

Sintesis dan Karakterisasi Komposit Hidroksiapatit/Kitosan/Alginat sebagai *Injectable Bone Substitute* (IBS)

RASMIYANTI¹, VINA AMALIA¹, DAN SONI SETIADJI¹

¹⁾ Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati Bandung, Jalan A.H Nasution No.105 Cipadung, Bandung 40614

* alamat email korespondensi: rasmiyanti23@gmail.com

Informasi Artikel	Abstrak/Abstract
<p>Kata Kunci: Osteoporosis; <i>Injectable Bone Substitute</i>; Suspensi HAp/Kitosan/Alginat; <i>Bone Filler</i></p>	<p>Kasus osteoporosis hingga menyebabkan kerusakan tulang seperti patah tulang membutuhkan pembedahan tulang melalui metode <i>autograft</i>, <i>allograft</i> dan <i>xenograft</i>. <i>Injectable Bone Substitute</i> (IBS) merupakan bahan pengisi tulang yang berupa suspensi atau pasta. Pada kasus osteoporosis dapat ditanggulangi dengan metode IBS karena dapat menyesuaikan dengan rongga tulang yang akan diisi. Salah satu bahan yang dapat dibuat dalam bentuk IBS yaitu hidroksiapatit (HAp). HAp memiliki sifat yang mirip dengan tulang, tetapi HAp mudah rapuh sehingga perlu dimodifikasi dalam bentuk komposit dengan menambahkan alginat dan kitosan untuk meningkatkan kekerasannya. Penelitian ini bertujuan untuk menyelidiki sifat-sifat komposit HAp/kitosan/alginat dalam bentuk IBS melalui uji viskositas, uji injektabilitas, uji <i>setting time</i>, dan ukuran pori. Metode yang digunakan untuk mensintesis HAp adalah sol-gel dan komposit HAp/kitosan/alginat menggunakan metode <i>ex-situ</i> dengan perbandingan rasio massa HAp:alginat:kitosan yaitu (60:10:30), (60:20:20), dan (60:30:10) melalui proses pencampuran larutan alginat dan larutan kitosan selama 120 menit. Dilanjutkan dengan pencampuran suspensi HAp ke dalam campuran larutan alginat dan kitosan selama 720 menit. Hasil pengukuran <i>X-Ray Diffraction</i> (XRD) menginformasikan sampel HAp memiliki 2θ yang mirip HAp standar JCPDS 00-034-0010 dan memiliki kristalinitas 70,86% serta didapatkan nilai rasio molar Ca/P sebesar 1,60 dari hasil pengukuran <i>X-Ray Fluorescence</i> (XRF). Nilai viskositas berkaitan dengan persentase injektabilitas yaitu 35 dPa.s sampai 41 dPa.s pada suhu ruang dan persentase injektabilitas sebesar 91,05% sampai 97,57%. Uji <i>setting time</i> di dalam substrat HAp mampu mengalami <i>setting</i> dalam waktu 3 jam 11 menit sampai 3 jam 58 menit dan mengalami penambahan berat. Pada komposisi suspensi IBS (60:20:20) mampu memperkecil ukuran pori yang ditunjukkan dengan hasil SEM dari 5,76 μm menjadi 4,28 μm.</p>
<p>Keywords: Osteoporosis; <i>Injectable Bone Substitute</i>; HAp/Chitosan/Alginate Suspension; <i>Bone Filler</i></p>	<p><i>Cases of osteoporosis to cause bone damage such as fractures require bone surgery through autograft, allograft and xenograft methods. Injectable Bone Substitute (IBS) is a bone filling material in the form of a suspension or paste. In the case of osteoporosis, the IBS method can be overcome because it can adjust to the bone cavity to be filled. One of the materials that can be made in the form of IBS is hydroxyapatite (HAp). HAp has similar properties to bone, but HAp is easily brittle, so it needs to be modified in the form of a composite by adding alginate and chitosan to increase its hardness. This study aims to investigate the properties of HAp/chitosan/alginate composites in the form of IBS through viscosity test, injectability test, setting time test, and pore size test. The method used to synthesize HAp was a sol-gel and HAp/chitosan/alginate composite using the ex-situ method with a mass ratio of HAp:chitosan:alginate (60:10:30), (60:20:20), and (60:30:10) through the process of mixing alginate solution and chitosan solution for 120 minutes. Followed by mixing the HAp suspension into a mixture of alginate and chitosan solution for 720 minutes. The results of the X-Ray Diffraction (XRD) measurement indicate that the HAp sample has 2θ which is similar to the standard HAp JCPDS 00-034-0010 and has a crystallinity of 70.86% and the Ca/P molar ratio value is 1.60 from the X-Ray Fluorescence (XRF) measurement results. The viscosity value is related to the percentage of injectability, which is 35 dPa.s to 41 dPa.s at room temperature and the percentage of injectability is 91.05% to 97.57%. The setting time test in the HAp substrate was able to experience setting within 3 hours 11 minutes to 3 hours 58 minutes and experienced weight gain. The IBS suspension composition (60:20:20) was able to reduce the pore size as indicated by the SEM results from 5.76 μm to 4.28 μm.</i></p>

PENDAHULUAN

Osteoporosis dikenal dengan penyakit tulang keropos atau dapat diartikan dengan berkurangnya kepadatan tulang. Ketika kepadatan tulang semakin berkurang maka kerapuhan tulang meningkat sehingga berpotensi mengalami patah tulang. Penyakit osteoporosis disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya bertambahnya usia dan asupan nutrisi. Osteoporosis dapat terjadi baik pada wanita maupun laki-laki. Namun, wanita memiliki peluang risiko yang lebih besar karena mengalami *menopause*. Prevalensi osteoporosis di Indonesia pada tahun 2013, pada perempuan berusia 50-70 tahun dan usia >70 tahun berturut-turut 23% dan 53% [1]. Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar oleh badan penelitian pada tahun 2018, tercatat angka kejadian patah tulang di Indonesia sebanyak 5,5% [2]. Oleh karena itu, untuk mengatasi masalah osteoporosis dibutuhkan *bone filler* untuk mengisi celah-celah tulang yaitu dengan *Injectable Bone Substitute* (IBS).

IBS adalah suatu material pengganti tulang yang dapat diinjeksikan, khususnya pada tulang yang osteoporosis. Terdapat dua jenis tipe IBS, yaitu IBS yang mengandung semen hidrolis ionik yang dapat mengeras secara *in vivo* setelah diinjeksikan dan IBS yang mengandung suspensi [3]. *Injectable system* memiliki kelebihan yaitu dapat dibentuk sesuai dengan bentuk rongga tulang yang akan diisi dan material dalam bentuk *injectable* bersifat steril dan siap pakai [4]. Bahan dalam bentuk IBS harus bersifat osteokonduktif dan memiliki kekuatan mekanik yang baik [5]. Salah satu material yang dapat dibentuk menjadi IBS adalah hidroksiapatit.

Hidroksiapatit (HAp) merupakan senyawa kelompok mineral apatit dengan rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ yang paling sering digunakan karena merupakan unsur anorganik utama penyusun tulang. Sekitar 65% fraksi mineral di dalam tulang tersusun atas hidroksiapatit [6]. Struktur kristalnya adalah heksagonal, dan komposisi penyusunnya yang ideal adalah Ca 39,9% dan P 18,5% dengan perbandingan kalsium-fosfat dengan nilai rasio Ca/P sebesar 1,67 [7] yang merupakan spesifikasi yang dikehendaki untuk bahan implan [8]. Beberapa metode yang dapat digunakan untuk mensintesis hidroksiapatit yaitu metode presipitasi, metode hidrotermal, dan metode sol-gel [9]. Metode sol-gel dalam proses sintesis hidroksiapatit memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan metode sintesis lainnya. metode sol-gel akan

membentuk bubuk hidroksiapatit yang berukuran nano, stabil, homogen, dan dilakukan pada suhu rendah [10]. Selain itu, memiliki bioaktivitas yang lebih tinggi karena ion kristal dan karbonat yang lemah dalam kisi kristalnya [11]. Hidroksiapatit memiliki beberapa karakteristik, yaitu bioaktif, biokompatibel, osteokonduktif, tidak toksik, dan tidak imunogenik [12]. Namun HAp memiliki beberapa kekurangan yaitu rapuh, tahananannya yang rendah, dan memiliki laju resorpsi yang sangat lambat. Jika digunakan sendiri, hidroksiapatit tidak memiliki kekuatan mekanik dan tidak tahan terhadap tekanan. Oleh karena itu, dibutuhkan bahan lain untuk menghilangkan kekurangan itu. Hidroksiapatit banyak dibuat menjadi komposit dengan material alam seperti kitosan untuk mengatasi sifat rapuhnya. Sifatnya yang biokompatibel, toksisitas rendah, dan antibakteri [13] menjadikan kitosan memenuhi persyaratan untuk digunakan sebagai pengganti tulang. Kitosan dapat didegradasi oleh enzim dalam tubuh manusia dan hasil degradasinya tidak beracun [14].

Mohammed *et al* (2017), menyebutkan bahwa penambahan kitosan menyebabkan sifat degradasi dan kekuatan ikatan akan berkurang [15]. Polimer alginat yang memiliki karakteristik mekanik dan biokompatibilitas yang baik dapat digunakan untuk meningkatkan kemampuan komposit. Selain itu, polimer alginat dapat meningkatkan kekuatan ikatan Ca dari komposit melalui kation divalen.

Aufan *et al* (2012) menyintesis *scaffold* alginat-kitosan-karbonat apatit sebagai *bone graft* dengan melakukan variasi perbandingan massa alginat dan kitosan yaitu 100% alginat, 2:1, 1:1, 1:2, dan 100% kitosan untuk mengetahui struktur *scaffold* yang terbentuk [16].

Berdasarkan uraian di atas, dilakukan penelitian mengenai sintesis hidroksiapatit dengan menggunakan metode sol-gel dan mengomposkannya dengan kitosan dan alginat dalam bentuk suspensi IBS. Penelitian sebelumnya membuat komposit dalam bentuk *scaffold* dan penelitian ini membuat komposit dalam bentuk suspensi IBS karena belum dilakukan pada penelitian sebelumnya. Kemudian suspensi IBS yang terbentuk akan dilakukan uji viskositas, uji injektabilitas, uji *setting time* dan uji SEM.

EKSPERIMEN

Penelitian ini terdapat 4 tahapan prosedur yang dilakukan yaitu : (1) sintesis hidroksiapatit (HAp) menggunakan metode sol-gel [11], (2)

sintesis komposit HAp/kitosan/alginate menggunakan metode *ex-situ* [17], (3) analisis karakterisasi HAp dengan XRD dan XRF, substrat HAp berpori sebelum dan setelah *setting time* dengan SEM, serta (4) pengujian komposit IBS HAp/kitosan/alginate meliputi uji viskositas, *setting time*, injektabilitas.

Material

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (Merck), H_3PO_4 (85% Merck), etanol (96%), NH_4OH (25% Merck), Natrium alginate (*pro analys*), kitosan (*pro analys*), CH_3COOH (*pro analys*), PBS (*Phosphate Buffer Saline*), kertas saring, dan akuades.

Instrumentasi

Instrumen yang digunakan terdiri atas *X-Ray Diffraction* (XRD) *PANalytical X'Pert High Score* untuk mengetahui struktur kristal dan fasa, *X-Ray Fluorescence* (XRF) *Quant'X Rh 50kV Hitachi SDD NE WideMon* untuk mengetahui kandungan unsur yang terdapat dari HAp, dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) *JSM-6360* untuk menentukan ukuran pori substrat HAp sebelum dan setelah *setting time*.

Prosedur

Sintesis hidroksiapatit (HAp)

Sebanyak 1,85 gram $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ditimbang dan dilarutkan dengan *milli-Q water* sebanyak 25 mL. 1,011 mL larutan H_3PO_4 disiapkan dan dilarutkan dengan 25 mL *milli-Q water*. Larutan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dicampurkan dengan menambahkan larutan H_3PO_4 tetes demi tetes dengan pengaduk magnet pada kecepatan 350 rpm dengan suhu 60°C selama 30 menit. Ditambahkan larutan NH_4OH hingga pH menjadi 11, kemudian dilakukan penuaan selama 24 jam [11]. Gel yang terbentuk dicuci dengan akuades hangat dan dilanjutkan pengeringan pada suhu 105°C selama 6 jam. Gel kering dihaluskan kemudian dikalsinasi pada suhu 900°C selama 4 jam [18].

Sintesis komposit HAp/kitosan/alginate

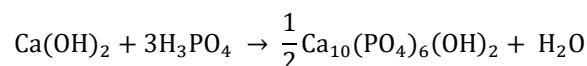
Natrium alginate dilarutkan dengan PBS 50 mL pada suhu 40°C dengan kecepatan 300 rpm selama 2 jam. kitosan dilarutkan dengan asam asetat 2% 50 mL selama 2 jam pada suhu 40°C dengan kecepatan 300 rpm. Hidroksiapatit disuspensikan

dengan akuades sebanyak 50 mL dengan pemanasan 40°C dengan kecepatan 300 rpm selama 2 jam. larutan kitosan ditambahkan tetes demi tetes ke dalam larutan alginate dengan pemanasan 40°C dengan kecepatan 300 rpm selama 2 jam. Setelah bercampur, suspensi hidroksiapatit ditambahkan ke dalam campuran tersebut tetes demi tetes dan diaduk selama 12 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis Hidroksiapatit (HAp)

Prekursor yang digunakan dalam sintesis ini yaitu kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) dan asam fosfat (H_3PO_4). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Binnaz (2016) menyatakan bahwa struktur $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ pada prekursor ini menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil dan memiliki luas permukaan yang lebih besar dibandingkan dengan prekursor yang lain seperti CaO dan H_3PO_4 , serta $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ dan $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Sedangkan untuk prekursor $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dan H_3PO_4 hanya menghasilkan produk samping berupa air saja sehingga tidak berbahaya [19].



Jika dibandingkan dengan prekursor CaO dan H_3PO_4 , prekursor $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dan H_3PO_4 hanya menghasilkan fasa sekunder lebih sedikit yaitu CaHPO_4 . Selanjutnya prekursor $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dan H_3PO_4 dilarutkan dengan *milli-Q water*. Tahapan proses sol-gel terbagi menjadi 4 tahap yaitu hidrolisis, kondensasi, penuaan, dan pengeringan [20].

Pada proses pencampuran $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dan H_3PO_4 dapat disebut sol. Rentang suhu pada saat penambahan H_3PO_4 terhadap $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dapat dilakukan pada rentang suhu 25°C hingga 100°C . Suhu yang dipilih yaitu sebesar 60°C karena pada suhu ini struktur heksagonal seperti tulang pada hidroksiapatit dapat terbentuk dan untuk memaksimalkan proses pembentukan kristal. Penambahan NH_4OH pada pH 11 bertujuan untuk menciptakan suasana basa hal ini dikarenakan senyawa hidroksiapatit memiliki kandungan OH^- serta hidroksiapatit akan terbentuk secara optimum pada rentang pH 9-12. Pada sintesis ini pH 11 yang dipilih karena kemurnian hidroksiapatit bergantung pada pH yang digunakan. Semakin tinggi nilai pH maka akan sedikit pembentukan fasa kalsit atau pengotor [21]. Dipilihnya NH_4OH sebagai agen pembasa ialah dikarenakan NH_4OH sisa dapat dengan

mudah dihilangkan pada saat proses kalsinasi dalam padatan hidroksiapatit hasil sintesis. Pada proses ini dapat disebut sebagai tahap hidrolisis pada metode sol-gel, yakni saat terjadinya pelarutan logam prekursor oleh pelarut menghasilkan sol koloid.

Setelah sol terbentuk dilakukan proses penuaan selama 24 jam agar terbentuk gel. Proses penuaan dilakukan selama 24 jam, karena berdasarkan penelitian sebelumnya hidroksiapatit yang disintesis dengan waktu penuaan 12 jam berpotensi menghasilkan fasa sekunder berupa CaO [22]. Waktu penuaan selama 4,8 dan 12 jam menghasilkan hidroksiapatit yang bertransformasi menjadi β -TCP dan CaO. Sedangkan hidroksiapatit dengan proses penuaan selama 24 jam, *octacalcium phosphate* (OCP) dapat bertransformasi secara signifikan menjadi hidroksiapatit [23]. Juga tidak mengalami dekomposisi menjadi fasa tidak murni lainnya [24]. Oleh karena itu, waktu penuaan selama 24 jam dianggap sebagai waktu optimal dalam pembentukan hidroksiapatit murni.

Proses pencucian pada gel menggunakan akuades hangat (40-45°C) dikarenakan akuades hangat memiliki potensi lebih besar dalam melarutkan zat pengotor. Tujuan proses pencucian gel juga untuk menetralkan gel yang sebelumnya dalam suasana basa. NH₄OH digunakan dalam proses sintesis ini karena berfungsi sebagai pengontrol pH. Akuades akan melarutkan senyawa NH₄OH karena senyawa ini mudah larut dalam air, tetapi akuades tidak akan melarutkan hidroksiapatit karena hidroksiapatit tidak dapat larut dalam air.

Proses pengeringan menggunakan oven pada suhu 105°C bertujuan agar zat organik yang memiliki potensi sebagai zat pengotor akan menguap sehingga yang tersisa hanya zat anorganik yaitu hidroksiapatit. Hidroksiapatit yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan lumpang alu dan dilanjutkan dengan kalsinasi pada suhu 950°C selama 4 jam. proses kalsinasi ini dilakukan Selama 4 jam yang bertujuan agar zat organik yang masih tersisa Ketika proses pengeringan dapat tereliminasi [25]. Suhu kalsinasi yang dipilih yaitu sebesar 950°C karena suhu ini dianggap dapat menghasilkan rasio molar Ca/P hidroksiapatit yang mendekati rasio molar Ca/P hidroksiapatit standar pada jaringan keras makhluk hidup. Rasio molar Ca/P didapatkan sebesar 1,60. Rasio Ca/P yang dihasilkan kurang dari rasio molar HAp standar, hal ini disebabkan karena terjadinya ketidakstabilan antara unsur Ca dan P saat

peningkatan suhu kalsinasi. Rasio molar 1,60 tidak termasuk ke dalam rasio Ca/P yang berbahaya. Rasio molar Ca/P yang beracun untuk jaringan keras dan kaku pada tubuh manusia nilainya mendekati 0,3 sedangkan nilai rasio yang beracun untuk jaringan lunak pada tubuh manusia yang mendekati 0,5 [24].

Berdasarkan hasil pengolahan data XRD menggunakan perangkat lunak origin, kristalinitas hidroksiapatit didapatkan sebesar 70,86%. Hasil yang didapatkan dapat dikategorikan memiliki hasil yang baik karena mampu menyumbangkan sekitar 70% fasa mineral tulang, serta memiliki peran penting dalam aplikasi rekayasa jaringan tulang karena bentuk dari kristalografi yang mirip dengan mineral dari tulang alami dan non toksisitas sehingga cocok digunakan untuk regenerasi tulang.

Sintesis Komposit HAp/Kitosan/Alginat

Dalam pembuatan komposit HAp/kitosan/alginat dilakukan pembuatan larutan dari masing-masing sampel tersebut. Pembuatan larutan kitosan dengan menggunakan asam asetat 2% karena konsentrasi 2% dapat menghasilkan kelarutan yang paling baik [26]. Pembuatan larutan alginat dengan menggunakan *Phosfat Buffer Saline* (PBS) karena bersifat kompatibel untuk dijadikan implan dalam tubuh manusia. Pembuatan suspensi hidroksiapatit dilakukan dengan menambahkan akuades yang bertujuan agar dapat bercampur secara homogen ketika dicampurkan dengan larutan kitosan [27]. Penambahan alginat pada komposit berfungsi sebagai pengental sehingga dapat meningkatkan nilai viskositas karena pada alginat terdapat gugus COOH yang menyebabkan alginat mudah membentuk gel karena terjadi ikatan ionik antara gugus COOH pada alginat dengan gugus Ca²⁺ pada HAp [28]. Gel alginat bersifat anionik sehingga sel sulit terikat langsung karena tidak ada absorpsi protein pada gel alginat sehingga membutuhkan molekul lain yang bersifat kationik yang bertujuan untuk mengikat molekul alginat [29]. Molekul yang bersifat kationik yaitu kitosan. Pada komposit ini ditambahkan kitosan karena memiliki sifat kationik yang dapat meningkatkan perlekatan sel [30]. Metode yang digunakan dalam komposit HAp/kitosan/alginat menggunakan metode *ex-situ*. Metode *ex-situ* merupakan metode pencampuran dengan membentuk sampel utama terlebih dahulu sebelum dikompositkan dengan bahan lain. Pada penelitian ini, sampel utama yang digunakan yaitu hidroksiapatit dengan membuat

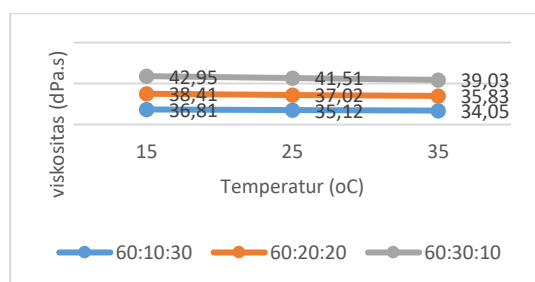
menjadi suspensi hidroksiapatit dan larutan alginat kitosan merupakan polimer yang ditambahkan. Metode *ex-situ* digunakan dalam penelitian ini karena memiliki persen kemurnian yang lebih tinggi dikarenakan sampel utama telah terbentuk [17].

Larutan alginat dan larutan kitosan dicampurkan dengan cara penambahan larutan kitosan tetes demi tetes ke dalam larutan alginat agar ion Ca^{2+} dapat berdifusi ke dalam larutan kitosan sehingga akan terjadi interaksi ikatan silang antara ion Ca^{2+} dengan $-\text{NH}_2$ pada kitosan [31]. Selanjutnya ditambahkan suspensi hidroksiapatit ke dalam campuran tersebut tetes demi tetes agar hidroksiapatit dapat terdistribusi secara merata dan homogen pada matriks alginat-kitosan.

Pencampuran ini dilakukan pada suhu 40°C dengan kecepatan 300 rpm yang bertujuan agar dapat menurunkan sineresis gel yang terjadi pada rantai polimer alginat dan kitosan sehingga tidak terlalu membentuk gel. Hal ini berkaitan dengan viskositas komposit yang dihasilkan agar komposit dapat diaplikasikan/diinjeksikan pada tulang. Dengan proses pemanasan akan terjadi pemutusan rantai polimer [32].

Pengujian Viskositas

Hasil uji viskositas dari tiga suspensi IBS dengan tiga variasi suhu yaitu 15°C , 25°C , dan 35°C ditunjukkan pada **Gambar 1**. Uji viskositas pada temperatur 15°C dilakukan untuk mengetahui nilai viskositas suspensi IBS ketika disimpan dalam lemari pendingin. Pada temperatur 25°C yang mendekati temperatur ruang dilakukan untuk mengetahui nilai viskositas suspensi IBS yang akan diinjeksikan pada substrat HAp sebagai media injeksi pada tulang yang osteoporosis. Pada temperatur 35°C yang mendekati temperatur tubuh dilakukan untuk mengetahui nilai viskositas suspensi IBS yang telah diinjeksikan pada substrat HAp atau tulang osteoporosis [33].



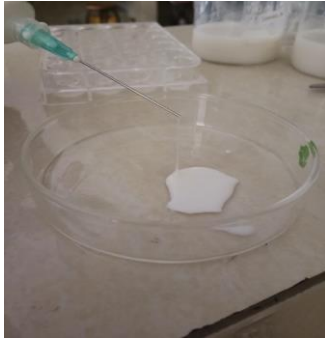
Gambar 1. perbandingan variasi suhu terhadap nilai viskositas

Semua nilai viskositas suspensi IBS pada variasi suhu 15°C , 25°C , dan 35°C bersifat *applicable*. Nilai suspensi IBS jika di atas 40 dPa.s, maka akan dihasilkan viskositas yang lebih kental. Hal ini menjadikan suspensi hanya akan mampu mengalir ke area yang terbatas sehingga dibutuhkan penekanan agar dapat menembus ke dalam pori-pori tulang osteoporosis atau tulang yang rusak, sehingga nilai viskositas lebih dari 40 dPa.s akan menghambat proses injeksi. Sedangkan jika nilai suspensi IBS dibawah 40 dPa.s maka akan menghasilkan nilai viskositas yang lebih encer sehingga suspensi akan mengalir ke area yang lebih luas dan tak terbatas sehingga tidak memerlukan penekanan pada daerah yang diinjeksi [33]. Adanya perbedaan nilai viskositas setelah suhu dinaikkan. Viskositas pada suhu 15°C menunjukkan viskositas lebih besar dibandingkan dengan suhu 25°C dan 35°C . Hal ini dapat dijelaskan bahwa semakin tinggi suhu maka viskositas akan semakin kecil. Ketika temperatur ditingkatkan maka akan mengurangi kohesi molekuler sehingga nilai viskositas akan semakin kecil [34]. Viskositas zat cair berbanding lurus dengan lamanya waktu alir dari zat cair tersebut. Semakin kecil viskositas zat cair maka waktu alir zat tersebut akan semakin kecil. Sebaliknya, semakin besar viskositas zat cair maka semakin besar pula waktu alir zat cair tersebut [35]. Viskositas berbanding terbalik dengan suhu. Berdasarkan hasil penelitian lubis (2007), menyatakan bahwa suhu dapat mempengaruhi laju hantaran kalor hidrolis. Hal ini dipengaruhi oleh perubahan viskositas zat cair. Ketika suhu diturunkan viskositas akan meningkat sehingga laju hantaran hidrolis ikut menurun [36]. Selain itu, disebabkan karena gerakan suatu partikel cairan yang semakin lambat ketika suhu diturunkan [37].

Uji Injektabilitas

Semua suspensi IBS memiliki injektabilitas yang cukup baik yaitu lebih dari 90%. Berdasarkan hasil uji, suspensi IBS memiliki persen injektabilitas yaitu sebesar 91,05 %, 92,44 %, dan 97,57 %. Hal ini menunjukkan bahwa suspensi IBS memiliki kemampuan aliran serta kebebasan dalam penyumbatan di dalam pori ketika dilakukan proses injeksi sehingga akan mempermudah ahli medis dalam melakukan proses injeksi pada tulang osteoporosis. Uji injektabilitas ini dapat dibuktikan dengan uji viskositas yang telah dilakukan bahwa semakin besar viskositas komposit maka persen

injektabilitas semakin kecil dan semakin kecil viskositas maka persen injektabilitasnya besar. Pada komposisi alginat yang lebih banyak



Gambar 2. Uji injektabilitas

menyebabkan persen injektabilitas menurun, hal ini berkaitan dengan panjang rantai polimer dan berat molekul menentukan nilai viskositas alginat. Semakin besar berat molekul semakin Panjang rantai dan semakin besar pula nilai viskositasnya [38].

Uji Setting Time

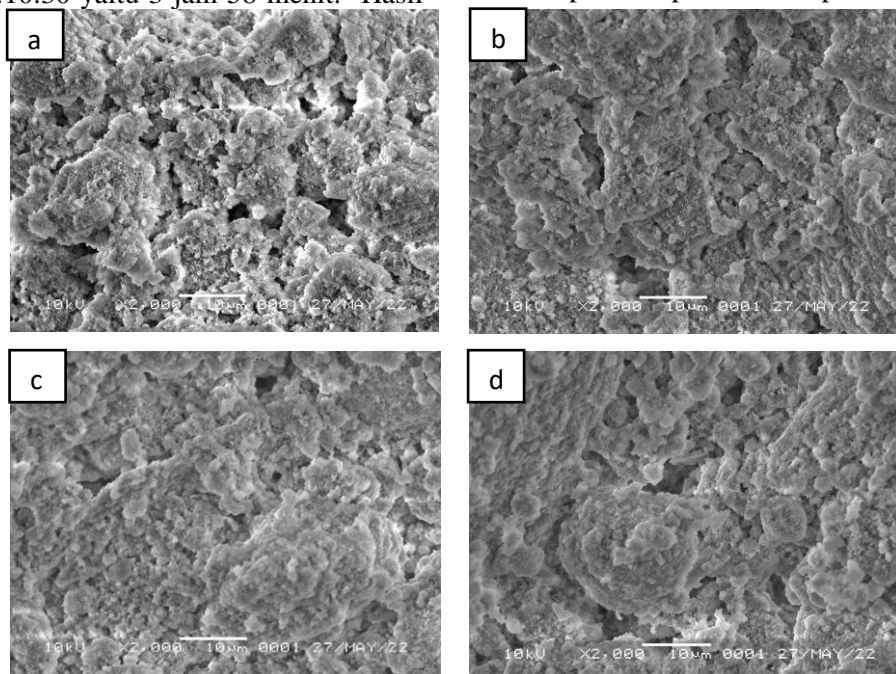
Berdasarkan data **Tabel 1**, waktu pengerasan lebih cepat didapatkan pada komposisi 60:30:10 yaitu 3 jam 11 menit dan terlama pada komposisi 60:10:30 yaitu 3 jam 58 menit. Hasil

ini jauh lebih baik dibandingkan dengan penelitian Putra (2014), dalam penelitiannya suspensi IBS mampu mengalami pengerasan dalam waktu 6 jam pada substrat HAp-kolagen. Sampel suspensi IBS dengan komposisi alginat lebih banyak memiliki waktu pengerasan yang lebih singkat. Hal ini berkaitan dengan fungsi alginat yaitu sebagai matriks yang mampu berinteraksi serta berikatan dengan ion Ca^{2+} yang terdapat pada IBS [3].

Tabel 1. Perbandingan variasi komposisi suspensi IBS terhadap lamanya waktu setting

Variasi komposisi berat HAp/kitosan/alginat	Lamanya waktu (t) pengerasan suspensi IBS
60:30:10	3 jam 58 menit
60:20:20	3 jam 32 menit
60:10:30	3 jam 11 menit

Perbedaan komposisi menunjukkan perbedaan selisih berat. Semakin banyak komposisi alginat yang digunakan maka berat massa setelah *setting* bertambah. Hal ini berhubungan dengan fungsi alginat sebagai perekat yaitu tempat pijakan HAp mampu mengikat HAp tulang dengan HAp dari IBS. Pertambahan berat ini menunjukkan bahwa komposit suspensi IBS dapat mengatasi



Gambar 3. a) Substrat HAp sebelum *setting time*, substrat HAp setelah *setting time* dengan variasi komposisi HAp/kitosan/alginat b) 60:30:10; c) 60:20:20; dan d) 60:10:30

kekurangan mineral pada tulang sehingga akan mempermudah dalam proses penyembuhan penyakit osteoporosis.

Ukuran pori setelah *setting time* pada komposisi 60:30:10, 60:20:20, dan 60:10:30 memiliki ukuran pori rata-rata sebesar 15,68 μm , 4,28 μm , dan 12,93 μm . Pada **Gambar 3**, variasi komposisi suspensi IBS mempengaruhi ukuran pori permukaan. Komposisi suspensi IBS HAp/kitosan/alginate dengan perbandingan 60:10:30 menunjukkan ukuran pori yang lebih besar dibandingkan dengan variasi 60:20:20. Hal ini dipengaruhi oleh penambahan kitosan yang lebih banyak yang mengakibatkan ukuran pori menjadi lebih besar. Hal ini sesuai dengan penelitian Wei *et al* (2022) bahwa meningkatnya komposisi kitosan dalam suspensi IBS dapat menyebabkan ukuran pori permukaan substrat HAp semakin besar [39]. Penambahan bobot kitosan dapat mengurangi interkoneksi pori sehingga ukuran pori akan semakin besar [40]. Komposisi alginate dan kitosan berhubungan dengan keporosan suatu permukaan sampel. Semakin besar komposisi alginate dan kitosan yang digunakan, maka dapat memperbesar ukuran pori sehingga permukaan semakin porous. Hal ini berkaitan dengan penggunaan komposisi alginate dan kitosan yang sebanding (1:1) akan membentuk ikatan ionik sehingga menyebabkan permukaan menjadi lebih padat. Ikatan ionik ini terjadi karena adanya ikatan antara gugus karboksil (-COO) pada alginate yang bermuatan negatif dan adanya gugus amina (-NH₂) pada kitosan yang bermuatan positif [41].

SIMPULAN

Hidroksiapatit telah berhasil disintesis dengan menggunakan metode sol-gel. Hasil sintesis menunjukkan bahwa hidroksiapatit memiliki fasa heksagonal dengan kristalinitas 70,86% dan nilai rasio molar Ca/P 1,60. Komposit HAp/kitosan/alginate dapat dibuat dalam bentuk IBS dengan metode *ex-situ* untuk aplikasi defek tulang akibat osteoporosis. Berdasarkan hasil uji viskositas, semakin banyak massa alginate pada komposit IBS maka viskositas semakin besar dan dapat menurunkan % injektabilitas. Pada hasil SEM, semakin banyak massa kitosan yang digunakan dalam komposit maka dapat memperbesar ukuran pori. Pada komposisi 60:20:20 dapat memperkecil ukuran pori karena adanya ikatan ionik antara gugus karboksil (-

COO) pada alginate yang berikatan dengangugus amina (-NH₂) pada kitosan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ucapkan terimakasih kepada Lab. Saintek UIN Bandung yang telah memfasilitasi melakukan penelitian ini dan tak lupa penulis ucapkan terimakasih kepada pembimbing yang telah mendukung penelitian ini dengan memberikan dukungan moril maupun materil.

REFERENSI

- [1] Kementerian Kesehatan. RI, "Situasi osteoporosis di Indonesia," 2013.
- [2] Riset. Kesehatan Daerah, *Data Kejadian Fraktur di Indonesia*, 2018.
- [3] Alfian. P. Putra, "Sintesis dan Karakterisasi Suspensi Komposit Hidroksiapatit-Gelatin dengan Penambahan Alendronate sebagai Injectable Bone Substitute.," dalam *Universitas Airlangga*, Surabaya, 2014.
- [4] Warastuti. Yessy dan B. Abbas, "Synthesis and Characterization of Irradiated Injectable Bone Substitute Paste Based on Hydroxyapatite," *A Scientific Journal for the Applications of Isotopes and Radiation*, vol. 7, no. 2, 2011.
- [5] W. Pierre, O. Gauthier, J.-M. Bouler, G. Grimandi dan G. Daculsi, "Injectable Bone Substitute Using A Hydrophilic Polymer," *Faculte de Chirurgie Dentaire*, 2007.
- [6] Petit. R, "The use of hydroxyapatite in orthopedic surgery: A ten-year review," *European Journal of Orthopedic surgery & Traumatology*, 1999.
- [7] Siswanto, Dyah. Hikmawati dan M. Hariyanto, "Synthesis of hydroxyapatite based on coral Banyuwangi using sol-gel method: observe the effect of calcination temperature on its phase and crystallinity," dalam *Journal of Physics: Conference Series*, Surabaya, 2019.
- [8] Rana, Masud.A, "Extraction of Hydroxyapatite from Bovine and Human Cortical Bone by Thermal Decomposition and Effect of Gamma Radiation: A comparative Study," *International Journal of Complementary & Alternative Medicine*, vol. 8, no. 00263, 2018.
- [9] A. Biedrzycka, S. Ewa dan M. H. Urban, "Hydroxyapatite with Magnetic Core :

- Synthesis Methods, Properties, Adsorption and Medical Applications,," *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 291, 2021.
- [10] Luo. Yan, Li. Wen, Wang. Fu dan Zou. Jing, "Synthesis and Characterization of Flourine Substituted Hydroxyapatite Powder by Polyacrylamida-gel Method," *Adv Mater Res*, Vol. %1 dari %2152-153, pp. 1305-1308, 2011.
- [11] Turk. S. et. al, "Effect of Solution and Calcination Time on Sol-Gel Synthesis of Hydroxyapatite," *J. Bionic Eng*, vol. 16, no. 8, pp. 311-318, 2019.
- [12] Nayak dan K. A, "Hydroxyapatite synthesis methodologies: An overview," *International Journal of ChemThech Reasearch*, vol. 2, no. 2, pp. 903-907, 2010.
- [13] Sugita dan Y, "Pengaruh Konsentrasi Kitosan terhadap aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar(sumur)," *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, vol. 13, no. 2, pp. 117-125, 2008.
- [14] Kumar. "A Review of Chitin and Chitosan Application," *Reactive and Functional Polymers*, vol. 46, no. 1, pp. 1-27, 2000.
- [15] Mohammed. M, S. J dan W. K, "An Overview of Chitosan Nanoparticles and Its Application in Non-Parenteral Drug Delivery," *Pharmaceutic*, vol. 9, no. 4, p. 53, 2017.
- [16] M. R. Aufan, dan P. S. B, "Sintesis Scaffold Alginat-Kitosan-Karbonat Apatit sebagai Bone Graft Menggunakan Metode Freeze Drying," *Jurnal Biofisika*, vol. 8, no. 1, pp. 16-24, 2012.
- [17] Sari, Edi Cahyaningrum dan Herdyastuti, Nuniek, "Pengembangan Biomaterial kolagen hidroksiapatit kitosan untuk restorasi jaringan tulang(bone graft)," *Uniiversitas Negeri Surabaya Nopember*, 2017.
- [18] Matthew Bilton, "Comparison of Hydrothermal and Sol-Gel Synthesis of Nano-Particulate Hydroxyapatite by Characterisation at the Bulk and Particle Level," *Journal of Inorganic Non-metallic Materials*, vol. 2, pp. 1-10, 2012.
- [19] H. Yoruc, "sonochemical synthesis of hydroxyapatite nanoparticles with different precursor reagents," *proceedings of the international congress on advances in applied physics and materials science*, 2016.
- [20] Catauro M, Bollino F dan Papale F, "Biocompatibility improvement of titanium implants by coating with hybrid materials synthesized by sol-gel technique," *journal of biomedical materials research part A*, vol. 102, 2014.
- [21] Othman Radzali, "effect of calcium precursors and pH on the precipitation of carbonated hydroxyapatite," *procedia chemistry*.
- [22] Lia Anggraeni, Santi Perawati, Fitri Diana dan Deny sutrisno, "pengaruh variasi perbandingan mol Ca/P pada hidroksiapatit berpori tulang ikan tenggiri(*Scomberomorus guttatus*)," *Jurnal farmasi higea*, vol. 12, 2020.
- [23] Piningsih AC, Wardhani S dan Darjito, "Biokeramik hidroksiapatit (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂) dari limbah tulang sapi menggunakan metode sol-gel," *kimia student journal*, vol. 1, no. 2, pp. 203-209, 2014.
- [24] Park Joon dan Lakes R.S, *biomaterials an introduction*, new york: Springer, 2007.
- [25] Liu Huinan, Yazici Hilal, Ergun Celaletdin, Webster Thomas J, dan Bermek Hakan, "An in vitro evaluation of the Ca/P ration for the cytocompatibility of anno-to-micron particulate calcium phosphates for bone regeneration," *acta biomaterials*, 2008.
- [26] Wiyarsi A, Priyambodo E, "Pengaruh konsentrasi kitosan dari cangkang udang terhadap efisiensi penyerapan logam berat," *skripsi*, 2012.
- [27] Yildirim, "preparation and characterization of chitosan/calcium phosphate based composite iomaterials," *Thesis*, 2004.
- [28] Teng. S, "Science and the effect of alginate addition on the structure and morphology of hydroxyapatite/gelatin nanocomposites," *Compos sci technol*, vol. 66, pp. 1532-8, 2006.
- [29] Rinaudo. M, "Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials polym Int," vol. 57, pp. 397-430, 2008.
- [30] Han J, Zhou Z, Yin R, Yang D, Nie J, "Alginate-chitosan/hydroxyapatite polyelectrolyte complex porous scaffolds: preparation and characterization," *Int J Biol Macromol*, vol. 46, pp. 199-205, 2010.

- [31] Ceng. et. al, “the chemically crosslinked metal-complexed chitosans for comparative adsorptions of Cu(II), Zn(II), Ni(II) and Pb(II) ions in aqueous medium,” *J Hazard Mater*, 2009.
- [32] Subaryono, “modifikasi alginat dan pemanfaatan produknya,” *squalen*, vol. 5, no. 1, 2010.
- [33] Dyah. Hikmawati, Siswanto dan Linda Atika Dewi, “Analisis Termal suspensi injectable bone substitute (IBS) berbasis komposit hidroksiapatit dan gelatin,” *Universitas airlangga*, 2015.
- [34] Olson. R, Dasar-dasar mekanika fluida edisi kelima, jakarta: PT.Gramedia Pustaka Utama, 1993.
- [35] Oktabella Regina, Hendar Sudrajad , dan Dina Syaflita, “measurement of viscosity uses an alternative viscometer,” *Jurnal geliga sanis*, vol. 6, no. 2, pp. 127-132, 2018.
- [36] Lubis. K. Sari, “Apliksi suhu dan aliran panas tanah,” 2007.
- [37] Kasli dan Putri, “Pengaruh suhu terhadap viskositas minyak goreng,” *prosiding seminar nasional MIPA III*, 2017.
- [38] M. DJ, Production, properties and uses of alginates Chapter 2, Rome: FAO, 1987.
- [39] Wei, L.; Tan, J.; Li, L.; Wang, H.; Liu, S.; Chen, J.; Weng, Y.; dan Liu, “chitosan/alginate hydrogel dressing loaded FGF/VE-Chadherin to accelerate full-thickness skin regeneration and more normal skin repairs,” *Int.J. Mol sci*, vol. 23, p. 1249, 2022.
- [40] Setyanto Tri Wahyudi, Parmita Aulia, Nur Aisyah Nuzulia. Setia Utami Dewi, “sintesis scaffolds hidroksiapatit berpori berbasis cangkang telur dan kitosan dengan metode sol-gel,” dalam *prosiding seminar hasil-hasil penelitian IPB*, Bogor, 2012.
- [41] Li Z, HR Ramay, KD Hauch, D Xiao, dan M Zhang, “chitosan-alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering,” *biomaterials*, vol. 26, no. 18, pp. 3919-3928, 2005.