

SINTESIS SCAFFOLD ALGINAT-KITOSAN-KARBONAT APATIT SEBAGAI BONE GRAFT MENGGUNAKAN METODE FREEZE DRYING

M. R. Aufan¹, A. H. Daulay², D. Indriani³, A. Nuruddin¹, B. S. Purwasasmita¹

¹Program Studi Teknik Fisika, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Bandung

²Program Studi Teknik Material, Fakultas Teknik Mesin dan Dirgantara, Institut Teknologi Bandung

³Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia

ABSTRACT

Scaffold is a three dimensional structure that can be used as temporary supporting media in body tissue repairmen process. Some properties that must be owned by the scaffold are porous, biocompatible, biodegradable, bioactive, and have sufficient mechanical strength to sustain the new tissue growth. In this present study, the scaffold will be synthesized for bone tissue repairmen using alginate, chitosan, and carbonate apatite. The variation ratio of alginate and chitosan used in this study was 100% alginate, 2:1, 1:1, 1:2, and 100% chitosan with the same mass of carbonate apatite for each variation, which is 0.1 gram. The results of mixing the three ingredients were then freeze-dried in order to obtain the porous characteristic of the scaffold. From the results of the FTIR, the crosslinking process between the carboxyl groups on alginate characterized by the emergence of the peak at 1620 cm^{-1} frequency and the ionic bonding between alginate and chitosan are observed. The results of SEM examination stated: first, the properties of porous scaffold is successfully acquired using freeze drying method; second, the variations in the composition of alginate and chitosan as well as the addition of carbonate apatite scaffold affect the structure formed. Composition of alginate: chitosan = 1:1 tends to produce a more dense scaffold compared with other compositions; third, the existence of carbonate apatite is observed on the surface of the scaffold.

Keywords: scaffold, alginate, chitosan, carbonate apatite, freeze drying

ABSTRAK

Scaffold merupakan suatu struktur tiga dimensi yang digunakan sebagai media penyangga sementara proses perbaikan suatu jaringan tubuh. Beberapa sifat yang harus dimiliki oleh scaffold ialah porus, biokompatibel, biodegradable, bioaktif, dan memiliki kekuatan mekanik yang cukup untuk menopang sementara proses pertumbuhan jaringan baru. Pada penelitian ini dilakukan proses sintesis scaffold untuk perbaikan jaringan tulang menggunakan bahan alginat, kitosan, dan karbonat apatit. Variasi perbandingan alginat dan kitosan yang digunakan dalam penelitian ini ialah 100% alginat, 2:1, 1:1, 1:2, dan 100% kitosan dengan massa karbonat apatit yang sama untuk setiap variasi, yakni 0,1 gram. Hasil pencampuran ketiga bahan ini kemudian di-freeze drying agar diperoleh sifat porus pada scaffold. Dari hasil pengujian FTIR teramati adanya proses crosslinking antara gugus karboksil pada alginat yang ditandai dengan munculnya peak pada frekuensi 1620 cm^{-1} dan

terjadinya ikatan ionik antara alginat dan kitosan. Hasil dari pengujian SEM menyatakan; pertama, berhasil didapatkannya scaffold dengan sifat porus menggunakan metode freeze drying; kedua, didapatkan pula bahwa variasi komposisi alginat dan kitosan serta penambahan karbonat apatit mempengaruhi struktur scaffold yang terbentuk. Komposisi alginat:kitosan=1:1 cenderung menghasilkan scaffold yang lebih padat dibandingkan scaffold dengan komposisi lainnya; ketiga, karbonat apatit yang ditambahkan teramati keberadaannya pada permukaan scaffold.

Kata kunci: scaffold, alginat, kitosan, karbonat apatit, freeze drying

PENDAHULUAN

Pencangkokan tulang merupakan salah satu cara yang umum digunakan untuk mengembalikan fungsi dari suatu jaringan tulang yang hilang atau telah mengalami kerusakan. *Autograft*, *allograft*, dan *xenograft* merupakan teknik pencangkokan tulang yang telah banyak digunakan.¹ Walaupun teknik perbaikan ini terbukti dapat memperbaiki suatu jaringan tulang yang rusak, dalam pengaplikasiannya masih terdapat banyak keterbatasan yang dapat menyebabkan terhambatnya proses pengobatan. Pada *autograft*, kendala yang dihadapi ialah keterbatasan jaringan tulang yang dapat digunakan. Kerusakan jaringan yang parah menuntut diperlukannya jaringan untuk perbaikan dalam jumlah yang besar. Pengambilan jaringan dalam jumlah besar dari suatu jaringan sehat berpotensi menyebabkan jaringan tersebut menjadi rusak. Pada *allograft* dan *xenograft*, kendala yang dihadapi ialah masalah kompatibilitas dan potensi terjadinya transfer penyakit dari pendonor.¹ Penggunaan *scaffold* dapat menjadi salah satu solusi untuk menjawab kendala-kendala yang dihadapi dalam proses perbaikan jaringan tulang tersebut.

Scaffold merupakan suatu struktur tiga dimensi yang digunakan sebagai media penyangga sementara untuk mendukung proses pertumbuhan dan pengembangan jaringan baru. Adanya interaksi dengan tubuh menuntut *scaffold* memiliki karakteristik biokompatibel sehingga tidak memunculkan penolakan oleh tubuh. Sifat lain yang juga harus dimiliki oleh *scaffold* ialah porus. Pori-pori yang terdapat pada *scaffold* memiliki fungsi sebagai ruang bagi sel untuk menempel dan tumbuh menjadi suatu jaringan tulang baru.¹ Ukuran pori komersial untuk aplikasi perbaikan jaringan tulang berkisar pada rentang 100 – 300 mikron.² Sifat porus pada *scaffold* dapat dihasilkan dengan menggunakan metode *freeze drying*.

Bahan yang dapat digunakan untuk membentuk *scaffold* dapat berupa polimer alami, seperti alginat dan kitosan. Alginat merupakan bahan organik yang diperoleh dari hasil ekstraksi rumput laut, sedangkan kitosan merupakan bahan organik yang didapat dari penurunan zat kitin yang dimiliki hewan krustasea. Kedua bahan ini dapat digunakan karena memiliki sifat biokompatibilitas serta biodegradabilitas yang baik untuk diaplikasikan dalam proses perbaikan jaringan.^{3,4} Disamping itu, khusus untuk perbaikan jaringan tulang, dapat pula digunakan penambahan apatit, layaknya hidroksiapatit maupun karbonat apatit, untuk meningkatkan sifat bioaktif *scaffold* sehingga proses perbaikan jaringan dapat berjalan lebih cepat.⁵

Banyak penelitian yang telah dilakukan terkait pembuatan *scaffold* menggunakan alginat dan kitosan dengan penambahan hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Penambahan hidroksiapatit pada alginat, kitosan, ataupun beberapa bahan polimer lain pada proses pembuatan *scaffold* terbukti dapat meningkatkan kemampuan dari *scaffold* untuk memperbaiki suatu jaringan tulang yang rusak.⁶⁻⁸ Namun, berdasarkan sifat yang dimilikinya, masih terdapat kekurangan pada penggunaan hidroksiapatit dalam proses perbaikan jaringan tulang, salah satu diantaranya ialah tingkat kristalinitasnya yang relatif lebih tinggi apabila dibandingkan dengan apatit tulang tubuh manusia,⁹ Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penambahan komponen karbonat pada hidroksiapatit dapat mempengaruhi sifat yang dimilikinya, seperti peningkatan kelarutan, penurunan kristalinitas, serta perubahan morfologi dari Kristal.¹⁰ Hal ini menyebabkan karbonat apatit lebih dipilih untuk digunakan dalam proses perbaikan suatu jaringan tulang menggunakan *scaffold*.

Pada penelitian kali ini dilakukan pembuatan *scaffold* dengan memanfaatkan alginat, kitosan, dan karbonat apatit menggunakan metode *freeze drying*. Penggunaan karbonat apatit pada penelitian ini disebabkan karakteristik karbonat apatit yang lebih menyerupai apatit tulang tubuh manusia apabila dibandingkan dengan hidroksiapatit, sehingga penambahannya berpotensi menghasilkan *scaffold* dengan sifat osteokonduktif yang lebih baik.

EKSPERIMENTAL

Dalam penelitian ini digunakan larutan alginat dan kitosan dengan persentase berat masing-masing sebesar 3% dan 1%. Karbonat apatit dibuat dengan menggunakan prekursor berupa larutan kalsium nitrat, larutan diamonium hidrogen fosfat, dan larutan kalsium karbonat dengan perbandingan konsentrasi 5:3:3. Ketiga larutan tersebut kemudian dicampurkan dan didiamkan selama satu hari hingga terjadi pengendapan. Pemisahan endapan kemudian dilakukan dengan menggunakan teknik sentrifugasi. Hasil dari sentrifugasi ini kemudian di aging selama satu minggu. Hasil dari aging ini kemudian dikalsinasi pada temperatur 700°C selama 2 jam di dalam tungku bakar.

Pada tahapan selanjutnya dilakukan pencampuran larutan alginat 3%, larutan kitosan 1%, dan karbonat apatit dengan komposisi perbandingan alginat-kitosan 2:1, 1:1, dan 1:2, serta alginat 100% dan kitosan 100%. Untuk setiap sampel yang dibuat, dilakukan penambahan larutan CaCl_2 1 mM (kecuali pada kitosan 100%) dan karbonat apatit sebesar 0,1 gram. Hasil dari pencampuran ini kemudian di-*freeze drying*.

Scaffold yang telah berhasil disintesis kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan FTIR dan SEM. Karakterisasi FTIR dilakukan dengan menggunakan alat *Jasco FT/IR 4200 type A spectrometer*, sedangkan karakterisasi SEM dilakukan menggunakan SEM *JEOL-JSM 6360 LA*. Uji FTIR digunakan untuk mengetahui keberadaan gugus-gugus fungsi yang menyusun *scaffold* tersebut. Uji SEM dilakukan untuk mengetahui

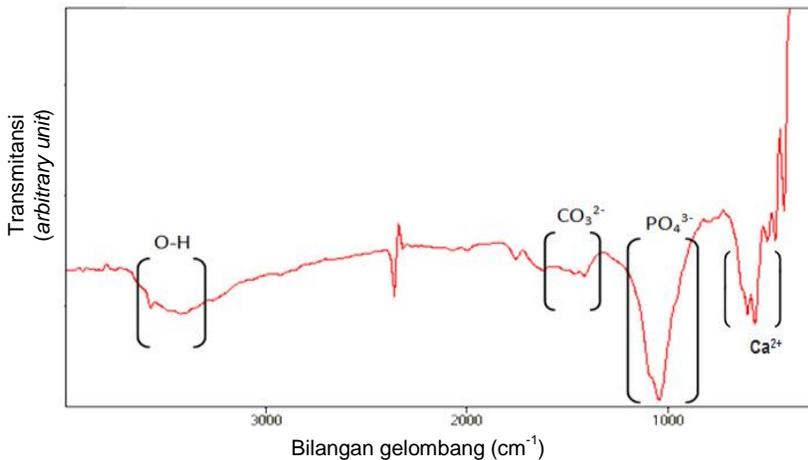
karakteristik struktur *scaffold* akibat variasi komposisi penggunaan alginat dan kitosan serta penambahan karbonat apatit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

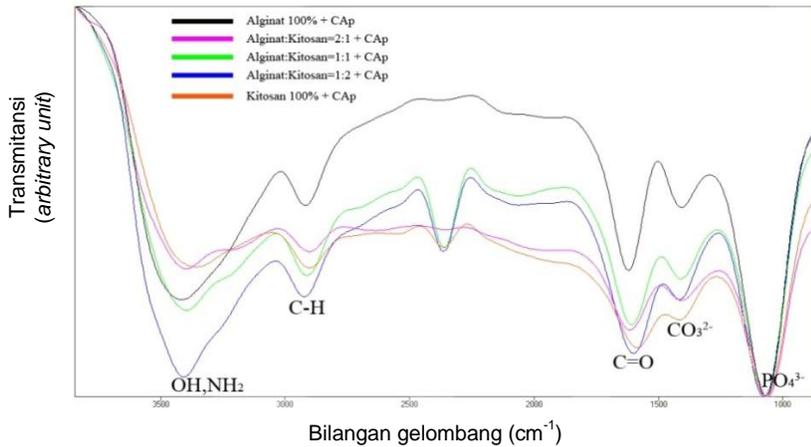
Gugus fungsi penyusun *scaffold*

Berdasarkan data hasil uji FTIR pada sampel karbonat apatit yang didapat (Gambar 1), terlihat adanya puncak pada rentang 900 cm^{-1} - 1300 cm^{-1} , dan $1415,49\text{ cm}^{-1}$. Adanya penyerapan pada rentang 900 cm^{-1} - 1300 cm^{-1} disebabkan keberadaan gugus PO_4^{3-} dan penyerapan pada $1415,49\text{ cm}^{-1}$ terjadi karena adanya gugus CO_3^{2-} . Puncak lain juga teramati terjadi pada $2360,44\text{ cm}^{-1}$. Puncak ini muncul akibat pengaruh karbon dioksida dari lingkungan.

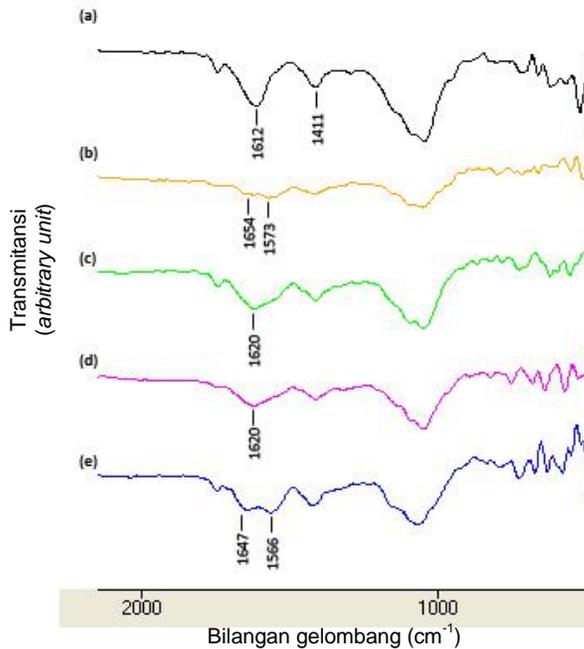
Uji FTIR kemudian dilakukan juga pada lima sampel *scaffold* yang telah disintesis. Terlihat dari data yang didapat terdapat puncak pada rentang 900 cm^{-1} - 1300 cm^{-1} , dan $1415,49\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan adanya karbonat apatit pada *scaffold* yang diuji. Teramati pula adanya puncak-puncak pada 3700 cm^{-1} - 3300 cm^{-1} , 2920 cm^{-1} - 2854 cm^{-1} , dan 1500 cm^{-1} - 1600 cm^{-1} . Penyerapan pada rentang 3700 cm^{-1} - 3300 cm^{-1} menandakan adanya penyerapan oleh gugus NH_2 yang berasal dari kitosan serta gugus O-H yang berasal dari alginat/kitosan. Puncak yang teramati pada 2920 cm^{-1} - 2854 cm^{-1} dan 1500 cm^{-1} - 1600 cm^{-1} menandakan adanya gugus C-H dan C=O yang berasal dari kitosan. Hasil FTIR ini dapat diamati pada Gambar 2.



Gambar 1 Hasil FTIR karbonat apatit



Gambar 2 Hasil FTIR *scaffold* alginat-kitosan-karbonat apatit



Gambar 3 Spektrum FTIR *scaffold*: alginat 100% (a), kitosan 100% (b), alginat:kitosan=1:1 (c), alginat:kitosan=2:1 (d), dan alginat:kitosan=1:2 (e)

Berdasarkan hasil FTIR yang diperoleh, teramati adanya amida I (C=O, 1654 cm^{-1}) dan amida II (C-N, 1573 cm^{-1}) pada *scaffold* yang dibuat dengan menggunakan 100% kitosan seperti yang teramati pada Gambar 3 (b). Pada pembuatan *scaffold* dengan melakukan pencampuran kitosan dengan alginat dan CaCl_2 , teramati munculnya *peak* baru pada 1620 cm^{-1} yang diikuti dengan menghilangnya *peak* dari amida I dan amida II. Hal ini

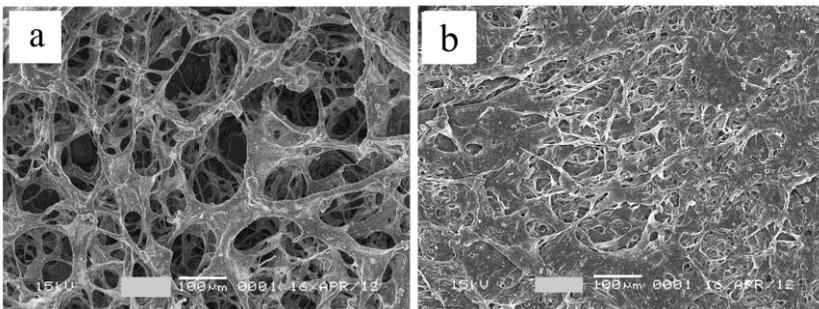
dapat terlihat pada Gambar 3 (c) dan (d). Munculnya pergantian *peak* ini disebabkan oleh *crosslinking* antara gugus karboksil dari alginat yang merupakan sisa dari proses pencampuran alginat dengan kitosan dalam pembuatan *scaffold*.¹¹ Namun, kondisi ini tidak teramati pada Gambar 3 (e), yaitu *scaffold* dengan komposisi alginat:kitosan=1:2. Hal ini disebabkan tidak terdapatnya gugus karboksil sisa yang dapat di-*crosslinking*-kan oleh CaCl_2 karena sebagian besar gugus karboksil yang ada telah berinteraksi membentuk ikatan ionik dengan gugus amina dari kitosan.

Sifat fisik porositas *scaffold*

Penggunaan metode *freeze drying* terbukti dapat menghasilkan *scaffold* dengan sifat porus. Tampak pada Gambar 4 (a) terbentuknya ukuran pori yang bervariasi di sekitar rentang 100 – 300 mikron pada *scaffold* alginat 100%. Variasi ukuran ini tergolong mendukung untuk proses tumbuhnya sel tulang pada *scaffold*.¹²

Pengaturan komposisi alginat dan kitosan dalam proses pembuatan *scaffold* mempengaruhi tingkat kepadatan dari *scaffold* yang terbentuk. Gambar 4 (a) dan (b) menunjukkan saat digunakan *scaffold* dengan bahan alginat 100% atau kitosan 100%, didapatkan *scaffold* dengan tingkat porositas yang relatif tinggi.

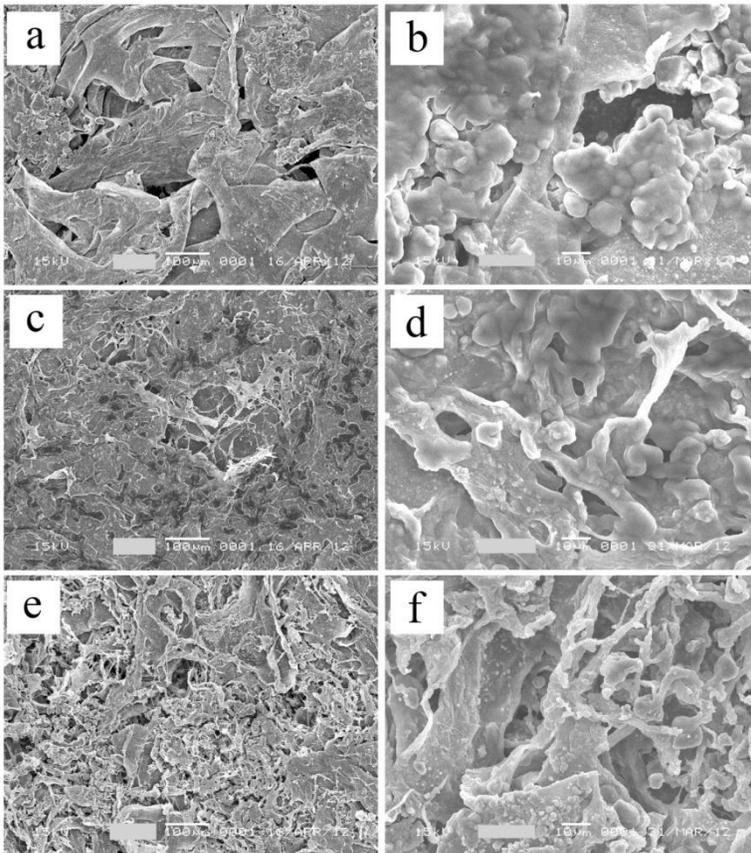
Tingginya porositas dari *scaffold* alginat 100% dan kitosan 100% dapat jelas teramati apabila dibandingkan dengan *scaffold* yang merupakan hasil penggabungan antara alginat dan kitosan. Gambar 5 (a) – (f) merupakan hasil SEM dari *scaffold* yang dibuat menggunakan campuran alginat dan kitosan dengan komposisi yang divariasikan. Berdasarkan hasil SEM (Gambar 5) terlihat bahwa pencampuran alginat dan kitosan menyebabkan didapatkannya *scaffold* dengan sifat yang lebih padat.



Gambar 4 *Scaffold* Alginat 100% + CAp (a) dan *Scaffold* Kitosan 100% + Cap (b)

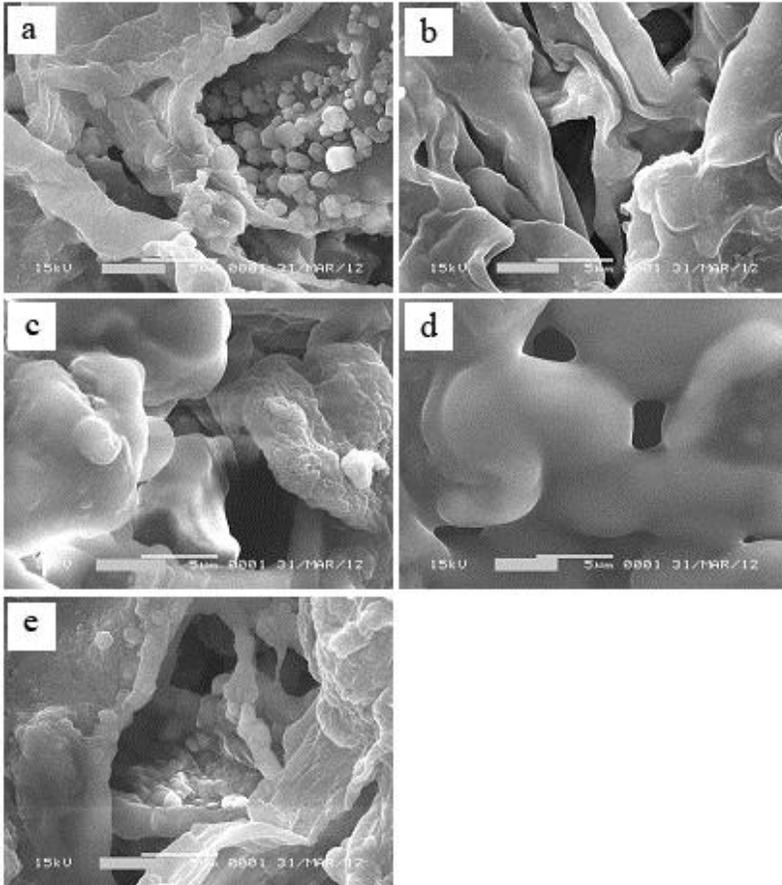
Jika dibandingkan diantara tiga *scaffold* yang dibuat menggunakan campuran alginat dan kitosan (Gambar 5 (a) – (f)), dapat teramati bahwa *scaffold* dengan perbandingan alginat dan kitosan 1:1 memiliki sifat yang paling padat (Gambar 5 (c) dan (d)). Semakin besar perbedaan komposisi alginat dan kitosan yang digunakan, maka akan diperoleh *scaffold* yang lebih porus. Hal ini disebabkan karena pada *scaffold* dengan komposisi alginat dan kitosan yang sebanding (alginat:kitosan=1:1) cenderung lebih

banyak terbentuk ikatan ionik yang pada akhirnya menyebabkan terbentuknya scaffold dengan sifat yang lebih padat¹³. Ikatan ionik pada scaffold ini terjadi karena adanya ikatan antara gugus karboksil (-COO) pada alginat yang bermuatan negatif dan adanya gugus amina (-NH₂) pada kitosan yang bermuatan positif.¹¹



Gambar 5 Hasil SEM dari *scaffold* dengan beberapa variasi komposisi.
 Alginat:Kitosan = 1:2 +Cap (a) dan Perbesarannya(b);
 Alginat:Kitosan = 1:1+Cap (c) dan Perbesarannya(d);
 Alginat:Kitosan = 2:1+Cap (e) dan Perbesarannya (f).

Hal lain yang juga dapat diamati dari data hasil SEM ini ialah sifat dari permukaan scaffold yang didapat. Terlihat bahwa pada scaffold dengan komposisi kitosan yang lebih besar dari alginat, karbonat apatit cenderung tidak nampak pada permukaan scaffold, tetapi sudah terdispersi ke dalam scaffold seperti nampak pada Gambar 6 (b), (c), dan (d). Berbeda dengan scaffold yang menggunakan komposisi alginat yang lebih besar yang mana teramati adanya karbonat apatit pada permukaan scaffold seperti pada Gambar 6 (a) dan (e).



Gambar 6 Permukaan *scaffold*. Alginat 100%+Cap (a), Alginat:Kitosan = 0:1+Cap (b), Alginat:Kitosan = 1:2+Cap (c), Alginat:Kitosan = 1:1+Cap (d), dan Alginat:Kitosan = 2:1+Cap (e).

SIMPULAN

Dari hasil pengujian FTIR teramati adanya proses *crosslinking* antara gugus karboksil pada alginat yang ditandai dengan munculnya peak pada frekuensi 1620 cm^{-1} dan terjadinya ikatan ionik antara alginat dan kitosan. Hasil dari pengujian SEM menyatakan; pertama, berhasil didapatkannya *scaffold* dengan sifat porus menggunakan metode freeze drying; kedua, didapatkan pula bahwa variasi komposisi alginat dan kitosan serta penambahan karbonat apatit mempengaruhi struktur *scaffold* yang terbentuk. Komposisi alginat:kitosan=1:1 cenderung menghasilkan *scaffold* yang lebih padat dibandingkan *scaffold* dengan komposisi lainnya; ketiga, karbonat apatit yang ditambahkan teramati keberadaannya pada permukaan *scaffold*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Laurencin CT, LS. Nair, *Nanotechnology and tissue engineering: the scaffold*. CRC Press; 2008.
2. Klawitter JJ, SF Hulbert. Application of Porous Ceramics for The Attachment of Load Bearing Internal Orthopedic Applications. *Journal of Biomedical Materials Research* 2004; 5 (6): 161–229.
3. Draget KI, O Smidsrød, G Skjåk-Bræk. Alginates from Algae. in *Biopolymers Online* Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2005.
4. Kim SK, *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives: Biological Activities and Applications*. CRC Press; 2011.
5. Gleeson JP, NA Plunkett, FJ O'Brien. Addition of Hydroxyapatite Improves Stiffness, Interconnectivity and Osteogenic Potential of a Highly Porous Collagen-Based Scaffold For Bone Tissue Regeneration. *European Cells and Materials* 2010; 20: 218–230.
6. Roeder RK, GL Converse, RJ Kane, W Yue. Hydroxyapatite-reinforced polymer biocomposites for synthetic bone substitutes. *JOM* 2008; 60 (3): 38–45.
7. Deville S, E Saiz, AP Tomsia. Freeze casting of hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2006; 27 (32): 5480–5489.
8. Kong L, Y Gao, G Lu, Y Gong, N Zhao, X Zhang. A study on the bioactivity of chitosan/nano-hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *European Polymer Journal* 2006; 42 (12): 3171–3179.
9. Linhart W, F Peters, W Lehmann, K Schwarz, AF Schilling, M Amling, JM Rueger, M Epple. Biologically and chemically optimized composites of carbonated apatite and polyglycolide as bone substitution materials. *Journal of Biomedical Materials Research* 2001; 54 (2): 162–171.
10. Ana ID. Engineering of Carbonate Apatite Bone Substitute Based on Composition-Transformation of Gypsum and Calcium Hydroxide. *Engineering* 2010; 02 (05): 344–352.
11. Li Z, HR Ramay, KD Hauch, D Xiao, M Zhang. Chitosan–alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2005; 26 (18): 3919–3928.
12. Yang S, KF Leong, Z Du, CK Chua. The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part I. *Traditional Factors* 2001; 7 (6): 679–689.
13. Chen A, D Haddad, R Wang. Analysis of Chitosan-Alginate Bone Scaffolds. Rutgers University; 2009.