

## PENGARUH MOLAR RASIO TETRACALCIUM PHOSPHATE DAN DICALCIUM PHOSPHATE DAN PENAMBAHAN CHITOSAN SEBAGAI GELLING AGENT DALAM SINTESIS PASTA CALCIUM PHOSPHATE CEMENT

Purwasasmita, B.S.,<sup>1</sup> Lestari, G.M.,<sup>2</sup> Prastomo, N.,<sup>1</sup> dan Edwin, F.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departemen Fisika Teknik, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Bandung,

<sup>2</sup>Program Studi Teknik Material, Fakultas Teknik Mesin dan Dirgantara,  
Institut Teknologi Bandung,

<sup>3</sup>Balai Besar Keramik, Departemen Perindustrian  
E-mail: purwa@tf.itb.ac.id

### ABSTRAK

*Bone cement* berbasis *calcium phosphate* banyak digunakan dalam aplikasi kedokteran karena memiliki *in-situ-setting ability*, *osteoconductivity*, dan *bone-replacement capability* yang baik. Akan tetapi, *calcium phosphate cement* memiliki keterbatasan yaitu *setting time* yang lama, mudah *washout*, dan memiliki *strength* yang rendah. Oleh karena itu, pada studi ini penulis mencoba memodifikasi sifat dari *calcium phosphate cement* tersebut dengan memodifikasi molar rasio *tetracalcium phosphate* (TTCP) dan *dicalcium phosphate* (DCPA), dan menambahkan *chitosan* sebagai *gelling agent*. Modifikasi molar rasio bertujuan untuk menurunkan *setting time*, sedangkan penambahan *chitosan* bertujuan untuk meningkatkan *washout resistance*, mempercepat pertumbuhan apatit dan mempercepat *setting time*. Modifikasi molar rasio *tetracalcium phosphate* (TTCP) dan *dicalcium phosphate* (DCPA) dari 1:1 menjadi 1:2 menunjukkan penurunan *setting time* yang signifikan dari 30 menit menjadi 12 menit untuk sampel tanpa penambahan *chitosan*, dan untuk sampel dengan penambahan *chitosan* terjadi penurunan *setting time* dari 28 menit menjadi 8 menit. Penambahan *chitosan* terbukti efektif mempercepat *setting time* sekitar 2-4 menit, mempercepat pertumbuhan apatit dan dapat meningkatkan *washout resistance* semua sampel.

Kata kunci: *Tetracalcium phosphate* (TTCP); *dicalcium phosphate* (DCPA); *calcium phosphate cement*; *chitosan*; *washout*.

### EFFECT OF TETRACALCIUM PHOSPHATE AND DICALCIUM PHOSPHATE MOLAR RATIO AND ADDITION OF CHITOSAN AS GELLING AGENT ON SYNTHESIS OF CALCIUM PHOSPHATE CEMENT PASTE

### ABSTRACT

Bone cement based on calcium phosphate recently used in many medical applications because it has good in-situ setting ability, good osteoconductivity, and perfect bone-replacement capability. However, calcium phosphate cement has many limitations, such as long setting time, low washout resistance, and low mechanical strength. Based on that limitation, modification of molar ratio of tetracalcium phosphate (TTCP) and dicalcium phosphate (DCPA) as main components of calcium phosphate cement and the addition of chitosan as gelling agent were conducted. Molar ratio of tetracalcium phosphate (TTCP) dan dicalcium phosphate (DCPA) was modified from 1:1 to 1:2 to accelerate the setting time and chitosan was used to increase washout resistance and accelerate the apatite growth and the setting process. Modification of molar ratio of tetracalcium phosphate (TTCP) and dicalcium phosphate (DCPA) reduced setting time from 30 to 12 minutes for sampel without chitosan addition and reduced setting time from 28 to 8 minutes for sampel with chitosan addition. Addition of chitosan also accelerated the setting time from 2 to 4 minutes, accelerate the apatite growth and improved washout resistance for all samples

Key words: *Tetracalcium phosphate* (TTCP); *dicalcium phosphate* (DCPA); *calcium phosphate cement*; *chitosan*; *washout*.

## PENDAHULUAN

Kebutuhan terhadap penggunaan biomaterial di dunia, setiap tahunnya meningkat. Berdasarkan laporan dari *Joint European Commission/ ETP Nanomedicine Expert* pada akhir tahun 2009, pasar biomaterial dunia telah mencapai nilai 39,6 miliar USD pada tahun 2006 dan pada tahun 2009 berada pada nilai 47 miliar USD. Diperkirakan nilai pasar dari biomaterial akan terus meningkat mencapai nilai 65 miliar USD di tahun 2015 dan 113 miliar USD di tahun 2025. Peningkatan kebutuhan biomaterial tersebut dapat disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain: tingginya tingkat kecelakaan kerja, tingginya jumlah kecelakaan lalu lintas, meningkatnya jumlah penderita kerapuhan tulang, hingga banyaknya jumlah cacat bawaan sejak lahir, seperti: kifosis, skoliosis, kerusakan organ tubuh, hingga polio.

Untuk memenuhi kebutuhan tersebut diperlukan jenis material baru yang memiliki kemampuan yang lebih baik. Beberapa jenis biomaterial keramik baik yang dense ataupun yang berpori telah terbukti memiliki *osteoconductivity* yang baik, yaitu kemampuan untuk menjadi media pertumbuhan sel-sel pembentuk tulang. Tetapi keramik-keramik tersebut tidak dapat atau sulit dibentuk selama proses pengaplikasiannya. Solusi ini terpecahkan dengan ditemukannya *bone cement* dengan basis *polymethyl-methacrylate* (PMMA).

Kelebihan *bone cement* dengan basis PMMA adalah kemampuannya yang mudah dibentuk sehingga dapat menghasilkan bentuk yang rumit sekalipun, selain itu juga dapat berfungsi sebagai filler (Hirayama *et al.*, 2008; Chow, 2001). Sedangkan PMMA dipilih sebagai material *bone cement* karena memiliki sifat *biocompatibility* yang paling baik diantara jenis material polimer lainnya. Namun *bone cement* berbasis PMMA memiliki keterbatasan, yaitu tidak memiliki sifat *bone-bonding* karena pada PMMA tidak terdapat lapisan *apatite* yang dapat menghasilkan pengikat tulang.

Penelitian mengenai *bone cement* terus berkembang untuk memperbaiki limitasi

*bone cement* dengan basis PMMA, hingga akhirnya pada sekitar tahun 1980 Brown-Chow menemukan *bone cement* dengan basis *calcium-phosphate* yang merupakan dua komponen dasar penyusun tulang, yang lebih dikenal dengan *calcium phosphate cement* (CPC). Bahan dasar yang digunakan oleh Brown-Chow dalam pembuatan *calcium phosphate cement* merupakan campuran dari *tetracalcium phosphate* (TTCP,  $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ ) dan *dicalcium phosphate* (DCPA,  $\text{CaHPO}_4$ ) dengan perbandingan molar yang sama (equimolar) yang kemudian dilarutkan dengan aqua dm sehingga terbentuk pasta yang akan menghasilkan *hydroxyapatite* (HAp),  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  dengan cepat (Hirayama *et al.*, 2008; Chow, 2001; Xu *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 2005).

Kelebihan dari CPC adalah kemampuan *self-hardeningnya*, selain itu CPC yang juga *osteoconductive*, *biocompatible*, *injectable*, *bioresorbable* dan *moldable* membuat CPC menjadi material yang unik untuk memperbaiki tulang yang rusak (Chow, 2001). Sifat *nonztoxic* dan *non-carcinogenic* membuat pemakaian CPC lebih disarankan daripada *bone cement* berbasis PMMA (Manoj, 2003). Tetapi jenis *cement* CPC memiliki keterbatasan, yaitu tidak dapat menahan beban yang tinggi karena memiliki kekuatan mekanik yang rendah sehingga tidak dapat diaplikasikan pada tulang-tulang panjang. Selain itu, CPC memiliki *setting time* yang cukup lama yaitu sekitar 20 menit sehingga dibutuhkan waktu yang cukup lama pada pengaplikasiannya (Vollmer *et al.*, 2008).

Berbagai studi mengenai CPC terus dikembangkan untuk memperbaiki sifat-sifatnya, yang bertujuan untuk menurunkan kegetasan dan kekakuan, meningkatkan jumlah porositas dan *macropores*, mempercepat *setting time*, meningkatkan strength, meningkat kan kemudahan pembentukan lapisan *apatite*, dan memperbaiki morfologi. Salah satu studi menunjukkan bahwa jumlah porositas atau fraksi volume dapat ditingkatkan dengan menurunkan perbandingan TTCP dan DCPA, tetapi penambahan molaritas DCPA ini akan menurunkan *strength* dan kemudahan konversi CPC menjadi HAp (Hirayama *et al.*, 2008).

Atas dasar latar belakang tersebut, pada percobaan ini *chitosan* yang berfungsi sebagai *gelling agent* ditambahkan untuk yang dapat meningkatkan kekuatan mekanik (Cheng, 1997), menurunkan kegetasan dan kekakuan (Takagi *et al.*, 1999; Xu *et al.*, 2002), meningkatkan ketahanan *washout*, dan menurunkan *setting time* (Xu *et al.*, 2005). Pemilihan *chitosan* sebagai *gelling agent* disebabkan *chitosan* merupakan *biopolimer* natural yang terbukti efektif meningkatkan kekuatan material (Xu *et al.*, 2002) dan memiliki *biocompatibility* yang baik. Selain itu *chitosan* juga memiliki gugus  $\text{NH}_2$  yang mudah bereaksi di dalam tubuh.

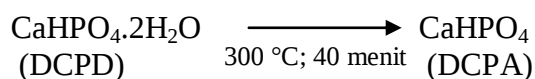
Tujuan penelitian ini diantaranya; melakukan sintesis HAp pada semen tulang berbasis *calcium-phosphate*; melihat pengaruh penambahan *chitosan* terhadap *setting time*, *wasout resistance*, dan pertumbuhan *apatite*; melihat pengaruh perbedaan rasio molar TTCP dan DCPA terhadap *setting time*, jumlah HAp yang terbentuk, dan *washout resistance*; dan melihat pengaruh lama perendaman terhadap jumlah HAp yang terbentuk.

## BAHAN DAN METODE

### Langkah-langkah percobaan

#### Sintesis DCPA

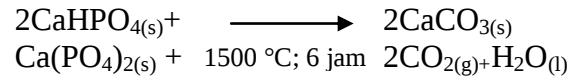
DCPA tidak terdapat di pasaran. Sehingga, untuk mensintesis DCPA dapat digunakan *dicalcium phosphate dehydrate* (DCPD) yang kemudian dibakar di dalam tungku dengan temperatur  $300^\circ\text{C}$  selama 40 menit. Tujuan pembakaran ini adalah untuk menghilangkan air kristal yang terdapat pada DCPD. Untuk lebih jelas mengenai sintesis DCPA dapat di lihat pada reaksi kesetimbangan berikut:



#### Sintesis TTCP

TTCP dihasilkan dengan mencampurkan DCPA dan  $\text{CaCO}_3$  melalui *solid state reaction* dalam kondisi *equimolar* (1:1). Campuran tersebut dipanaskan di dalam tungku dengan temperatur  $1500^\circ\text{C}$  selama 6

jam kemudian didinginkan dalam suhu ruang. Setelah temperatur turun, campuran tersebut dihancurkan dengan menggunakan mortar hingga partikelnya sangat kecil. Reaksi yang terjadi pada sintesis ini adalah:



### Penyiapan CPC

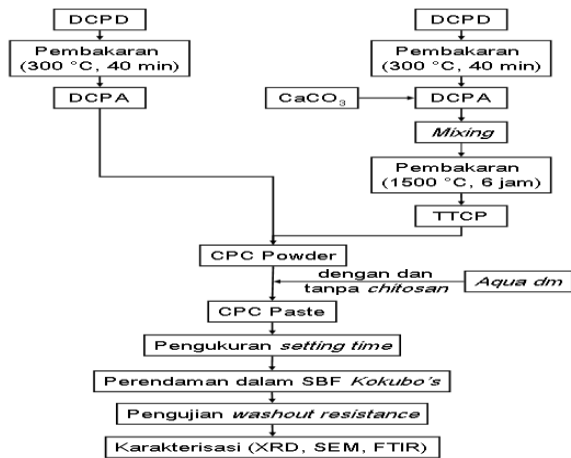
CPC dipreparasi dengan mencampurkan TTCP dan DCPA dengan rasio molar yang berbeda-beda, yaitu 1:1 dan 1:2 (Hirayama *et al.*, 2008) dengan massa total 0,3 gram.

### Penentuan Setting Time

Masing-masing CPC powder (0.3 gr) yang telah dipersiapkan sebelumnya kemudian dicampurkan dengan aqua dm yang telah dicampurkan dengan *chitosan*, dengan fraksi massa *chitosan* dalam *distilled water* sebesar 15%. Menurut studi sebelumnya 15% menunjukan fraksi massa optimal untuk menghasilkan *strength* yang tinggi (Xu *et al.*, 2002). Perbandingan rasio massa powder dengan liquid (P/L) yang digunakan pada proses pencampuran untuk masing-masing CPC adalah antara 2 dan 4,5. Berdasarkan studi yg dilakukan oleh Xu *et al.*, 2002, jika rasio P/L lebih besar dari 4.5 maka pasta akan terlalu kering untuk proses pencampuran dan pencetakan, sedangkan jika rasio P/L kurang dari 2 spesimen yang dihasilkan akan memiliki *strength* yang rendah. Selain itu, rasio ini antara 2 sampai 4,5 dengan penambahan *chitosan* menunjukan kenaikan yang signifikan pada nilai *flexural strength* dan modulus elastisitas (Xu *et al.*, 2005). Dari proses pencampuran tersebut didapat 2 jenis pasta semen, yaitu CPC dengan penambahan *chitosan* dan CPC tanpa penambahan *chitosan*.

*Setting time* didefinisikan sebagai waktu yang dibutuhkan sampel untuk berubah dari bentuk pasta ke bentuk solid. Solid di sini, didefinisikan dimana pasta sudah tidak memiliki kemampuan untuk dicetak lagi atau *moldability* nya menurun. Untuk pengujian *setting time*, pada selang waktu tertentu spesimen yang direndam kemudian diuji dengan menggunakan jarum. Peng-

ujian *setting time* ditujukan untuk melihat kemampuan spesimen untuk mengering. Jarum yang telah disediakan, ditusukan kedalam *bone cement*.



Gambar 1. Diagram alir percobaan

Parameter yang dilihat adalah adanya indentasi atau tidak. Jika terbentuk indentasi, maka spesimen tersebut belum mengering. Sedangkan jika tidak terbentuk indentasi, maka spesimen tersebut sudah mengering. Total waktu yang dibutuhkan spesimen untuk mengering itulah yang dikenal dengan *setting time*. Kemudian, hasil dari pengujian dianalisis untuk melihat apakah penambahan *chitosan* dan modifikasi rasio molar antara TTCP dan DCPA akan mempengaruhi *setting time*.

### Sintesis HAp

Proses sintesis HAp dilakukan dengan cara meletakkan sampel CPC di atas preparat glass, kemudian direndam di dalam larutan *simulated body fluid* (SBF) kokubo. Konsentrasi ion yang digunakan dalam larutan kokubo ini antara lain:

Tabel 1. Konsentrasi ion-ion pada larutan SBF kokubo

| Ion                            | Konsentrasi (mM) |
|--------------------------------|------------------|
| Na <sup>+</sup>                | 142.0            |
| K <sup>+</sup>                 | 5.0              |
| Mg <sup>+</sup>                | 1.5              |
| Ca <sup>2+</sup>               | 2.5              |
| Cl <sup>-</sup>                | 147.8            |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>  | 4.2              |
| HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | 1.0              |
| SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>  | 0.5              |

Proses perendaman dilakukan selama 1 dan 5 hari untuk mempelajari pengaruh waktu proses terhadap pembentukan HAp.

### Penentuan Washout Resistance

*Washout resistance* ditentukan dari tingkat kelarutan CPC dalam larutan SBF kokubo dan kemampuan CPC untuk mempertahankan bentuk awalnya sesuai dimensi. Tingkat kelarutan yang rendah dan bentuk akhir yang baik menunjukkan kualitas *washout resistance* yang tinggi.

### Karakterisasi Material

Struktur kristal dari sampel yang dihasilkan dianalisis dengan menggunakan metoda XRD (Philips Analytical X-Ray B.V, dengan CuK<sub>α</sub>  $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$ ). Untuk mengetahui berbagai gugus fungsi dan ikatan yang terbentuk, digunakan metoda *fourier transform infra red* (FTIR). Untuk mengetahui morfologi dan identifikasi unsur kimia dari sample yang dihasilkan dikarakterisasi dengan menggunakan *scanning electron microscopy* (SEM) dan *energy dispersive spectrometry* (EDS) (JEOL JSM-6360LA).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian *setting time* dapat dilihat pada Tabel 2.

Dari Tabel 2 dapat disimpulkan bahwa rasio molar antara TTCP dan DCPA dan penambahan *chitosan* dapat mempengaruhi lamanya *setting time*.

Tabel 2. Hasil pengujian *setting time*

| TTCP:<br>DCPA Molar<br>Rasio | Penambahan<br>Gelling Agent | Setting Time<br>(menit) |
|------------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| 1:1                          | Tanpa <i>Chitosan</i>       | 30                      |
|                              | Dengan <i>Chitosan</i>      | 28                      |
| 1:2                          | Tanpa <i>Chitosan</i>       | 12                      |
|                              | Dengan <i>Chitosan</i>      | 8                       |

### Molar Rasio TTCP dan DCPA

*Setting time* yang dibutuhkan sampel dengan molar rasio 1:2 lebih cepat dari sampel dengan molar rasio 1:1 karena molar

rasio antara TTCP dan DCPA diperkecil menjadi 1:2 jumlah DCPA pada rasio 1:2 akan lebih banyak dari DCPA pada rasio 1:1. Meningkatnya jumlah DCPA ini membuat powder pada rasio 1:2 lebih mudah terlarut didalam pelarut, yaitu: aqua dm dikarenakan DCPA memiliki kelarutan yang lebih tinggi dari TTCP pada pH=7 (netral), sehingga jumlah liquid yang dibutuhkan pada sampel dengan perbandingan molar rasio 1:2 lebih sedikit dari sampel dengan molar rasio 1:1 dan kohesivitas pada sampel dengan molar rasio 1:2 lebih tinggi dari sampel dengan molar rasio 1:1.

### Penambahan Chitosan

Penambahan *chitosan* ternyata juga dapat mempercepat proses *setting time* antara 2-4 menit karena penambahan *chitosan* pada pelarut (aqua dm) akan membuat pelarut menjadi gel. Terjadinya gelasi disebabkan ketika *chitosan* dilarutkan ke dalam aqua dm akan timbul *crosslinking* antar ikatan polimer *chitosan* atau dikenal juga dengan mekanisme sol-gel. Adanya *crosslinking* ini membuat tingkat kelarutan menjadi menurun sehingga pelarut menjadi berbentuk gel. Sehingga ketika pelarut yang ditambah *chitosan* dicampurkan dengan CPC powder, akan membuat kelarutan pasta lebih rendah dan kohesivitasnya lebih tinggi dari pasta yang tanpa menggunakan *chitosan*. Hal inilah yang membuat sampel dengan penambahan *chitosan*, *setting time*-nya lebih cepat dari sampel tanpa penambahan *chitosan*.

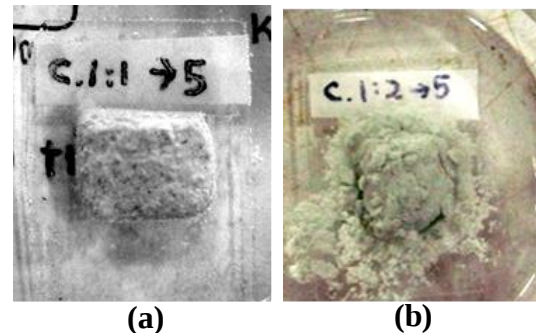
### Penentuan Washout Resistance

Tabel 3 menunjukan hasil penentuan *washout resistance* dari sampel CPC yang dipersiapkan.

Tabel 3. Hasil pengujian *washout resistance*

| TTCP :<br>DCPA<br>Rasio<br>Molar | Penambahan<br>Gelling Agent | Kelarutan | Bentuk |
|----------------------------------|-----------------------------|-----------|--------|
| 1:1                              | Tanpa<br><i>Chitosan</i>    | Sedang    | Baik   |
|                                  | Dengan<br><i>Chitosan</i>   | Rendah    | Baik   |
| 1:2                              | Tanpa<br><i>Chitosan</i>    | Sedang    | Baik   |
|                                  | Dengan<br><i>Chitosan</i>   | Sedang    | Baik   |

Dari Tabel 3, dapat dilihat bahwa modifikasi molar rasio TTCP dan DCPA dan penambahan *chitosan* mempengaruhi tingkat *washout* CPC.



Gambar 2. Perbandingan tingkat *washout* sampel. (a) dengan kualitas kelarutan yang rendah dan (b) sampel dengan kualitas kelarutan yang sedang

### Rasio Molar TTCP dan DCPA

Penambahan jumlah DCPA dengan menurunkan molar rasio antara TTCP dan DCPA dapat meningkatkan tingkat *washout* yang terjadi. DCPA memiliki tingkat kelarutan yang lebih tinggi dari TTCP sehingga dengan semakin banyaknya jumlah DCPA didalam CPC powder maka tingkat kelarutan sampel dengan jumlah DCPA yang lebih tinggi yaitu sampel dengan molar rasio 1:2 memiliki tingkat *washout* yang lebih tinggi dari sampel dengan molar rasio 1:1.

Pengaruh penambahan DCPA terhadap tingkat kelarutan terlihat jelas pada sampel pada sampel dengan penambahan *chitosan*. Sampel dengan molar rasio 1:1 memiliki ketahanan *washout* yang lebih baik dari sampel dengan molar rasio 1:2. Pada sampel dengan molar rasio 1:2 memiliki jumlah DCPA yang lebih banyak sehingga kelarutannya di dalam SBF juga lebih tinggi. Sedangkan untuk sampel tanpa *chitosan* tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

### Penambahan Chitosan

*Chitosan* adalah gelling agent, dimana ketika *chitosan* dilarutkan ke dalam aqua dm tingkat kelarutan pelarut akan turun karena adanya gelasi yang terjadi. Penurunan tingkat kelarutan ini akan membuat

pelarut dapat mengikat powder lebih baik sehingga secara keseluruhan sampel dengan penambahan *chitosan* memiliki *binding* yang lebih kuat. Hal inilah yang membuat ketika sampel dengan penambahan *chitosan* direndam di dalam SBF kokubo, sampel tersebut memiliki ketahanan terhadap *washout* yang lebih baik.

Hal tersebut terbukti dengan membandingkan sampel yang menggunakan molar rasio TTCP: DCPA 1:1. Sampel dengan penambahan *chitosan* memiliki ketahanan terhadap *washout* yang lebih baik dari sampel yang tidak ditambah dengan *chitosan* dikarenakan kelarutan sampel dengan *chitosan* yang lebih rendah dari sampel tanpa *chitosan* ketika sampel direndam di dalam SBF.

Sedangkan untuk sampel dengan menggunakan molar rasio TTCP:DCPA 1:2, masih berada di dalam klasifikasi yang sama. Tetapi secara visual, sampel tanpa *chitosan* memiliki tingkat *washout* yang lebih tinggi karena tingkat kelarutannya yang memang lebih tinggi. Sedangkan sampel dengan penambahan *chitosan* memiliki tingkat kelarutan yang lebih rendah karena penambahan *chitosan* yang berfungsi sebagai gelling agent mampu menurunkan tingkat kelarutan sampel dan meningkatkan *binding* sampel.

### Penentuan Formasi Hap

Untuk melihat pertumbuhan *apatite*, karakterisasi yang digunakan antara lain: XRD, SEM, dan EDS. Sedangkan FTIR hanyalah karakterisasi pendukung XRD untuk membuktikan bahwa *chitosan* terdapat di dalam sampel, hal ini disebabkan *chitosan* adalah *amorf* sehingga tidak dapat dikarakterisasi dengan menggunakan XRD.

### Analisis Hasil Karakterisasi XRD

Karakterisasi XRD dilakukan untuk melihat pertumbuhan *apatite* dalam suatu klasifikasi tertentu, dan bahan dasar CPC, yaitu TTCP dan DCPA. Puncak *chitosan* tidak dapat dilihat pada puncak XRD, karena amorfus. Dari hasil XRD yang dianalisis dengan menggunakan *software* X-Powder, diperoleh data, sebagai berikut:

1. *Hydroxyapatite* ditemukan pada puncak tertinggi di sekitar :32.1 , 32.9 , 34.1

2. *Tetracalcium Phosphate* ditemukan pada puncak tertinggi disekitar : 29.4 dan 29.8.

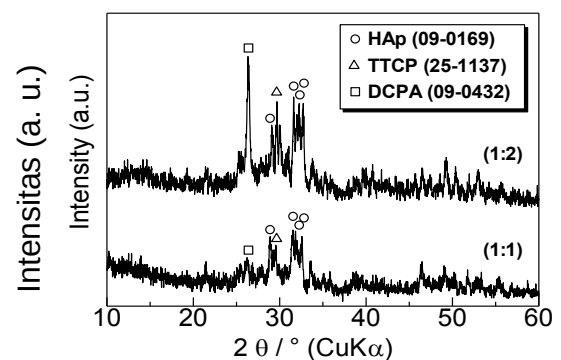
3. *Dicalcium Phosphate* ditemukan dengan puncak tertinggi disekitar : 26,2

Pada karakterisasi XRD yang dilakukan, analisis yang dibuat diklasifikasikan sebagai berikut :

1. Pengaruh modifikasi molar rasio terhadap pertumbuhan *apatite*
2. Pengaruh penambahan *chitosan* terhadap pertumbuhan *apatite*
3. Pengaruh lama perendaman terhadap pertumbuhan *apatite*

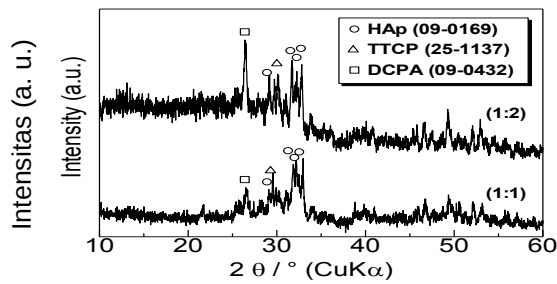
### Pengaruh Modifikasi Molar Rasio TTCP dan DCPA terhadap Pertumbuhan *Apatite*

Tanpa Penambahan *Chitosan*; Lama perendaman 1 hari



Gambar 3. Pengaruh molar rasio TTCP dan DCPA terhadap pola difraksi sinar X hydroxyapatite pada perendaman selama 1 hari

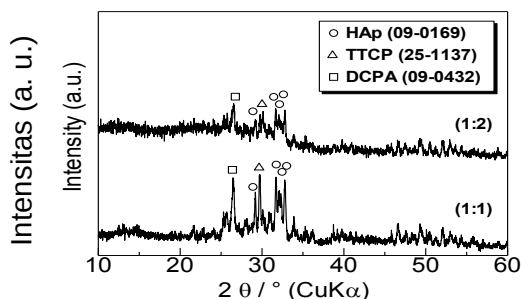
Gambar 3 memperlihatkan difraktogram dari sampel tanpa penambahan *chitosan* dengan lama perendaman 1 hari. Tampak terlihat jelas bahwa jumlah *apatite* pada sampel dengan rasio 1:2 lebih tinggi dari sampel dengan rasio 1:1. Pada rasio TTCP: DCPA 1:2 sumber salah satu penyusun *apatite* yaitu  $\text{Ca}^{2+}$  lebih banyak sehingga *apatite* yang terbentuk lebih banyak dari rasio 1:1. Selain itu tampak jelas bahwa puncak DCPA pada rasio 1:2 jauh lebih tinggi dari rasio 1:1 yang menunjukkan bahwa jumlah DCPA yang belum terurai menjadi *apatite* masih sangat banyak. Tanpa Penambahan *Chitosan*; Lama perendaman 5 hari.



Gambar 4. Pengaruh molar rasio TTCP dan DCPA terhadap pola difraksi sinar X hydroxyapatite pada perendaman selama 5 hari

Gambar 4 memperlihatkan difrakto-gram dari sample tanpa penambahan *chitosan* dengan lama perendaman 5 hari. Pertumbuhan *apatite* antara sampel dengan rasio TTCP:DCPA 1:1 dan rasio 1:2 tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Penyebabnya adalah, pertama, jumlah sampel yang mengalami *washout* lebih banyak pada hari ke-5 sehingga terdapat kemungkinan *apatite* yang sudah terbentuk di permukaan mengalami *washout*, dan ketika dikarakterisasi dengan menggunakan XRD jumlah *apatite* sedikit dari hari pertama dan seolah-olah sama dengan sampel dengan rasio 1:1.

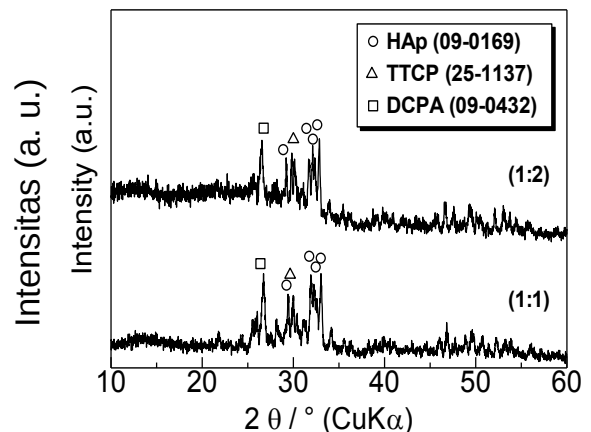
Penyebab kedua adalah kondisi SBF yang sudah tidak optimal lagi pada hari ke-5. Pada eksperimen yang dilakukan, SBF tidak diganti setiap hari. Sedangkan pada kondisi yang sebenarnya di dalam tubuh, setiap hari cairan tubuh atau darah selalu dalam keadaan fresh dan optimal. Kondisi SBF yang tidak optimal lagi inilah yang menyebabkan *supply* ion menjadi tidak optimum. Dengan Penambahan Chitosan; Lama perendaman 1 hari



Gambar 5. Pengaruh molar rasio TTCP dan DCPA terhadap pola difraksi sinar X hydroxyapatite pada perendaman selama 1 hari dengan penambahan chitosan

Gambar 5 memperlihatkan difrakto-gram dari sampel dengan penambahan *chitosan* dengan lama perendaman 1 hari. Tampak pada sampel dengan rasio TTCP:DCPA 1:2 memiliki puncak *apatite* yang lebih rendah yang disebabkan oleh tingginya tingkat *washout* pada sampel dengan 1:2.

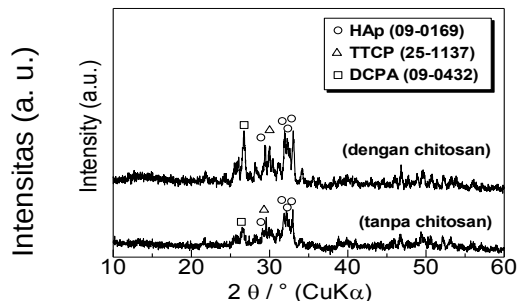
Tingginya jumlah sampel yang *washout* dapat menyebabkan lapisan *apatite* yang terbentuk pada sampel 1:2 banyak yang mengalami *washout*, sehingga jumlah *apatite*-nya lebih sedikit. Sesuai dengan data pada pengujian *washout resistance*, sampel dengan penambahan *chitosan* dengan rasio 1:1 memiliki kualitas *washout resistance* dengan kualitas terbaik. Dengan Penambahan Chitosan; Lama perendaman 5 hari



Gambar 6. Pengaruh molar rasio TTCP dan DCPA terhadap pola difraksi sinar X hydroxyapatite pada perendaman selama 5 hari dengan penambahan chitosan

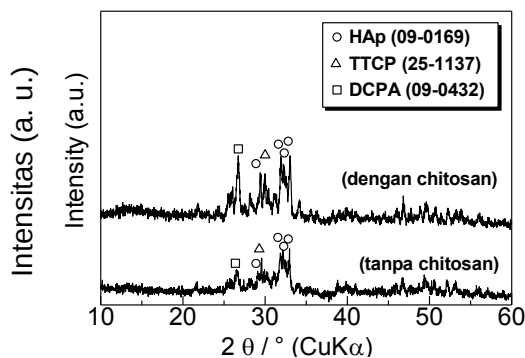
Gambar 6 memperlihatkan difrakto-gram dari sampel dengan penambahan *chitosan* dan lama perendaman 5 hari, tidak terdapat perbedaan puncak yang signifikan antara sampel dengan rasio 1:1 dan 1:2. Penyebabnya adalah tingginya jumlah sampel dengan rasio 1:2 yang mengalami *washout*, sehingga lapisan *apatite* yang sudah terbentuk di permukaan sampel terlepas dan ketika dikarakterisasi dengan menggunakan XRD jumlah *apatitenya* cenderung sama dengan sampel dengan rasio 1:1.

### Pengaruh Penambahan *Chitosan* terhadap Pertumbuhan *Apatite* 1:1; Lama Perendaman 1 hari



Gambar 7. Pengaruh penambahan chitosan terhadap pola difraksi sinar X hydroxyapatite pada perendaman selama 1 hari dengan menggunakan molar rasio TTCP dan DCPA 1:1

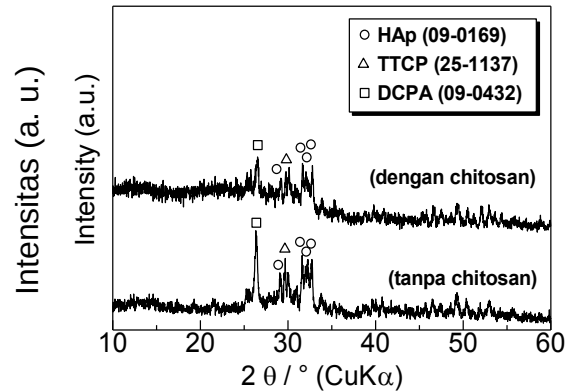
### 1:1; Lama Perendaman 5 hari



Gambar 8. Pengaruh penambahan chitosan terhadap pola difraksi sinar X hydroxyapatite pada perendaman selama satu hari dengan menggunakan molar rasio TTCP dan DCPA 1:1

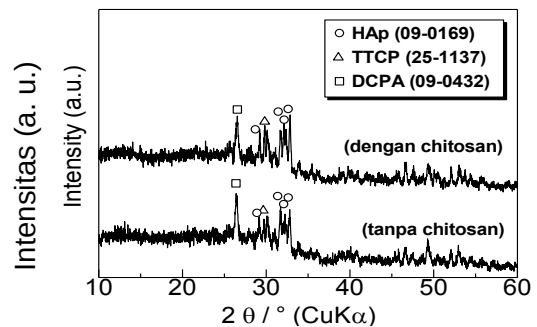
Gambar 7 dan 8 memperlihatkan di fraktogram dari sampel dengan rasio 1:1 dengan lama perendaman 1 hari dan 5 hari, dapat terlihat dengan jelas bahwa puncak *apatite* pada sampel yang ditambah dengan *chitosan* lebih tinggi dari sampel yang tanpa penambahan *chitosan*. *Chitosan* memiliki gugus  $\text{NH}_2$  dan gugus  $\text{OH}^-$  yang dapat membuat ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$  dapat dengan mudah berikatan dan membentuk lapisan *apatite*. Sehingga dengan adanya penambahan *chitosan* pada sampel, dapat mempercepat proses inisiasi terbentuknya lapisan *apatite*.

### 1:2; Lama Perendaman 1 hari



Gambar 9. Pengaruh penambahan chitosan terhadap pola difraksi sinar X hydroxyapatite pada perendaman selama 1 hari dengan menggunakan molar rasio TTCP dan DCPA 1:2

### 1:2; Lama Perendaman 5 hari



Gambar 10. Pengaruh penambahan chitosan terhadap pola difraksi sinar X hydroxyapatite pada perendaman selama 5 hari dengan menggunakan molar rasio TTCP dan DCPA 1:2

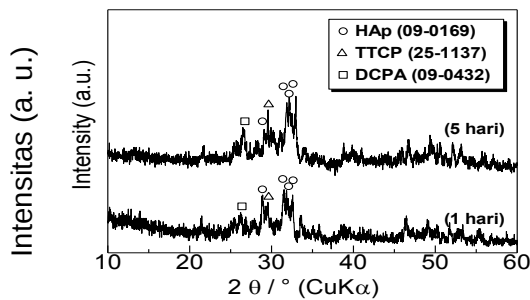
Gambar 9 dan 10 memperlihatkan di fraktogram dari sampel dengan rasio 1:2 dengan lama perendaman 1 hari dan 5 hari di atas, dapat dilihat bahwa tidak terdapat pertumbuhan *apatite* yang signifikan pada sampel yang ditambah dengan *chitosan*. Dimana tinggi puncak HAp antara sampel tanpa penambahan *chitosan* dan sampel dengan penambahan *chitosan* relatif sama. Hal ini disebabkan jumlah *chitosan* yang ditambahkan untuk menurunkan tingkat *washout* terlalu sedikit, sedangkan tingkat *washout* pada sampel dengan rasio 1:2 lebih tinggi dari sampel dengan rasio 1:1 sehingga jumlah *apatite* pada sampel yang

ditambah *chitosan* ataupun tanpa ditambahkan *chitosan* yang terbentuk relatif sama.

Walaupun penambahan *chitosan* tidak menurunkan tingkat *washout*, akan tetapi penambahan *chitosan* pada sampel dapat mempercepat pembentukan lapisan *apatite* pada hari perendaman yang sama. Hal ini dibuktikan pada hasil XRD dengan lama perendaman 1 hari, puncak DCPA dan TTCP pada sampel dengan penambahan *chitosan* lebih rendah dari sampel tanpa penambahan *chitosan*. Hal tersebut mengindikasikan bahwa konversi TTCP dan DCPA menjadi HAp pada sampel dengan penambahan *chitosan* terjadi lebih cepat dari sampel tanpa penambahan *chitosan*.

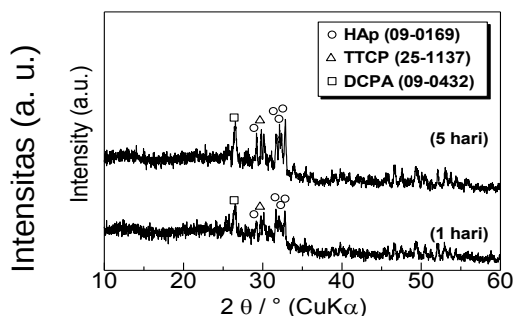
### Pengaruh Lama Perendaman terhadap Pertumbuhan *Apatite*

#### 1:1; Tanpa Penambahan *Chitosan*



Gambar 11. Pengaruh waktu perendaman pola difraksi sinar X hydroxyapatite dengan menggunakan molar rasio TTCP dan DCPA 1:1 tanpa penambahan *chitosan*

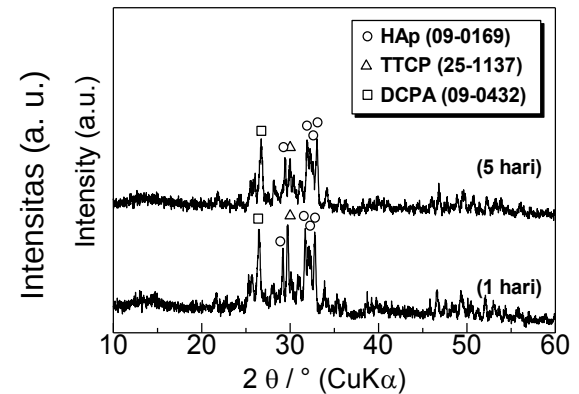
#### 1:2; dengan *Chitosan*



Gambar 12. Pengaruh waktu perendaman pola difraksi sinar X hydroxyapatite dengan menggunakan molar rasio TTCP dan DCPA 1:2 dengan penambahan *chitosan*.

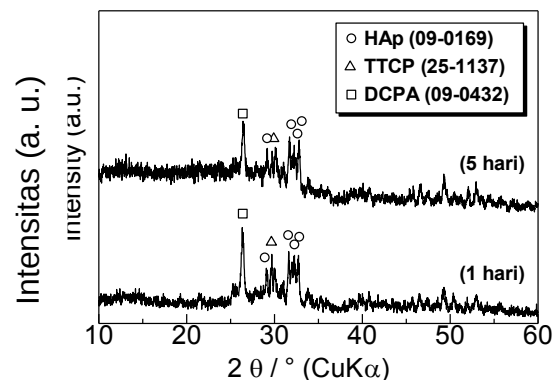
Dari hasil XRD pada gambar 11 dan 12, kita dapat melihat bahwa puncak HAp yang terbentuk, semakin tinggi pada hari ke-5. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan dan pembentukan HAp masih terjadi dengan signifikan hingga hari ke-5. Sehingga dapat disimpulkan bahwa lamanya waktu perendaman dapat memperbanyak jumlah HAp yang terbentuk.

#### 1:1; Dengan Penambahan *Chitosan*



Gambar 13. Pengaruh waktu perendaman pola difraksi sinar X hydroxyapatite dengan menggunakan molar rasio TTCP dan DCPA 1:1 dengan penambahan *chitosan*.

#### 1:2; Tanpa Penambahan *Chitosan*



Gambar 14. Pengaruh waktu perendaman pola difraksi sinar X hydroxyapatite dengan menggunakan molar rasio TTCP dan DCPA 1:2 tanpa penambahan *chitosan*

Pada gambar 13 dan 14, kita dapat melihat bahwa lamanya perendaman sampel, tidak berpengaruh secara signifikan. Hal ini

dapat disebabkan oleh kondisi SBF yang pada hari ke-5 sudah tidak optimum dikarenakan kondisinya yang sudah tidak fresh akibat tidak diganti setiap harinya. Kondisi SBF yang sudah tidak optimum ini membuat pertumbuhan *apatite* pada hari ke-5 seolah-olah tidak ada peningkatan yang signifikan sampel dengan lama perendaman 1 hari.

Penyebab lainnya yaitu *washout* masih terjadi hingga perendaman pada hari ke-5. Hal ini ditunjukkan bahwa puncak TTCP dan DCPA sampel dengan lama perendaman 5 hari cenderung lebih rendah dari sampel dengan lama perendaman 1 hari. Adanya penurunan kedua puncak ini mengindikasikan bahwa penguraian TTCP dan DCPA menjadi *apatite* masih terjadi. Tetapi jika membandingkan antara sampel dengan lama perendaman 1 hari dan sampel dengan lama perendaman 5 hari, tinggi puncak *Hydroxyapatite* cenderung sama. Hal ini menunjukkan bahwa lapisan *apatite* yang terbentuk di permukaan sampel dengan lama perendaman 5 hari telah mengalami *washout* sehingga seolah-olah tidak ada pertumbuhan lapisan *apatite* pada sampel dengan lama perendaman 5 hari.

#### Analisis Hasil Karakterisasi FTIR

Karakterisasi dengan menggunakan FTIR bertujuan untuk membuktikan bahwa *chitosan* benar-benar terdapat di dalam sampel. Sehingga hasil FTIR ini hanyalah data pelengkap dari data yang didapat dari XRD. Sampel yang dikarakterisasi adalah sampel dengan penambahan *chitosan* dengan lama perendaman 1 hari.

#### Analisis Hasil Karakterisasi SEM dan EDS

Karakterisasi dengan SEM ini bertujuan untuk melihat baik morfologi maupun jumlah *apatite* yang terbentuk. Karakterisasi dengan menggunakan SEM ini hanyalah data pendukung dari data XRD, sehingga tidak semua sampel dikarakterisasi. Mayoritas, sampel-sampel yang dipilih untuk dikarakterisasi adalah sampel dengan lama perendaman 5 hari, dikarenakan agar perbandingan lapisan *apatite* yang terbentuk

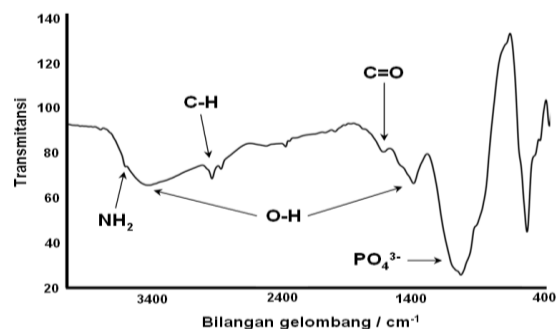
lebih jelas jika dibandingkan dengan sampel dengan lama perendaman 1 hari.

Karakterisasi EDS bertujuan untuk melihat jumlah rasio Ca/P pada lapisan *apatite*. Hal ini bertujuan untuk membuktikan bahwa lapisan *apatite* yang terbentuk adalah Hap. Pada karakterisasi SEM ada beberapa klasifikasi yang dibuat untuk mempermudah analisis. Klasifikasi tersebut antara lain:

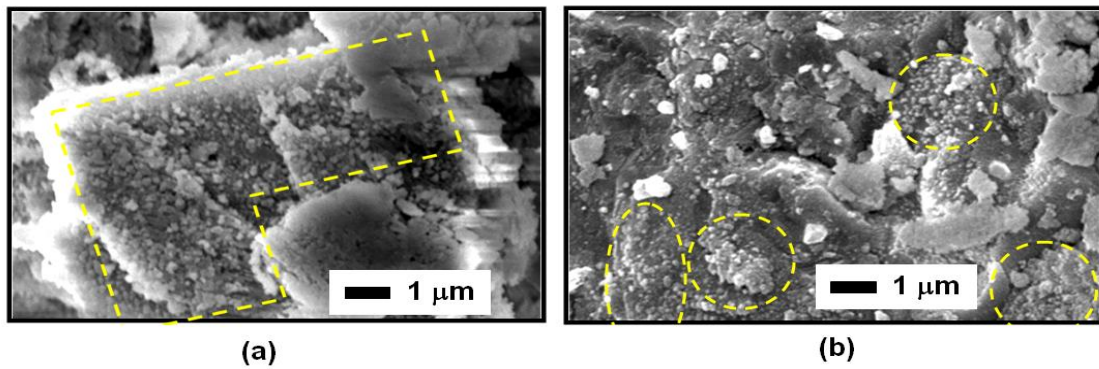
- Pengaruh modifikasi molar rasio terhadap pertumbuhan *apatite*
- Pengaruh penambahan *chitosan* terhadap pertumbuhan *apatite*
- Pengaruh lama perendaman terhadap pertumbuhan *apatite*

Gambar 16 memperlihatkan gambar mikrofotografi dari sampel tanpa penambahan *chitosan* dengan lama perendaman 5 hari. Terlihat dengan jelas bahwa pada kedua sampel ini *apatite* yang terbentuk masih berukuran sangat kecil dan masih tersebar tidak merata pada permukaan sampel. Hal ini dapat disebabkan kondisi SBF *kokubo* yang sudah tidak optimum pada hari ke-5. Selain itu bentuk *apatite* yang tersebar dapat disebabkan oleh tingginya jumlah lapisan *apatite* yang telah mengalami *washout*.

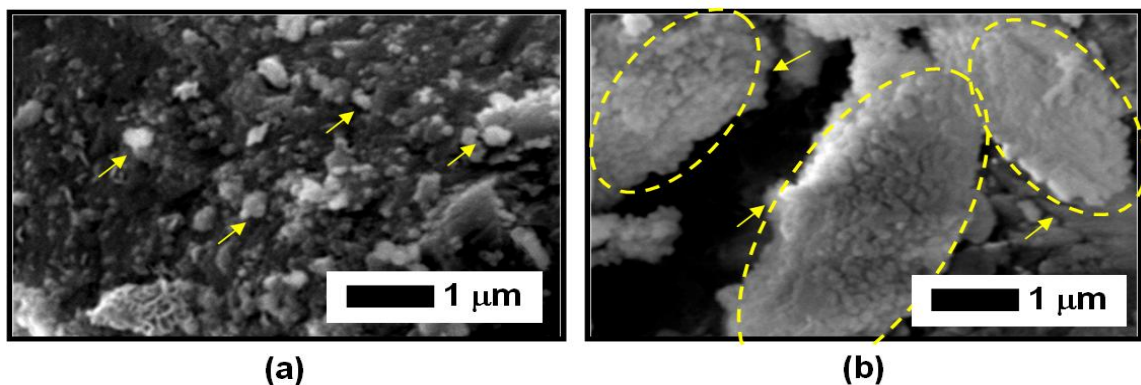
Gambar 17 menunjukkan sampel dengan rasio 1:1 dengan lama perendaman 5 hari. Dari hasil SEM di atas, dapat dilihat bahwa sampel tanpa penambahan *chitosan*, walaupun ukuran *apatite* yang terbentuk sudah lebih besar dari hari pertama, *apatite* yang terbentuk masih tersebar. Sedangkan untuk sampel dengan penambahan *chitosan*, selain ukuran *apatitenya* lebih besar *apatite* yang terbentuk sudah memenuhi seluruh permukaan sampel.



Gambar 15. Hasil karakterisasi FTIR



Gambar 16. Morfologi sampel dengan menggunakan molar rasio TTCP:DCPA (a) 1:1 dan (b) 1:2 tanpa penambahan *chitosan* pada perendaman selama 5 hari

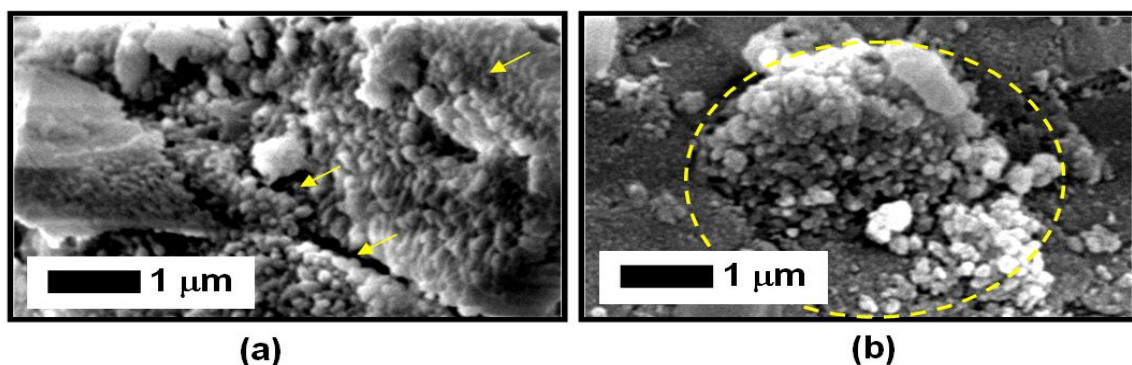


Gambar 17. Morfologi sampel dengan menggunakan molar rasio TTCP:DCPA 1:1 (a) tanpa dan (b) dengan penambahan *chitosan* pada perendaman selama 5 hari

Dari hasil karakterisasi EDS diperoleh data yaitu :

Tabel 4. Hasil karakterisasi EDS.

| Tanpa Penambahan <i>Chitosan</i> |         | Dengan Penambahan <i>Chitosan</i> |         |
|----------------------------------|---------|-----------------------------------|---------|
| Element                          | % Massa | Element                           | % Massa |
| Ca                               | 37,57   | Ca                                | 27,81   |
| P                                | 22,48   | P                                 | 20,42   |
| O                                | 39,95   | O                                 | 38,22   |
| Ca/P = 1,67                      |         | Ca/P = 1.36                       |         |



Gambar 18. Morfologi sampel dengan menggunakan molar rasio TTCP:DCPA 1:1 dengan penambahan *chitosan* pada perendaman selama (a) 1 dan (b) 5 hari

Lebih homogenya *apatite* yang terbentuk pada sampel yang menggunakan *chitosan* disebabkan oleh jumlah lapisan *apatite* yang mengalami *washout* pada sampel yang tanpa penambahan *chitosan* lebih banyak dari sampel dengan penambahan *chitosan*, ditunjukkan dengan kualitas *washout resistance* sampel dengan penambahan *chitosan* lebih baik. Sehingga dapat dibuktikan bahwa *chitosan* dapat menurunkan tingkat *washout* CPC. Selain itu penambahan *chitosan* dapat membantu pertumbuhan *apatite* lebih cepat dari sampel tanpa penambahan *chitosan* yang dibuktikan dengan banyaknya *apatite* yang terbentuk pada sampel dengan penambahan *chitosan* dan pertumbuhan lapisan *apatite* tersebut merata di seluruh permukaan sampel.

Dari Tabel 4 dapat disimpulkan bahwa sampel tanpa penambahan *chitosan* memiliki perbandingan  $Ca/P = 1,67$  sama dengan komposisi HAp, sehingga dapat dibuktikan bahwa lapisan yang dihasilkan adalah lapisan HAp. Sedangkan untuk sampel dengan sampel dengan penambahan *chitosan*, terjadi penurunan perbandingan  $Ca/P$ . Hal ini disebabkan adanya *crosslinking* akibat penambahan *chitosan* di dalam pelarut membuat fosfat yang merupakan sumber "P" memiliki ukuran partikel yang besar, sehingga susah untuk berikatan dengan  $OH^-$  dan  $Ca^{2+}$ . Inilah yang menyebabkan perbandingan  $Ca/P$  menjadi menurun.

Gambar 18 memperlihatkan gambar mikroskop dari sampel dengan penambahan *chitosan* dengan rasio 1:1 dengan lama perendaman 1 dan 5 hari. Sampel ini dipilih karena, pada karakterisasi SEM sebelumnya sampel dengan penambahan *chitosan* memiliki jumlah lapisan *apatite* yang lebih banyak, sehingga diharapkan lapisan *apatite* yang dapat terlihat akan lebih banyak.

Dari Gambar 18 dapat dilihat bahwa *apatite* pada sampel dengan lama perendaman 1 hari sudah mulai merata di permukaan, tetapi ukuran partikelnya masih sangat kecil  $\pm 0.2 \mu m$ . Selain itu lapisan *apatite* yang terbentuk, seluruhnya masih berada di atas permukaan sampel (1 lapisan).

Sedangkan pada sampel dengan lama perendaman 5 hari, *apatite* yang terbentuk berukuran lebih besar dan sudah terbentuk lapisan *apatite* yang baru di atas lapisan *apatite* sebelumnya. Hal ini dapat membuktikan bahwa lamanya perendaman berpengaruh terhadap pertumbuhan *apatite*, dimana semakin lama waktu perendaman *apatite* yang terbentuk semakin banyak dan ukurannya semakin besar. Kecepatan pertumbuhan *apatite* ini sangat baik untuk mempercepat pertumbuhan terjadinya tulang baru.

## SIMPULAN

Sintesis HAp pada CPC telah berhasil dilakukan. Dari hasil studi ini dapat disimpulkan bahwa perubahan molar rasio TTCP:DCPA dan penggunaan *chitosan* sebagai *gelling agent* berhasil memberikan pengaruh terhadap pembentukan CPC. Perubahan molar rasio TTCP:DCPA dari 1:1 menjadi 1:2 berhasil menurunkan *setting time* sampel CPC yaitu dari 30 menit menjadi 12 menit untuk sampel tanpa penambahan *chitosan*, dan untuk sampel dengan penambahan *chitosan* terjadi penurunan *setting time* dari 28 menit menjadi 8 menit. Selanjutnya, penambahan *chitosan* sebagai *gelling agent* terbukti efektif mempercepat *setting time* sekitar 2-4 menit, mempercepat pertumbuhan apatit dan dapat meningkatkan *washout resistance* semua sampel.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chow L.C, & Takagi S. A. 2001. *Natural Bone Cement-A Laboratory Novelty Led to the Development of Revolutionary New Biomaterials*. J Res. Natl. Inst. Stand. Technol. Vol.106, pp. 1029-1033
- Cherng A, Takagi S, & Chow L.C. 1997. *Effects of Hydroxypropyl methyl-cellulose and other gelling agents on the handling properties of Calcium Phosphate cement*, J. Biomed. Mater. Res. Vol.35, pp.273-277

- Hirayama S, Takagi S, & Markovic M, Chow LC. 2008. *Properties of Calcium Phosphate Cements With Different Tetracalcium Phosphate and Dicalcium Phosphate Anhydrous Molar Ratio*. J. Res.Natl. Inst. Stnd. Technol. Vol.113, pp.311-320
- Kokubo T, 2008. *Bioceramics and Their Clinical Applications*, Woodhead Publishing Limited, ISBN-13:978 1 84569 204 9, March
- Manoj K & Karma H.K. 2003. *Development of fully injectable Phosphate cement for orthopedic and dental applications*. Bull Mater Sci.Vol 26, No.4, pp. 415 - 422.Indian Academy of Science.
- Roadmaps in Nanomedicine Towards 2020*. Joint European Comission/ ETP Nanomedicine Expert.
- Takagi S, Chow L.C, Hirayama S, & Eichmiller F.C, (1999). *Properties of a non-rigid resorbable Calcium Phosphate cement*, Special Issue, abstract No. 373, J. Dent. Res. Vol.78, pp.152.
- Xu H.H.K, Quinn J.B, Takagi S, & Chow LC. 2002. *Processing and properties of a non-rigid Calcium Phosphate cement*, J. Dent.Res, in press.
- Xu H.H.K, & Carl G, Jr Simon. 2005. *Fast setting Calcium Phosphate-chitosan scaffold: mechanical properties and biocompatibility*. J biomaterial vol.26, pp. 1337-1348.
- Vollmer N, Burkes D, Moore J, & Ayers R. 2008. *Effects of Changes in Structural Hydration of multiphasic Heterogeneous Calcium Phosphate Powders Created via Auto-Ignition Combustion Synthesis*. Mater. Res. Soc. Symp. Proc. Vol. 1063.
- Yaszemski M.J, Trantolo D.J, & Lewandowski K. 2008. *Biomaterial in orthopedics*. Marcel Dekker.Inc .New york.