuk jadwal berkaitan dengan strategi untuk mencapai luaran seperti yang telah dijanjikan dalam proposal. Jika diperlukan, penjelasan dapat juga dilengkapi dengan gambar, tabel, diagram, serta pustaka yang relevan. Jika laporan kemajuan merupakan laporan pelaksanaan tahun terakhir, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai.

Penelitian ini merupakan bagian dari rangkaian penelitian untuk eksplorasi dan melakukan inovasi pada kitosan. Penelitian kitosan sudah dilakukan oleh peneliti pada 2001 dengan *roadmap* sebagai berikut:



Roadmap pengembangan material berbasis kitosan

Pada tahun pertama sudah didapatkan data pengaruh suhu kalsinasi pada sintesis hidroksiapatit dan data pengaruh variasi komposisi terhadap sintesis komposit. Komposit bone graft yang dihasilkan sudah dilakukan karakterisasi dengan berbagai instrumen yaitu dekomposisi termal tulang dengan TGA, gugus fungsional dengan FTIR, kristalinitas dan fasa kristal dengan XRD, ukuran kristal dengan PSA, morfologi permukaan dengan SEM, kuat tekan.

.....Ta
 hap penelitian tahun pertama sudah tercapai dan akan dilanjutkan dengan tahap kedua pada tahun kedua yaitu pada tahun kedua, untuk mendukung data tahun pertama maka bone graft yang

dihasilkan dikarakterisasi TGA bone graft, uji fotostabilitas, uji ketahanan asam dan uji swelling. Publikasi pada jurnal internasional dan paten Pada Tahun ketiga: uji laju biodegradasi, uji kestabilan asam, uji in vitro, in vivo dan uji sitotoksitas. Secara keseluruhan penelitian ini mempunyai nilai TKT sesuai dengan standar penelitian dasar yaitu 3. Pada akhir penelitian ini selain dihasilkan bone graft yang mempunyai karakteristik sesuai untuk substitusi jaringan tulang juga menghasilkan publikasi pada jurnal internasional, karakterisasi biomaterial bone graft dan paten. Diagram alir pelaksanaan penelitian selama tiga tahun adalah sebagai berikut:

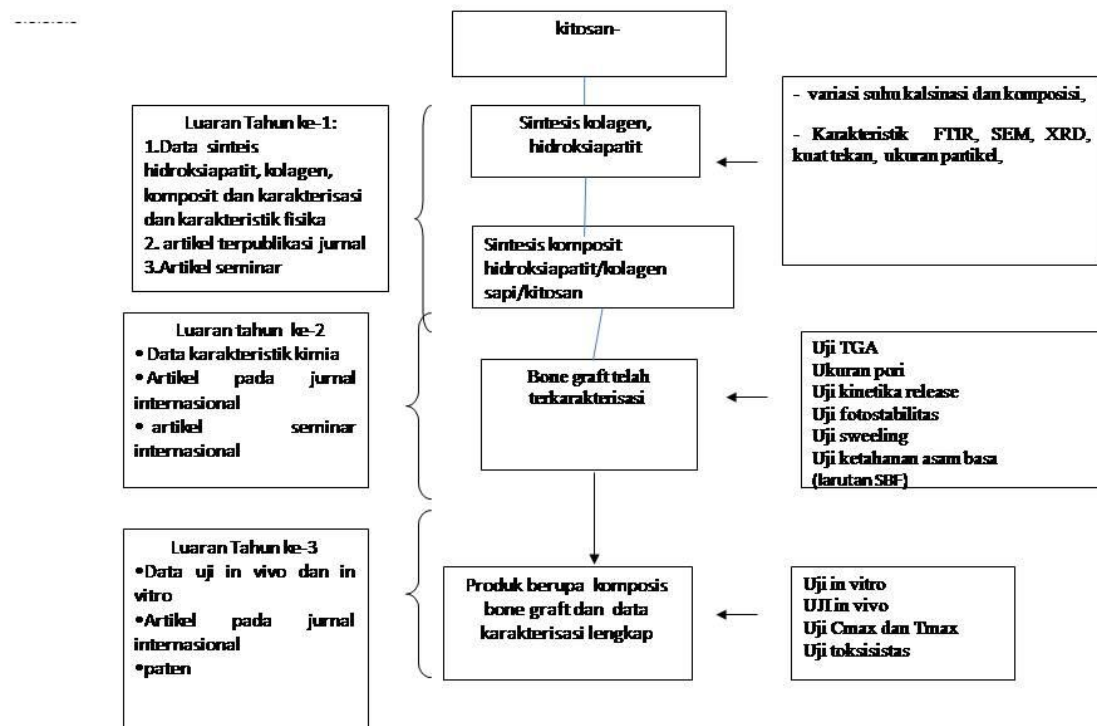


Diagram alir penelitian selama 3 tahun

Alat dan Bahan

Kitosan diisolasi dari cangkang udang windu dengan metode Hong(1989). Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini cangkang udang windu, HCl, buffer pH 2-7, NaOH, akuades bebas mineral, Na₂HPO₄, CH₃COOH, NH₄OH, H₃PO₄, kitosan standar, kolagen standar, Hidroksiapatit standar, buffer 7-8, cangkang bebek/itik, tulang sapi, air demineral

Prosedur penelitian

Sintesis hidroksiapatit dari tulang sapi

Tulang sapi dipotong-potong kemudian dicuci hingga bersih sambil dihilangkan lemak dan sum-sum yang menempel pada tulang sapi dengan cara direbus selama 6 jam

Tulang sapi direndam dengan H₂O₂ 10% selama 5 jam untuk menghilangkan sisa lemak yang menempel

Tulang sapi kemudian dibilas dengan aquademin dan dijemur dibawah sinar matahari dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga kering. Tulang sapi yang sudah kering kemudian dilakukan proses kalsinasi.

Kalsinasi tulang sapi. Tulang sapi ditimbang sebelum dikalsinasi, kemudian dikalsinasi dengan suhu 900oC selama 6 jam untuk menghasilkan hidroksiapatit. Kemudian tulang sapi ditimbang kembali untuk mengetahui rendemen yang dihasilkan.

Sintesis Kolagen dari tulang sapi

Sintesis kolagen dari tulang sapi dilakukan dengan cara merendam 70 gram tulang dalam 5% HCl selama 24 jam pada suhu 4°C. Perendaman dilakukan dengan perbandingan b:v 1:20. Setelah masa perendaman, filtrat hasil perendaman ditambahkan 1N NaOH sampai pH netral. Filtrat didiamkan sampai terbentuk gumpalan putih. Gumpalan yang terbentuk dipisahkan dengan cara disaring menggunakan kertas saring. Kolagen basah yang terbentuk dikeringkan dengan metode freeze drying. Kolagen yang terbentuk dikarakterisasi dengan FTIR, XRD, dan BET dibandingkan dengan kolagen standar dan juga ditentukan rendemennya..

Sintesis bone graft Hidroksiapatit-kolagen-kitosan

Sebanyak 0,5 gram kolagen dilarutkan kedalam asam asetat 2% (w/v). Kolagen ditambahkan secara tetes demi tetes kedalam larutan campuran kitosan-hidroksiapatit. Kemudian larutan diaduk menggunakan magnetic stirrer hingga larutan menjadi homogen. Kemudian, larutan tersebut diletakkan kedalam cawan petri, lalu dibekukan dan diliofilisasi menggunakan freeze-dry pada suhu yang bervariasi. Sintesis komposit tersebut di ulang kembali untuk variasi massa 7:1,5:1,5 ; 7:2:1; 7:1:2;

Karakterisasi hidroksiapatit dan bone graft

Morfologi permukaan Analisis ini menggunakan SEM (Scanning Electron Microscopy) dengan perbesaran 10.000x, dan 17.500x; analisis ukuran pori, surface area, volume pori dengan GSA, analisis kuat tekan dan tarik mulurnya, uji TEM

Metodologi penelitian Tahun kedua

Karakterisasi kimia:

Gugus fungsional. Dengan FTIR

Uji modulus young

Uji TGA

Uji swelling

Dengan menggunakan larutan fisiologis tubuh

Uji stabilitas keasaman

Uji fotostabilitas

Metodologi penelitian tahun ketiga:

Bone graft yang dihasilkan pada tahun pertama dikarakterisasi fisika maupun kimia y

Uji laju biodegradasi

Uji laju pertukaran kalsium

Uji sitotoksitas

Uji in Vivo

Uji In Vitro dengan larutan SBF (Simulated Body Fluid)

Tahun ke-2

No	Nama Kegiatan	Bulan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	Persiapan alat dan bahan	x											
2	Sintesis bone graft		X										
3	Karakterisasi dengan XRD dan FTIR			x									
4	Karakterisasi dengan TGA				x								
5	Uji fotostabilitas					x							
6	Uji swelling						x						
7	Analisis data					x	x	x	x	x			
8	Penyusunan artikel								x				
9	Penyusunan laporan kemajuan							x	x				
10	Penyusunan draft paten									x			
11	Penyusunan laporan akhir tahun										x	x	
12	Penyerahan luaran dan proposal lanjutan												x

Tahun ke-3

No	Nama Kegiatan	Bulan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Persiapan alat dan bahan	x											
2	Sintesis bone graft		X										
3.	Uji laju biodegradasi bone graft			x									
4	Uji stabilitas keasaman				x								
5	Uji sitotoksitas					x							

No	Nama Kegiatan	Bulan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
6	Uji in vitro						x						
7	Uji in vivo							x					
8	Analisis data				x	x	x	x	x				
9	Penyusunan laporan kemajuan							x	x				
10	Penyusunan artikel								x	x			
11	Penyusunan paten									x	x		
12	Penyusunan laporan akhir										x	x	
13	Penyerahan luaran dan seminar hasil												x

.....
 ...

H. DAFTAR PUSTAKA: Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan kemajuan yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

1. Attaf, Brahim .2011..Advances in Composite Materials for Medicine and Nanotechnology. Tech Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia.
2. Cahyaningrum, SE, Nuniek Herdyastuti¹, Dicky Supangat¹, Bella Devina and Meita Kurniasari. 2018. "Fabrication Of Nanohydroxyapatite/ Scrawl Collagen/Chitosan Composite For Bone Graft. Candidate". Rasayan Journal of Chemistry.11.2. 488-493
3. Cahyaningrum, SE, N uniek Herdyastuty, Bella Devina and Dicky. Supangat .2017. "Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Powder by Wet Precipitation Method". IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 299
4. Istifarah, Aminatun and prihantini W, 2013." Sintesis dan Karakterisasi Komposit 82 Hidroksiapatit dari Tulang Sotong (Sepia sp.)- Kitosan untuk Kandidat Aplikasi Bone Filler" Jurnal fisika dan terapannya, vol 1, no 2,82-97
5. Cheng, Xianmiao., Li Y., Zuo Y., Zhang L., Li J.,and Wang H. 2009. "Properties and Invitro Biological Evaluation of Nano-Hydroxyapatite/Chitosan Membranes for Bone Guided Regeneration".Journal of Material Sciene and Engineering, 29 (1): 29-35
6. Padmanabhan, Sanos K., Fransesca G., Alessandro S., andAntonio L. 2014. "Preparation and Characterization of Collagen/Hydroxyapatite Microsphere Composite Scaffold For Bone Regeneration". Key Enggineering Material, 587: 239-244.
7. Ma, L and Gao. 2008. "Fabrication and Properties of mineralized collagenchitosan/ hydroxyapatite Scaffolds". Plymer Advance Techology.1590-1596
8. Cahyaningrum, Herdyastuti, N, Firdausa, A and Dini Lisa 2015 "Chitosan-Calcium Alginat-Tween 80 Nanoparticles As Anti Tuberculosis Drug Carrier: Synthesis, Characterization And Studi Pharmacokinetics". Contemporary Enginnering and Science, Vol 15. No.34,
9. Pallela, Ramjee., Jayachandran V., Venkateswara R., andSe-Kwon K.2011. "Biophysicochemical Evaluation of Chitosan-Hydroxyapatite-Marine Sponge Collagen Composite for Bone Tissue Engineering." Journal of Biomedical Materials Research, 100(2): 486-495.
10. Peter M, Binulal NS, Soumya S, Nair SV, Furuike T, Tamura H, et al. 2010 "Nanocomposite scaffolds of bioactive glass ceramic nanoparticles disseminated chitosan matrix for tissue engineering applications". Carbohyd Poly ;79:284–9.
11. Wassanai Wattanutchariya and Whattanapong Changkowchai 2014 "Characterization of Porous

Scaffold from Chitosan-Gelatin/Hydroxyapatite for Bone Grafting Proceedings of the International MultiConference of Engineers and Computer Scientists” Vol II, IMECS 2014, March 12 - 14, 2014, Hong Kong

12. Johnson JW, Herschler A. 2011.” A review of the mechanical behavior of CaP and CaP/ polymer composites for applications in bone replacement and repair”. Acta Biomater ;7:16–30.
13. Ragetly G, Griffon DJ, Chung YS. 2010 “The effect of type II collagen coating of chitosan fibrous scaffolds on mesenchymal stem cell adhesion and chondrogenesis”. Acta Biomater ;6:3988–97.
14. Ihsani, Shofia L. dan Catur, Rini W. 2014. “Sintesis Biokoagulan Berbasis Kitosan dari Kulit Udang untuk Pengolahan Air Sungai yang Tercemar Limbah Industri Jamu dengan Kandungan Padatan Tersuspensi Tinggi”. Jurnal Bahan Alam Terbaharukan, 3 (2): 33-

1.
2.
3. dst.

Dokumen pendukung luaran Wajib #1

Luaran dijanjikan: Artikel di Jurnal Internasional Terindeks di Pengindeks Bereputasi

Target: Accepted

Dicapai: Sedang direview

Dokumen wajib diunggah:

1. Naskah artikel
2. Bukti sedang direview

Dokumen sudah diunggah:

1. Naskah artikel
2. Bukti sedang direview

Dokumen belum diunggah:

-

Manuscript Template (A4 size)

Synthesis Hydroxyapatite/ Collagen/Chitosan Composite As Bone Graft for Bone Fracture Repair

SARI EDI CAHYANINGRUM^{1*}, MOHAMMAD ILHAM FADILA RAMADHAN¹,
ZETI LINDAWATI¹ and NUNIEK.HERDYASTUTI¹

* Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Universitas Negeri Surabaya

Jl. Ketintang Surabaya Indonesia (60231)

*Corresponding author, email: saricahyaningrum@unesa.ac.id

MOHAMMAD ILHAM FADILA RAMADHAN

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences

Universitas Negeri Surabaya

Jl. Ketintang Surabaya Indonesia (60231)

ZETI LINDAWATI

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences

Universitas Negeri Surabaya

Jl. Ketintang Surabaya Indonesia (60231)

NUNIEK.HERDYASTUTI

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences

Universitas Negeri Surabaya

Jl. Ketintang Surabaya Indonesia (60231)

Abstract

Composite hydroxyapatite-collagen-chitosan as bone graft materials for bone fracture has been synthesized using ex-situ method. Combining the advantages of hydroxyapatite with chitosan and collagen as composites bone material that show good biocompatibility and can bond with surrounding host tissues inherent from hydroxyapatite. In this research hydroxyapatite was synthesized from Ox bone with calcinations method. The main of this research is to determine the chemical and physics characteristics from the bone graft. The analysis data from Spectra IR indicates vibration of OH^- , PO_4^{3-} and CO_3^{2-} from hydroxyapatite, also $-\text{NH}_2$, $\text{C}=\text{O}$ and $\text{C}-\text{H}$ from collagen and chitosan along with the peak wave number shifting. Data from XRD instruments showed that at three composite beside phase hydroxyapatite there are apatite carbonate type A (AKA). The result from SEM characterization was indicated surface morphology formed mineral apatite layer with rough crystal.

Keywords: hydroxyapatite-collagen-chitosan; bone graft; bone fracture;

1. Introduction

Bone represents material alliance of organic-inorganic with complex structure. Role of important bone so, if there is damage in human being bone, hence can bother life of itself human being. Damage of human being bone can be caused by for example accident in working, handicap born and age factor. Bone graft was represented implant which is transplantation from one place of the other place. Bone graft divided to become three shares namely auto graft, allograft, and xenograft. Auto graft is most healing is often used. Auto graft represents implant coming from donor alone. But the limited amount of bone mass, and also structure handicap become lacking of from auto graft [1]. Allograft is alternative of auto graft that is implant coming from someone to others. But usage of allograft limited by because problem of disease and immunology able to arise like hepatitis [2]. Xenograft is implant coming from animal. Xenograft seldom is used by because problem of immunity especially from animal able to cause rabies as well as risk hit by cancer of bone [3].

To handle the insufficiency require to use materials having the character of biocompatible, osteoconductive and do not have the character of biostable [1,3]. The materials consist of collagen hydroxyapatite and of chitosan. Hydroxyapatite was used because has some characteristic non toxic, biocompatible and also have equality of mineral phase with inorganic composition of dental bone [4]. One of the materials able to be used in hydroxyapatite synthesis come from ox bone, because ox bone have inorganic composition content hydroxyapatite equal to 93% [5]. To obtain; get hydroxyapatite can be done with a few method like wet precipitation and method of sol-gel. Both of the method have weakness with many using chemicals in its. At this research, hydroxyapatite obtained by calcination of ox bone. Result of research of Cahyaningrum (2018) hydroxyapatite there have when process of calcinations have been done hidroksiapatite have weakness that is less osteoconductive [2].

If only just hydroxyapatite which is implanted at human bone, bone will not grow perfection because still lacking of nature of osteoconductive. If seen from its composition, human bone consist of inorganically (70 %), organic (20%) and cell the rest of osteoblast, osteocyte and water [6,7]. Therefore, require to be enhanced by polymer able to improve the

nature of osteoconductive of hydroxyapatite. The organic compounds of bone are collagen and chitosan. Collagen represents bone protein which many there are in bone. Equal to 90% organic mass in human bone represent collagen [8]. Collagen the used is type collagen. Collagen can form and arrest; detain bone at strain, improving the nature of osteoblast, measuring up to good biocompatibility, and easy permeated by body [9].

Human being can yield collagen at it, but along accretion of age of is amount of yielded collagen progressively a little. Therefore, collagen can be exploited for the handling of interconnected patient of network engineering for the implants of bone at human being. Chitosan is polysaccharide having the character of nontoxic, can experience of biodegradable, and measure up to biocompatible [10]. Chitosan can produce with deacetylation of chitin. Chitosan have structure which is equal to glucosaminoglycan which there are in body of human [11]. The compound of glucosamine the can improve repair bone by stimulating cartilage cell to form proteoglycan [12, 13]. Chitosan can improve the nature of osteoconductive, biocompatibility and biodegradability, yielding composite holding up to pressure and quicken forming of bone mineral by forming pore from is composite of it [13,14]. In this research will produce bone graft with hydroxyapatite-collagen-chitosan as material for substitution of bone. At hydroxyapatite-collagen-chitosan synthesis was used ex situ method.

2. Experimental

2.1 Material and Methods:

The FTIR from Perkin Elmer Spectrum RXI was used for analysis of the functional group. The surface morphological was analysis with SEM (Zeiss. EVO MA 10, Germany). The Universal Testing Machine (UTM) was used for the strengthness of hydroxyapatite and bone graft. Some chemical materials with quality pro analysis was purchase from Merck. Collagen from PT Nitta Gellatin Jepang and chitosan was purchase from PT Indo Chittin, Indonesia.

2.2. Procedure

2.2.1 Synthesis of Bone Graft from hydroxyapatite- collagen- chitosan

Amount 1.75 gram of hydroxyapatite that synthesis from ox bone is dissolved in 10 mL H_3PO_4 2% (v/v). Condensation solution was mixed by using stirrer magnetic until homogeneous. Amount 0.50 gram collagen was dissolved in 10 mL CH_3COOH 2% (v/v). After that, amount 0.25 gram of chitosan was dissolved in 10 mL CH_3COOH 2% (v/v) by using stirrer magnetic until homogeneous. Hydroxyapatite which have is dissolved later then was added into chitosan with dropped in the solution. After that, the solution is added with collagen into mixture of hydroxyapatite-chitosan with dropped and shake of drip is at the same time swirled to use stirrer magnetic. After that, the bone graft was neutralizing with NaOH 1M for produce the solution has pH 7. The bone graft that produce was dried use Freeze-Dry.

3. Results and discussion

The composite hydroxyapatite-collagen-chitosan was synthesis by using ex-situ method. Hydroxyapatite-collagen-chitosan was synthesis by dissolving hydroxyapatite, collagen and chitosan. In this research, hydroxyapatite dissolved in phosphoric acid 2% (v/v), collagen and chitosan are dissolved in acetate acid 2% (v/v). The acetate acid solution should be most solution suited for dissolving of collagen and chitosan [15,16]. The phosphoric acid

was added in hydroxyapatite because hydroxyapatite easily dissolve in the condensation of phosphate ion, representing strong acid, and has pH under 4 [17]. At hydroxyapatite (HA) *bank jaringan* (Figure 3E) dominated with phase HA with 2θ is 31.80° . The HA from ox bone (Figure 3D) dominated by phase HA with 2θ at 31.8 and also the existence of carbonate with 2θ is 32.27° . The phase of HA and the apatite carbonate type A (AKA) also attend at composite of hydroxyapatite (HA)-collagen-chitosan. At composite 7:2:1 (Figure 3C) AKA phase was attend at 2θ is 31.75° . Besides there are phase of HA at $2\theta = 32.89^\circ$. At composite 7:1.5:1.5 (Figure 7B) phase HA attend at 2θ is 31.86° . Besides there are AKA phase 2θ is 32.32° . At the composite 7:1:2 (Figure 3A) phases HA was attended at 2θ is 31.80 . Besides, there are AKA phase at 2θ is 32.2° . Besides that, hydroxyapatite will be more stabilize in the condition. At pH base, condensation of hydroxyapatite will progressively lower and cause the happening of saturated hydroxyapatite and also forming of amorphous calcium phosphate (ACP). Value of amorphous very low so that have characteristic of bone graft was brittle, incompatible so that it can application for implant at human being bone. Figure 2 showing result of XRD from is bone graft by using Na_2HPO_4 at solution of hydroxyapatite. The degree of yielded is crystallinity 66%. The mentioned showed that the hydroxyapatite has changed phase become ACP. The interaction Ca^{2+} ion from hydroxyapatite with $-\text{NH}_2$ from chitosan form coordination bond. After that, collagen was added into is composite. Interaction that happened is coordinated bond between functional group of Ca^{2+} with $-\text{NH}$ from the collagen. Comparison of composition at bone graft can give influence at function group, crystallinity and surface morphology at bone graft.

The analysis of functional group showed at Figure 2 for hydroxyapatite, collagen, chitosan and bone graft. Hydroxyapatite have characteristic is have functional group of PO_4^{3-} and $-\text{OH}$. The collagen and chitosan have the functional group are C-H , C=O , $-\text{NH}_2$ and $-\text{OH}$. Hydroxyapatite *bank jaringan* (Figure 2A) has functional group $-\text{OH}$ at 3435.83 cm^{-1} and PO_4^{3-} at 571.18 cm^{-1} and 1050.33 cm^{-1} . If comparison with hydroxyapatite ox bone (Figure 2 B) the functional group OH there are at 3570.76 cm^{-1} and PO_4^{3-} there are 571.55 cm^{-1} and 1048.04 cm^{-1} . There is difference with existence of carbonate bunch. The carbonate functional group from CO_2 at the process of calcinations is done. The spectra FTIR from bone graft (Figure 2 D) there are the functional group $-\text{OH}$, $-\text{NH}$, PO_4^{3-} , CO_3^{2-} and C=O . Vibration at 3291 cm^{-1} represent functional group $-\text{NH}$ from chitosan and 3391.39 cm^{-1} represent functional group $-\text{OH}$ from collagen. The interaction between hydroxyapatite with amide I of collagen there are at 1665.22 cm^{-1} .

The vitro test in this research is by using SBF solution. The analysis bone graft in the SBF solution is until 21 days (Table 1). It was yield calcium which relative stabilize. Diffractogram in Figure 3 showed for bone graft. At the bone graft 7:2:1 (Figure 3 A) Apatite Carbonate type A (AKA) phase attend 2θ is 31.75° . Besides there are phase in the form of HA at 2θ is 32.89° . At bone graft 7:1.5:1.5 (Figure 3 B) phase hydroxyapatite attend at 2θ is 31.86° . Besides there are AKA phase 2θ is 32.32° . At bone graft 7:1:2 (Figure 3C) phase hydroxyapatite attend at 2θ is 31.80° . Besides, there are AKA at 2θ is 32.20° .

Pursuant to Tables 2 obtained result from strengthness test with instrument of autograph. Result of strengthness which is yielded not yet as according to standard of human bone. Bone human have strong standard value depress equal to 2-12 Mpa [15]. The Standard lay in prop bone, organic composition is from the collagen and chitosan that give influence at strength depress from bone graft [2]. Although the value not yet fulfilled standard of prop bone, the composite can be used by at part of other bone like nose bone, shoulder, tooth and is other. Figure 4 representing analysis of morphology surface analysis with magnification 10.000x from the hydroxyapatite and bone graft. Figure 4A representing that hydroxyapatite owning structure in form granule of the size which it different each other and also have short distance. At (Figure 4 B, C, D) showing result of from composite with magnification

Manuscript Template (A4 size)

10.000x. At Figure (4 B and C) the surface of morphology in the form of apatite mineral coat with crystal which harsh enough at pore wall. At (Figure 4 D) still seen in form of granule with there are less disseminating fibers. The mentioned because of not yet formed of apatite coat perfectly. Composite which yielded can in form of granule in the form of smooth item and have small pore size measure so that tying between bone graft with human being bone also earn happened.

Conclusions

Graft Bone which is synthesized from composite of collagen hidroxyapatite of chitosan composite have functional group OH^- , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} from hidroxyapatite and also functional group - NH_2 , $\text{C}=\text{O}$ coming from chitosan and collagen. The functional group which emerge to address that have happened tying between hidroxyapatite, collagen and chitosan composite Third experience of process of osteoconductive at process of invitro, marked by fluctuating calcium rate it at condensation of SBF. The third of composite has phase of hidroxyapaptite and carbonate apatite.

4. Acknowledgements

The authors are thanks to the DRPM RISTEKDIKTI for support this research with Hibah Penelitian Dasar Kompetitif Nasional 2019.

References

- [1]. M. Kheirallah, and H.Almeshaly, "Bone Graft Substitutes for Bone Defect Regeneration ,” A Collective Review. *International Journal of Dentistry and Oral Science (IJDOS)*, vol. 03, no. 5, pp. 247-257, 2016 DOI: <http://dx.doi.org/10.19070/2377-8075-1600051>
- [2] J.Venkatesan, J. and SK. Kim, "Chitosan Composite for Bone Tissue Engineering.” *Marine Drugs*, vol. 8, pp. 2252-2266, 2010 DOI: [10.3390/md8082252](https://doi.org/10.3390/md8082252)
- [3] F.J, Rossello, R.W. Tothil, K. Britt, K.D Marini, et.al, "Next-Generation Sequence Analysis of Cancer Xenograft Models,” *PLOS ONE*, vol. 8, no.9, pp. e74432, 2013 DOI:[10.1371/journal.pone.0074432](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074432)
- [4] S. E. Cahyaningrum, N. Herdyastuti, D. Supangat, B. Devina And M. Kurniasari Fabrication Of Nanohydroxyapatite/ Scrawl Collagen/Chitosan Composite For Bone Graft Candidate,” *Rasayan Journal of Chemistry*, vol. 11, no. 2, pp. 488-493. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.31788/RJC.2018.1121916>
- [5] E.A. Kusrini, S.Pudjiastuti, and Astutiningsih,”Preparation of Hydorxyapatite from Bovine bone by Combination Methods of Ultrasonic and Spray Drying”, *Bio-Chemical and Environmental Sciences*, pp. 47-51, 2012
- [6]. T.Yochum, and J.R Lindsay, *Essentials of Skeletal Radiology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
- [7] R.Pallela, K. Se-Kwon, V. Jayachandran, and R.J. Vanketeswara, "Biophysochemical Evaluation of Chitosan-Hydroxyapatite-Marine Sponge Collagen Composite for Bone Tissue Engineering,” *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol.100A, pp.486–495, 2011 DOI: [10.1002/jbm.a.33292](https://doi.org/10.1002/jbm.a.33292).

- [8] K.Gelse, E. Poschl, and T.Aigner, "Collagens-Structure, Function, and Biosynthesis," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol 55, no. 12, pp. 1531-1546, 2003
- [9] D. Wahl, and Czemuszk, "Collagen-Hydroxyapatite Composite for Hard Tissue Repair," *Cells and Materials*, vol. 11, pp. 43-56, 2006.
- [10] K.S. Koh, J. W Choi, E. J Park, and T. S. Oh, "Bone Regeneration using Silk Hydroxyapatite Hybrid Composite in a Rat Alveolar Defect Model," *International Journal of Medical Sciences*, vol.15, pp. 59-68, 2018 DOI: [10.7150/ijms.21787](https://doi.org/10.7150/ijms.21787)
- [11] R.Jayakumar, N. New, S.Tokura, and H. Tamura, "Sulfated Chitin and Chitosan as Novel Biomaterials.," *International Journal of Biological Macromolecule*, vol. 40, no. 3, pp.175-181, 2007. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2006.06.021](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2006.06.021)
- [12] K.S. Griffin, K.M. Davis, T.O. Mckinley, J.O. Anglen, T.M.G. Chu, J.D. Boerckel, M.A. Kacena, "Evolution of Bone Grafting: Bone Grafts And Tissue Engineering Strategies For Vascularized Bone Regeneration.," *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism*, vol. 13. pp. 232-244, 2015 DOI:[10.1007/s12018-015-9194-9](https://doi.org/10.1007/s12018-015-9194-9)
- [13] S. Bhumiratana, J.C. Bernhard, D.M. Alfi, K. Yeager, R.E. Eton, J. Bova, J.M. Gimble, M.J. Lopez, S.B. Eisig, and G. Vunjak-Novakovic, "Tissue-Engineered Autologous Grafts For Facial Bone Reconstruction," *Science Translational Medicine*, vol.8, pp. 343-383, 2016
- [14] Wenhao Wang and Kelvin W.K. Yeung, "Bone Grafts And Biomaterials Substitutes For Bone Defect Repair: A Review," *Bioactive Materials*. vol.2, pp. 224- 247, 2017. DOI: [10.1016/j.bioactmat.2017.05.007](https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.05.007)
- [15] A. Gupta, N. Kukkar, K. Sharif, B. J. Main, C. E . Albers, S. F. El-Amin III," Hydroxyapatite Crystals As A Bone Graft Substitute In Benign Lytic Lesions of Bone," *World Journal of Orthopedics*, vol. 6, no.6, pp. 449-456, 2015. DOI: [10.5312/wjo.v6.i6.449](https://doi.org/10.5312/wjo.v6.i6.449)
- [16] O.Yildirim, "Preparation and Characterization of Chitosan/ Calcium Phosphate Based Composite," *Biomaterials*. Izmir: Izmir Institute of Technology .2004
- [17] Wang, L., and Nancollas, GH, "Calcium Orthophosphates: Crystallization and Dissolution," *NIH Public Access*, vol.108, no.11, pp.4628-4669, 2008. DOI: [10.1021/cr0782574](https://doi.org/10.1021/cr0782574)
- [18] K. R. Mohamed, H. H. Beherei, M. Zenab, and E. R Mohamed, " In Vitro Study Of Nano-Hydroxyapatite/ Chitosan-Gelatin Composites For Bio-Applications," *Journal of Advanced Research*, vol.5, no. 2, pp. 201-208, 2013 DOI: [10.1016/j.jare.2013.02.004](https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.02.004)
- [19] Z. Babaei, M Jahanshahi, S.M Sabei, "Modulation Of Nanohydroxyapatite Size Via Formation on Chitosan–Gelatin Network Film In Situ," *Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications*, vol.33, no.1, pp. 370-5, 2013. DOI: [10.1016/j.msec.2012.08.053](https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.08.053).

Figure 1 Mechanism hipothetics of rection chitosan-collagen-hydroxyapatite

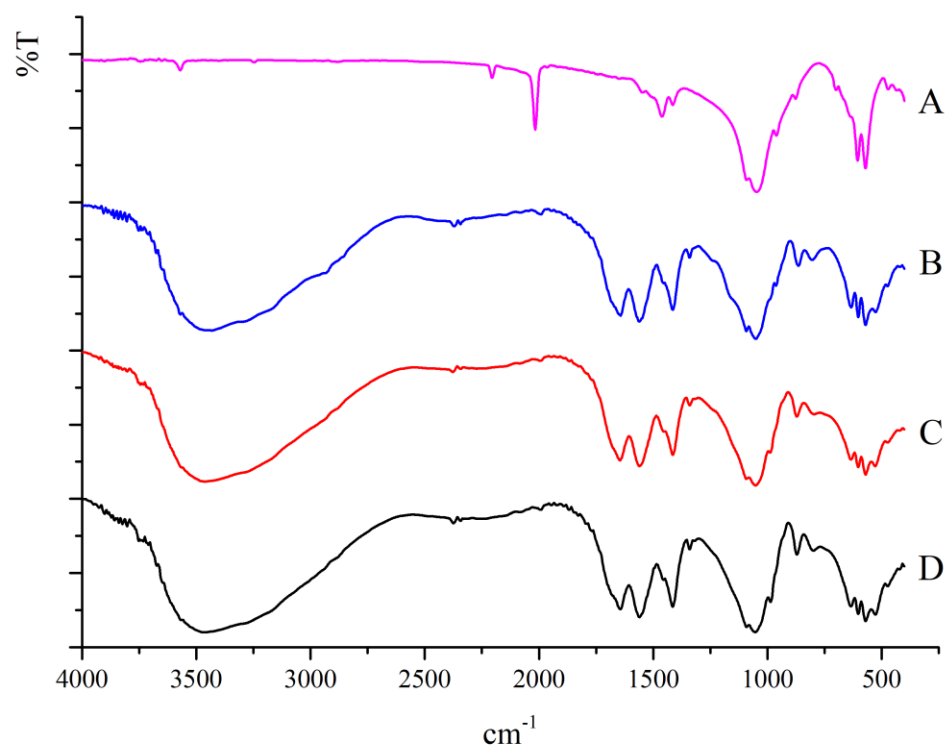


Figure 2 (a) Spectra IR HAp,(b) Chitosan, (c) Collagen,(d) Bone graft

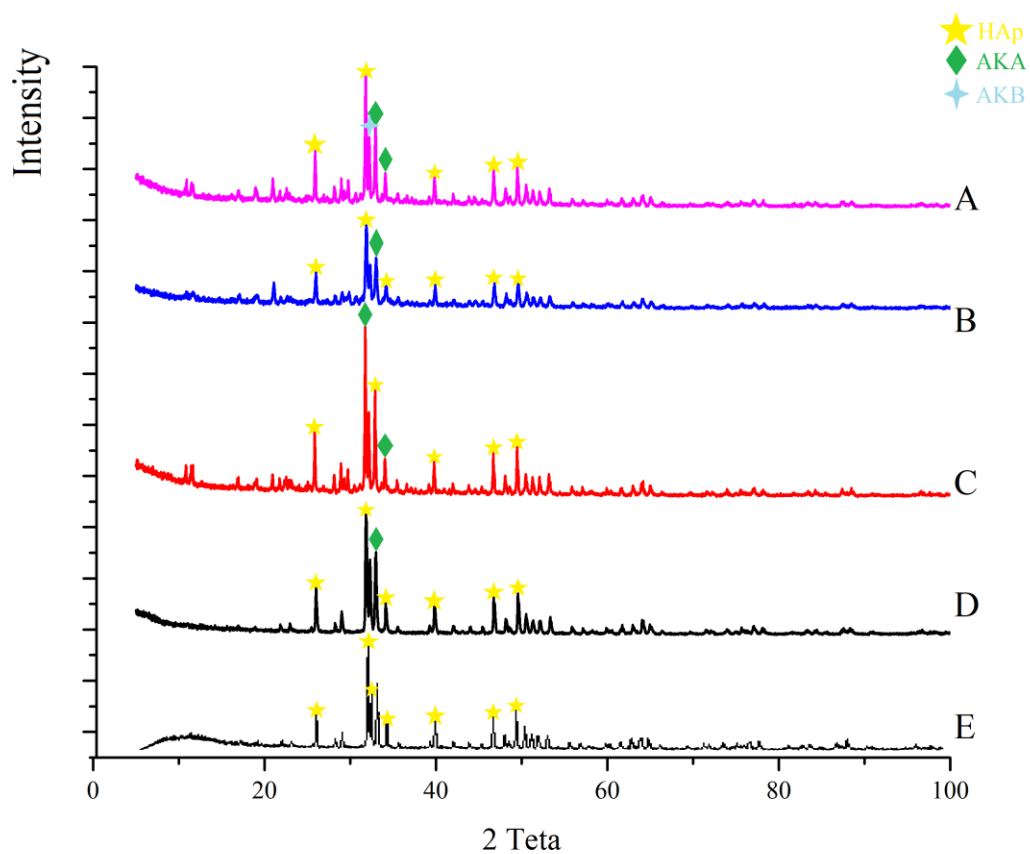


Figure 3 Diffractogram of bone graft 7:1:2 (A); bone graft 7:1.5:1.5 (B); bone graft 7:2:1 (C) ; hydroxyapatite Ox bone (D) and hydroxyapatite bank jaringan (E)

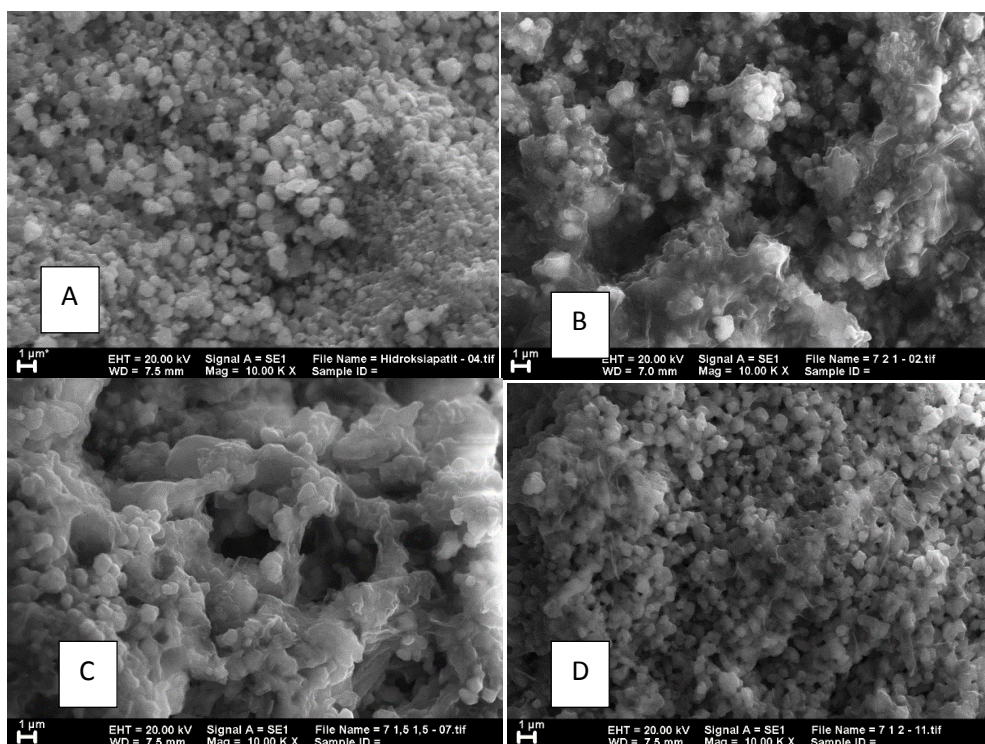


Figure 4 The morphology surface analysis from hydroxyapatit ox bone (A), bone graft 7:2:1 (B), bone graft 7:1.5:1.5 (C), bone graft 7:1:2 (D), 10.000x

Manuscript Template (A4 size)

Table 1 Concentration of Calcium in SBF Solution

Days	Bone graft 7:2:1 (mg/L)	Bone graft 7:1,5:1,5 (mg/L)	Bongraft 7:1:2 (mg/L)
0	15		
3	2.06	2.455	1.974
6	2.218	1.866	1.804
9	2.777	2.471	2.027
12	2.372	2.208	1.976
15	1.392	1.582	1.181
18	2.188	0.915	1.706
21	2.011	1.881	1.742

Manuscript Template (A4 size)

Table 2 Data of bone graft strengthness

Sample	strengthness (MPa)
Bone graft 7:2:1	1.31
Bone graft 7:1.5:1.5	1.07
Bone graft 7:1:2	1.29



HOME ABOUT USER HOME SEARCH CURRENT ARCHIVES ANNOUNCEMENTS ##BACK ISSUES (1-15)##

Home > User > Author > Submissions > #599 > **Review**

#599 Review

SUMMARY **REVIEW** EDITING

Submission

Authors	SARI EDI CAHYANINGRUM, Mohamad Ilham Fadila Ramadan, Zeti Lindawati, Nuniek Herdyastuti
Title	Synthesis Hydroxyapatite/ Collagen/Chitosan Composite as Bone Graft For Bone Fracture Repair
Section	Original Research Articles
Editor	Yuttanant Boonyongmaneerat

Peer Review

Round 1

Review Version	599-2426-2-RV.PDF 2019-11-03
Initiated	2019-11-03
Last modified	2019-11-03
Uploaded file	None

Editor Decision

Decision	Revisions Required 2019-09-29
Notify Editor	Editor/Author Email Record 2019-10-20
Editor Version	599-2656-1-ED.PDF 2019-11-03
Author Version	599-2570-1-ED.DOCX 2019-10-07 DELETE 599-2570-2-ED.DOCX 2019-10-19 DELETE 599-2570-3-ED.DOCX 2019-10-23 DELETE
Upload Author Version	Telusuri... Tidak ada berkas dipilih. Upload

Printed ISSN: 0857-6149

This journal is abstracted and/or indexed in Scopus, ESCI (Emerging Sources Citation Index), CAS Source Index (Chemical Abstracts), CSA Engineering Research Database (Cambridge Scientific Abstracts), ACI (ASEAN Citation Index) and TCI (Thai-Journal Citation Index).

[Editorial Board](#)

USER

You are logged in as...

sariedi_70

- [My Profile](#)
- [Log Out](#)

AUTHOR

Submissions

- [Active](#) (1)
- [Archive](#) (0)
- [New Submission](#)

NOTIFICATIONS

- [View](#)
- [Manage](#)

JOURNAL CONTENT

Search

Search Scope

All

Browse

- [By Issue](#)

Online ISSN: 2630-0508

- [By Author](#)
- [By Title](#)

FONT SIZE

INFORMATION

- [For Readers](#)
- [For Authors](#)
- [For Librarians](#)

[Journal Help](#)

Dokumen pendukung luaran Tambahan #1

Luaran dijanjikan: Prosiding dalam pertemuan ilmiah Nasional

Target: sudah terbit/sudah dilaksanakan

Dicapai: Accepted

Dokumen wajib diunggah:

1. Naskah artikel
2. Surat keterangan accepted dari editor

Dokumen sudah diunggah:

1. Naskah artikel
2. Surat keterangan accepted dari editor

Dokumen belum diunggah:

-

Sintesis Dan Karakterisasi Hidroksiapatit Dengan Teknik Pengendapan Basah Sebagai Kandidat Implant Tulang

Sari Edi Cahyaningrum, Nuniek Herdyastuty, Fenty Findia, Bella Devina and Dicky Supangat
Department of Chemistry, Faculty Mathematics and Natural Science
Universitas Negeri Surabaya
Surabaya, Indonesia
(E-mail: saricahyaningrum@unesa.ac.id)

Abstrak. Hidroksiapatit merupakan material anorganik penyusun tulang yang mempunyai rumus molekul $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Hidroksiapatit dapat digunakan sebagai implant tulang karena tidak beracun, mempunyai sifat osteokonduktif dan biokompatibel sehingga dapat digunakan untuk memperbaiki kerusakan tulang. Pada penelitian ini dipelajari sintesis dan karakterisasi hidroksiapatit dengan teknik pengendapan basah. Pada penelitian ini, hidroksiapatite disintesis dari precursor kalsium dan fosfat, dengan suhu sintering divariasi dari suhu 700°C to 900°C . Hidroksiapatit yang dihasilkan dikarakterisasi gugus fungsional dan kristalinitas. Hasil penelitian menunjukkan gugus fungsional karakteristik untuk hidroksiapatit yaitu OH^- , PO_4^{3-} and CO_3^{2-} dengan derajat kristalinitas 95,8 % -98,09%.

Kata kunci: hidroksiapatit; pengendapan basah; implan tulang

Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite By Wet Precipitation as Bone Implant Candidate

Abstract. Hydroxyapatite is the inorganic material of bone structure which has chemical formula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Hydroxyapatite can applied as an implant material because that is non toxic, osteoconductive and biocompatible, so that can be use to repair the bone fracture. This research was investigation of synthesis and characteristics of hydroxyapatite by precipitation method. In this research, hydroxyapatite is syntheses from precursor calcium and phosphate, with temperature sintering was variation from 700°C to 900°C . The powder of hidroxyapatite was characterized the functional group and cristalinity. The results showed that there are the characteristics functional group for hydroxyapatite OH^- , PO_4^{3-} and CO_3^{2-} with cristalinity degree 95.8% - 98.09%

Keywords: hydroxyapatite; wet precipitation; bone implant

PENDAHULUAN

HAp adalah bahan utama penyusun gigi dan tulang manusia dengan rumus molekul $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ mempunyai rasio molar Ca/P sebesar 1,67 (Agrawal, 2011). Karakteristik HAp antara lain berpori, *bioactive*, *biocompatible*, dan tidak korosif. Pembuatan HAp dapat dilakukan menggunakan sumber-sumber kalsium sintetik dan alami (Anglescu, 2011). Sumber kalsium sintetik yang umumnya digunakan untuk sintesis HAp adalah CaO , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaCO_3 , dan CaCl_2 (Bagno, 2004). Sumber kalsium alami yang digunakan untuk sintesis HAp umumnya mempunyai kadar kalsium yang tinggi diantaranya, gypsum alam cangkang telur bebek (Cahyaningrum, 2017), dan cangkang kepiting Dorozhin, 2010). Sintesis HAp dari bahan alami lebih baik karena bahan tersebut dapat meningkatkan sifat *bioactive* dan *biocompatible* (Dorozhin, 2010).

Cangkang telur terdiri dari bahan kering (98,4%) dan air (1,6%). Bahan kering terdiri dari protein (3,3%) dan mineral (95,1%). Komposisi mineral pada cangkang telur ayam ras tersusun dari MgCO_3 (0,84%), CaCO_3 (98,43%), dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (0,75%) (Yunta, 2010). Kadar kalsium tersebut lebih tinggi dibandingkan kadar kalsium pada cangkang telur ayam kampung 71,11% , cangkang telur bebek 75,12% (Cahyaningrum, 2017), sehingga pada sintesis hidroksiapatit dapat menggunakan cangkang telur ayam ras sebagai prekursor kalsium.

Beberapa metode dapat digunakan pada sintesis HAp antara lain metode hidrotermal, sol gel, kering, dan metode pengendapan basah (Lett, 2015). Pada metode pengendapan basah memiliki keunggulan, antara lain hasil sampingnya berupa air, dan kemungkinan kontaminasi selama pengolahan sangat rendah, sehingga dalam prosesnya akan menghasilkan HAp dengan tingkat kemurnian yang cukup tinggi (Michal, 2015), reaksinya sederhana, mudah diaplikasikan untuk industri skala besar, dan tidak mencemari lingkungan.

Meskipun banyak keunggulan dari metode pengendapan basah, terdapat beberapa parameter yang harus diperhatikan diantaranya pH, laju pengadukan, metode penambahan fosfat, dan suhu *sintering* berpengaruh pada sintesis HAp (Wang, 2010). Penelitian Savitri (2016) pada sintesis HAp dari cangkang telur bebek menunjukkan bahwa suhu *sintering* paling optimal pada 900°C dengan kristanilitas dan morfologi dari partikel paling baik. Berdasarkan hal tersebut maka pada penelitian ini akan dipelajari sintesis HAp dari cangkang telur ayam ras dengan metode pengendapan basah pada berbagai suhu *sintering*.

METODA

Alat dan bahan

Bahan yang digunakan :Cangkang telur ayam ras, Asam fosfat (H_3PO_4), NaOH, Akuademineral, HNO_3 12M

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alu, buret, statif, klem, desikator, *magnetic stirrer and hot plate* (VWR VMS-C7-2), oven (LabTech), ayakan 100 mesh, lumpang, alat-alat gelas, cawan porselin, blender, pH meter

(Mi 150), tanur (Select-Horn VMS-C7-2), dan neraca analitik (Ohaus). *X-ray Diffraction* (Bruker 3090409081), *Scanning Electron Microscopy* (Carl Zeiss 9 EVO MA 10), dan *Fourier Transform Infrared* (Perkin Elmer).

Sintesis HAp dari Cangkang Telur Ayam Ras

Sebanyak 8 gram serbuk cangkang telur ayam ras dikalsinasi dengan tanur suhu 1000°C selama 6 jam. Hasil kalsinasi berupa Serbuk CaO, dipindahkan ke desikator dan ditimbang massanya. Sintesis hidroksiapatit dilakukan dengan cara mereaksikan prekursor kalsium dan prekursor fosfat dengan perbandingan konsentrasi Ca/P 1,67. CaO yang dihasilkan dari kalsinasi cangkang telur ayam Ras dimasukkan dalam gelas kimia 100mL ditambah dengan akuademineral. Campuran tersebut selanjutnya ditambah 150mL asam fosfat tetes demi tetes. Selanjutnya diaduk hingga homogen. Saat penambahan mulut gelas kimia ditutup dengan *aluminium foil* untuk meminimalkan kontak dengan udara. Campuran tersebut didiamkan selama 1 jam pada temperatur 30 °C. Setelah didiamkan selama 1 jam, ditambahkan natrium hidroksida (NaOH) 1M tetes demi tetes hingga pH larutan mencapai 10 kemudian diaduk selama 30 menit menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 100 rpm. Kemudian, didiamkan (*aging*) pada temperatur kamar selama 24 jam.

Larutan yang dihasilkan disaring, endapannya dicuci dengan akuademin sebanyak 3x, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 110 °C selama 2 jam dan ditimbang massanya. Setelah dioven, sebanyak 1 ml HNO₃ 12M ditambahkan. Langkah selanjutnya dilakukan proses sintering dengan suhu divariasi 800°C - 1000°C selama 2 jam. Kristal yang terbentuk dibiarkan dingin dalam tanur selama 15 jam. HAp yang dihasilkan dipindahkan dalam desikator, dan ditimbang massanya, kemudian diuji menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM), *Fourier transform infrared* (FT-IR) dan *X-ray Diffraction* (XRD),

HASIL DAN PEMBAHASAN

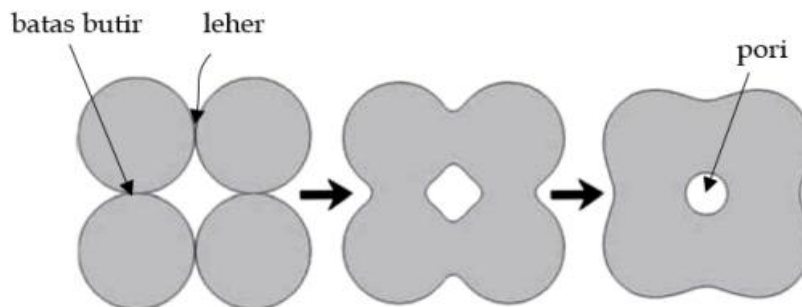
Sampel Cangkang ayam (CA) dicuci hingga bersih untuk menghilangkan kotoran, bau, lendir, dan lapisan membran. Lapisan membran CA mengandung senyawa organik sehingga harus dihilangkan agar tidak mengganggu sintesis HAp. CA yang telah bersih, dikeringkan untuk mengurangi kandungan air. Kalsinasi CA pada suhu 1000 °C mengubah CaCO₃ menjadi CaO dan gas CO₂. Setelah proses kalsinasi, dilakukan proses pendinginan secara perlahan di dalam tanur hingga mencapai suhu ruang. Apabila sampel CaO diambil secara langsung pada suhu 1000 °C, maka akan mengalami *thermal shock* yaitu perubahan suhu secara mendadak yang membuat menjadi material keramik yang retak dan terpecah. Rendemen CA-K yang ditanur pada suhu 1000 °C selama 6 jam adalah 62,1921%. Penurunan massa CA pada proses kalsinasi karena proses pelepasan gas CO₂ dan penguraian senyawa organik.

Pada proses sintesis HAp menggunakan prekursor kalsium yaitu serbuk CA-K. Serbuk CA-K selanjutnya dilarutkan dengan air sehingga menghasilkan larutan Ca(OH)₂. Larutan Ca(OH)₂ ditambahkan H₃PO₄ setetes demi tetes agar pH tidak turun secara drastis. Penurunan pH dibawah 7 menyebabkan H₃PO₄ terdisosiasi tidak sempurna sehingga menghasilkan β-

$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dan CaO (Angelescu *et al.*, 2011). Setelah larutan homogen kemudian dipanaskan pada suhu $60\text{ }^\circ\text{C}$ yang bertujuan untuk memaksimalkan proses kristalinitas pada saat *aging*. Sintesis yang dilakukan pada suhu $60\text{ }^\circ\text{C}$ juga bertujuan untuk membentuk kristal HAp dengan struktur heksagonal. Struktur heksagonal merupakan struktur yang diharapkan karena sesuai dengan struktur tulang manusia. Setelah penambahan asam fosfat pada larutan $\text{Ca}(\text{OH})_2$, campuran bersifat asam sehingga perlu penambahan basa. Penambahan basa menggunakan NaOH dikontrol hingga mencapai pH yang stabil untuk larutan HAp yaitu pada pH 10. Penambahan NaOH 1M tetes demi tetes bertujuan agar HAp yang dihasilkan tidak memiliki sifat toksik dan tidak terjadi kenaikan pH secara drastis. Penurunan pH yang drastis akan membentuk suspensi dan akan menyebabkan pembentukan struktur apatit yang kekurangan kalsium (*calcium deficient apatite*).

Suhu *sintering* merupakan faktor yang dapat mempengaruhi dekomposisi HAp karena permukaan HAp akan berinteraksi dengan lingkungan di sekitarnya. Proses *sintering* dilakukan di bawah titik leleh HAp sehingga hanya padatan HAp yang terbentuk. Sebelum di *sintering* ditambahkan HNO_3 yang berfungsi menguraikan keberadaan karbonat. Setelah proses *sintering*, sampel tersebut didinginkan secara perlahan di dalam tanur agar tidak mengalami *thermal shock*.

Pada proses *sintering* terdapat tiga tahapan yaitu tahap awal, tahap pertengahan/intermediet, dan tahap akhir. Pada tahap awal terbentuk titik kontak antar partikel HAp membentuk leher (*neck*) dan bertambah luas menjadi batas butir (*grain boundary*) (Gambar 1). Pada saat batas butir HAp semakin membesar, maka densitas meningkat (Naik, 2014; Dorozhkin, 2010).



Gambar 1 Perubahan Partikel Ketika *Sintering* (Dorozhkin, 2010).

Pada tahap pertengahan *sintering*, batas butir membesar dan porinya mengecil dengan cepat sehingga terjadi penyusutan (*shrinkage*) dan peningkatan densitas. Pada tahap ini terdapat pori yang terkoneksi satu dengan yang lain. Pada tahap akhir *sintering*, pemadatan/densifikasi berlangsung lambat dan pori semakin kecil dan terisolasi. Partikel menjadi terikat kuat, sehingga kepadatan, dan kekuatan meningkat (Dorozhkin, 2010).

Tabel 1. Hasil Fasa CA-K dan HAp

Kode Sampel	Fasa
CA-K	CaO
	Ca(OH) ₂
	CaCO ₃
HAp-BJ	Hap
	tetrakalsium siklo-dekafosfat 16 hidrat
HAp-TS	DCPD
	Hap
	AKA
	AKB
HAp-800	Hap
	AKA
	AKB
HAp-900	TCP
	AKA
	AKB
HAp-1000	TCP
	AKA
	AKB

Keterangan:

- CaO : kalsium oksida
- Ca(OH)₂ : kalsium hidroksida
- CaCO₃ : kalsium karbonat
- Hap : hidroksianatit
- CPD : CaHPO₄·2H₂O
- KA : apatit karbonat tipe A
- KB : apatit karbonat tipe B
- TCP : beta-trikalsium fosfat

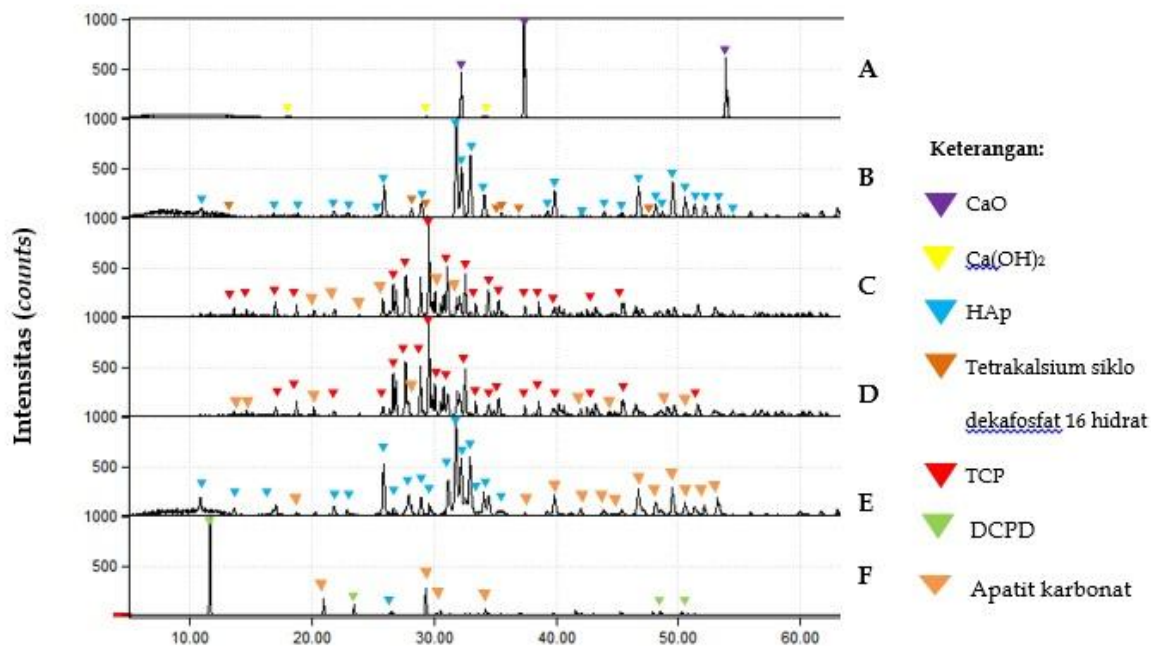
Pada gambar 2 menunjukkan difraktogram CA-K, HAp-BJ, HAp-10, HAp-9, HAp-8, HAp-TS. Pada difraktogram menunjukkan adanya perubahan puncak pada difraktogram CA-K dan seluruh sampel HAp. Pada HAp-TS menunjukkan 2θ 11,65 °C, puncak ini mirip dengan puncak panelitian Malaysiana (2011) pada puncak brushit. Selain itu nampak bahwa krisnalinitas brushit tinggi dari puncak-puncaknya tajam sedangkan kristainitas HA rendah dari puncak-puncak yang rendah. Puncak lain pada difraktogram, sesuai dengan JCPDS *brushit* dengan rumus kimia CaHPO₄·2H₂O (DCPD). Pada awal proses *aging*, terjadi pembentukan fasa kalsium fosfat intermediat yang amorf. Pada proses sintesis HAp, kalsium fosfat mengalami proses nukleasi dan pertumbuhan fasa intermediat sehingga menjadi HAp. Laju kintetik pembentukan berlangsung lambat yaitu fasa *brushit* menjadi oktakalsium fosfat, kemudian menjadi Hap.

Pada HAp-8 terdapat puncak tertinggi pada $2\theta=31,807^\circ$ yang menunjukkan adanya fasa HAp. Fasa HAp juga diperkuat dengan adanya puncak lain yaitu pada $2\theta= 10,849, 27,904, \text{ dan } 28,952^\circ$. Selain HAp, fasa lain adalah apatit karbonat yaitu apatit karbonat tipe A (AKA) dan apatit karbonat tipe-B (AKB). Fasa AKA ditunjukkan pada $2\theta= 26,639, 31,163, 32,210, 39,853$.

Fasa AKB ditunjukkan pada $2\theta = 34,094, 49,522; 50,544; \text{ dan } 53,230$. Pada suhu sintering 800°C menunjukkan suhu pembentukan HAp.

Adanya apatit karbonat pada HAp-8 berasal dari substitusi ion karbonat pada HAp (Indriani, 2012). Substitusi bukan berasal dari prekursor kalsium, karena data XRD menunjukkan CA-K tidak mengandung CaCO_3 . Substitusi CO_3^{2-} dapat berasal dari reaksi gas CO_2 yang berasal dari udara bebas dengan ion OH^- yang berasal dari pelarut (Suryadi, 2011). Reaksi antara CO_2 dan akuademin sebagai pelarut menghasilkan CO_3^{2-} dan tersubstitusi ke dalam kisi kristal dari HAp.

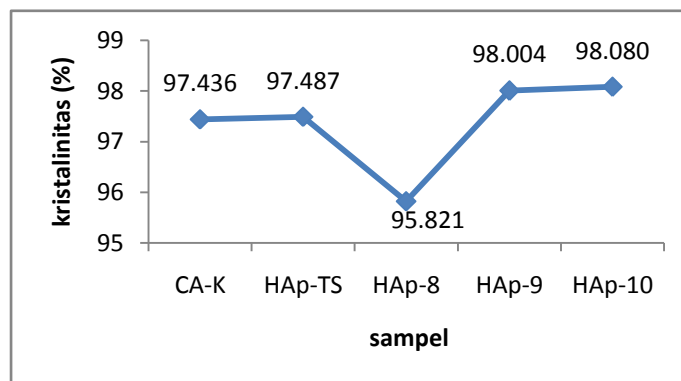
Pada HAp-9 dan HAp-10 menunjukkan adanya fasa trikalsium fosfat (TCP). Puncak tertinggi HAp-9 yaitu pada $2\theta = 29,5$, sedangkan HAp-10 pada $2\theta = 29,598$. Pada suhu yang tinggi terjadi disosiasi dari fasa HAp menjadi fasa lain seperti CaO dan beta-trikalsium fosfat (TCP) (Mucalo, 2015). Pada aplikasi teknik jaringan (*tissue engineering*) fasa kalsium fosfat yang diperbolehkan memiliki rentang Ca/P antara 1 hingga 2. Adanya fasa TCP pada sampel tidak membahayakan karena masih berada dalam rentang tersebut. HAp memiliki kekurangan yaitu kelarutan yang kecil pada lingkungan berair (*aqueus*), sehingga aplikasi HAp biasanya di kombinasi dengan kalsium fosfat yang lain seperti TCP (Mucalo, 2015)



Gambar 2. (A) Difraktogram CA-K, (B) HAp-BJ, (C) HAp-10, (D) HAp-9, (E) HAp-8, (F) HAp-TS.

Analisis kristalinitas bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu *sintering* terhadap kristalinitas.

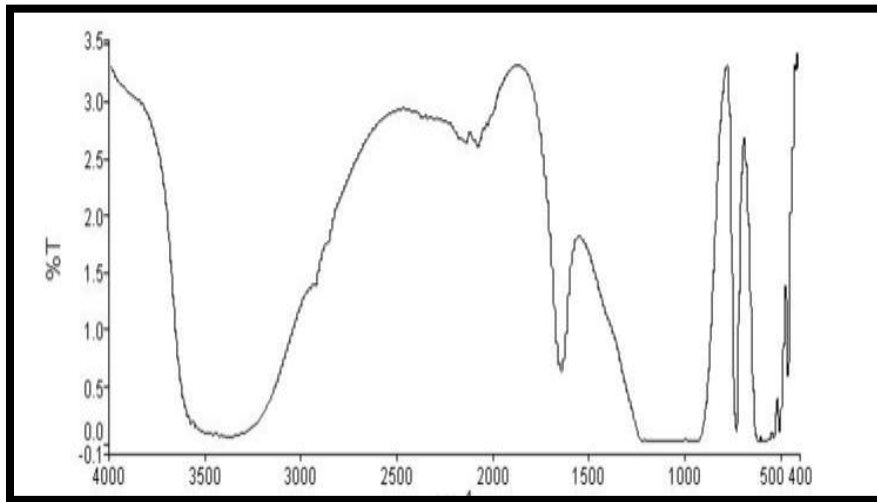
Pada Gambar 3 menunjukkan kristalinitas CA-K dan HAp. Pada CA-K memiliki kristalinitas sebesar 97,436%. Pada CA-K memiliki kristalinitas sebesar 97,436%. Kristalinitas tertinggi pada HAp-10 yaitu 98,080%, sedangkan kristalinitas terendah pada HAp-8 yaitu 95,821%.



Grafik 3 Kristalinitas sampel Hap dan Sampel

Pada grafik menunjukkan adanya peningkatan kristalinitas seiring kenaikan suhu *sintering*. Peningkatan secara signifikan pada suhu 800 menuju 900 °C, sedangkan sintering pada suhu hingga 1000 °C mengalami peningkatan kristalinitas yang kecil. Pada HAp-TS yang merupakan fasa brushit memiliki kristalinitas yang lebih besar dibandingkan HAp-8. Berdasarkan ISO-13779:2008, kristalinitas HAp sebagai implan tulang harus lebih dari 95%. Seluruh HAp yang telah *disintering* menunjukkan kristalinitas yang sesuai dengan standar tersebut.

Analisis gugus fungsional menggunakan instrumen FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsional dari CA-K dan HAp. Analisis gugus fungsional menggunakan instrumen FTIR ini juga untuk melihat terjadinya reaksi yang ditandai dengan adanya pergeseran, kenaikan, maupun penurunan intensitas pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} .



Gambar 4. Spektra Infra Merah Hidroksiapatit

Pada gambar 4 menunjukkan gugus fungsional HAp-9, spectra karakteristik untuk HAp adalah adanya gugus fungsional OH, CO_3^{2-} , dan PO_4^{3-} . Pada Pada sampel HAp-900 memiliki bilangan gelombang 454,76; 1072,5; 528,5; 1638,01 cm^{-1} . Pada spektrum HAp-9 juga tidak terdapat spectra HAp memiliki adanya gugus CO_3^{2-} , PO_4^{3-} , dan OH^- .

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa hidroksiapatit dapat disintesis dari cangkang telur ayam ras dengan metode pengendapan basah. Suhu sintering mempengaruhi karakteristik hidroksiapatit yang dihasilkan. Hidroksiapatit yang dihasilkan memenuhi standar ISO apabila digunakan sebagai implant tulang. Hasil analisis FTIR menunjukkan gugus fungsional karakteristik untuk hidroksiapatit yaitu gugus CO_3^{2-} , PO_4^{3-} , dan OH^- .

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada DRPM yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Peneliti PDUPT tahun 2019.

DAFTAR PUSTAKA

Agrawal, K., Singh, Gurbhinder., Puri, D., Prakash, S., 2011. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Powder by Sol-Gel Method for Biomedical Application. *Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering*, 10, (8): 727-734.

- Anglescu., Ungureanu, D.N., Anghelina, F.V. 2011. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Obtained In Different Experimental Conditions. *The Scientific Bulletin of Valahia University Materials and Mechanics* 6.
- Bagno, A and Bello, Di. 2004. Surface Treatments and Roughness Properties of Ti-Based Biomaterials. *Journal of Materials Science Materials in Medicine*, 15, (9): 935-49
- Cahyaningrum. S.E, Herdyastuty, N, Devina, B dan Supangat, D, 2017 Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Powder by Wet Precipitation Method, *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* **299** 012039
- Dorozhkin, Sergery. 2010. Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials*, 31.
- Lett, J Anita., Ravichandran, K., Sundareswari, M. 2015. The study on the synthetic methodologies for manoeuvring the morphology crystallinity and particle size of hydroxyapatite. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7 (2): 231-239.
- Michal, Wojasinski. 2015. Lecithin-Based Wet Chemical Precipitation of Hydroxyapatite Nanoparticles. *Colloid Polymer Science*, 293 (5): 1561–1568.
- Mucalo, Michael. 2015. *Hydroxyapatite (HAp) for Biomedical Applications*. United Kingdom: Woodhead Publishing.
- Naik, Kiran Suresh. 2014. *Sintering of Ceramic Materials Under Electric Field*. Italy: University of Trento.
- Wang, L. and Nancollas, G. H. 2010. Calcium Orthophosphates: Crystallization and Dissolution. *Chemical Reviews*, 108, 11 2008), 4628-46.
- Wei, Z., Xu, C., and Li, B., 2009. Application of Waste Eggshell as Low-Cost Solid Catalyst for Biodiesel Production. *Bioresource Technology*, 100(11), 2883-2885.
- Yuwanta, T. 2010. *Telur dan Kualitas Telur*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS NEGERI MALANG

JURUSAN KIMIA

Jalan Semarang Nomor 5, Malang 65145
Telepon: 0341-551312 Psw. 265, Faksimile: 0341-551921
Laman: www.um.ac.id



SERTIFIKAT

Nomor: 3.11.3/UN32.3/SNKP/2019

diberikan kepada

Sari Edi Cahyaningrum

sebagai

Invited Speaker

dengan judul

**Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dengan
Teknik Pengendapan Basah sebagai Kandidat Implant Tulang**

pada acara

Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya 2019

dengan tema:

"Inovasi Kimia dan Pembelajarannya Era 4.0"
diselenggarakan pada tanggal 3 November 2019
di Universitas Negeri Malang

Malang, 3 November 2019

Ketua Pelaksana

UM

SNKP

2019

Adilah Aliyatulmuna, S.T., M.T.
NIP 197206082001122001