



TUGAS AKHIR - TL141584

**PENGARUH PENAMBAHAN KITOSAN  
TERHADAP SIFAT BIOKOMPATIBILITAS  
KOMPOSIT KITOSAN - HIDROKSIAPATIT  
TERDOPING SENG SEBAGAI KANDIDAT  
MATERIAL PENGGANTI TULANG (BONE  
SUBSTITUTE)**

NOVIHANA NOOR PRADITA  
NRP. 2712100112

Dosen Pembimbing  
Dr. Sigit Tri Wicaksono, S.Si., M.Si  
Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc

Jurusan Teknik Material dan Metalurgi  
Fakultas Teknologi Industri  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya  
2016





FINAL PROJECT - TL141584

**EFFECTS OF CHITOSAN ADDITION ON  
BIOCOMPATIBILITY PROPERTIES OF  
CHITOSAN - ZINC DOPED HYDROXYAPATITE  
COMPOSITE FOR BONE SUBSTITUTE  
MATERIAL**

NOVIHANA NOOR PRADITA  
NRP. 2712100112

Advisor  
Dr. Sigit Tri Wicaksono, S.Si., M.Si  
Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc

Material and Metallurgical Engineering Dept.  
Faculty of Industrial Technology  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya  
2016



**PENGARUH PENAMBAHAN KITOSAN TERHADAP  
SIFAT BIOKOMPATIBILITAS KOMPOSIT KITOSAN –  
HIDROKSIAPATIT TERDOPING SENG SEBAGAI  
KANDIDAT MATERIAL PENGGANTI TULANG (BONE  
SUBSTITUTE)**

**TUGAS AKHIR**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Teknik  
pada  
Bidang Studi Material Inovatif  
Program Studi S-1 Jurusan Teknik Material dan Metalurgi  
Fakultas Teknologi Industri  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

**NOVIHANA NOOR PRADITA**  
NRP 2712100112

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Dr. Sigit Tri Wicaksono, S.Si., M.Si., ..... (Pembimbing 1)

2. Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc., ..... (Pembimbing 2)



*(halaman ini sengaja dikosongkan)*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang maha Esa atas segala anugerah dan karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul :

**“Pengaruh Penambahan Kitosan Terhadap Sifat Biokompatibilitas Komposit Kitosan – Hidroksiapatit Terdoping Seng Sebagai Kandidat Material Pengganti Tulang (*Bone Substitute*)”**

Laporan tugas akhir ini disusun untuk memenuhi syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Teknik (ST) Jurusan Teknik Material dan Metalurgi Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

1. Allah SWT, atas berkat rahmat dan izin-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini;
2. Orang tua dan keluarga penulis yang senantiasa mendoakan dan menyemangati serta memberikan dukungan;
3. Dr. Agung Purniawan, S.T., M.Eng. selaku Ketua Jurusan Teknik Material dan Metalurgi FTI ITS
4. Bapak Sigit Tri Wicaksono S.Si., M.Si., Ph.D selaku dosen pembimbing tugas akhir
5. Ibu Amaliya Rasyida S.T., M.Sc. selaku co-pembimbing tugas akhir
6. Kepala Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA ITS, Ibu Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si, atas bimbingan dan diskusi mendalam mengenai bakteri;
7. Karyawan Laboratorium Inovasi Material dan Laboratorium Karakterisasi Material Jurusan Teknik Material dan Metalurgi FTI-ITS; Laboratorium Teknologi Manufaktur Politeknik Perkapalan Negeri Surabaya; Laboratorium Lingkungan LPPM ITS atas bantuannya dalam pengambilan data untuk keperluan penelitian ini

8. Serta pihak-pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu namun tidak mengurangi rasa terima kasih penulis

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan Tugas Akhir ini masih terdapat kekurangan, dibalik itu terdapat niat tulus untuk berbagi pengetahuan bagi sesama. Penulis berharap bahwa laporan ini dapat bermanfaat bagi penulis sendiri dan pembaca.

Surabaya, Juli 2016

Penulis

**Pengaruh Penambahan Kitosan Terhadap Sifat  
Biokompatibilitas Komposit Kitosan – Hidroksiapatit  
Terdoping Seng Sebagai Kandidat Material Pengganti Tulang  
(*Bone Substitute*)**

**Nama** : Novihana Noor Pradita  
**NRP** : 2712100112  
**Jurusan** : Teknik Material dan Metalurgi  
**Dosen Pembimbing** : Sigit Tri Wicaksono, S.Si., M.Si., Ph.D  
**Co Pembimbing** : Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc

**ABSTRAK**

Hidroksiapatit merupakan salah satu mineral penyusun tulang dan gigi yang sudah banyak diaplikasikan sebagai graft sintetik. Dikarenakan keterbatasan pada sifat mekaniknya, maka mulai dikembangkan Hidroksiapatit didoping Zinc (HA-Zn) untuk meningkatkan sifat tersebut. Penambahan kitosan diharapkan akan memperbaiki sifat antibakteri HA-Zn. Dalam penelitian ini akan dianalisa pengaruh persen berat kitosan terhadap sifat biokompatibilitas komposit Kitosan-HA-Zn (K/HA-Zn). Sintesis HA-Zn dilakukan menggunakan metode solgel. Pembuatan komposit K/HA-Zn dengan cara mencampur kitosan dalam asam asetat kemudian ditambahkan dengan HA-Zn. Sampel kemudian diuji menggunakan FTIR, XRD, SEM-EDAX, Uji Antibakteri, dan SBF. Pengujian biokompatibilitas menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri efektif terhadap *E.coli*. Selain itu, ditemukan lapisan apatit pada permukaan komposit menandakan bioaktifitas yang baik dengan komposisi optimal pada penambahan 10% berat kitosan.

**KATA KUNCI** : komposit, kitosan, biokompatibilitas, HA-Zn

*(halaman ini sengaja dikosongkan)*

**Effects of Chitosan Addition on Biocompatibility Properties  
of Chitosan – Zinc Doped Hydroxyapatite Composite For  
Bone Substitute Material**

**Name** : Novihana Noor Pradita  
**NRP** : 2712100112  
**Department** : Materials and Metallurgical Eng  
**Advisor** : Sigit Tri Wicaksono, S.Si., M.Si., Ph.D  
**Co-Advisor** : Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc

**ABSTRACT**

*Hydroxyapatite is one of constituent minerals of teeth and bone and already been widely used for synthetic bone graft. Due to the limitation on mechanical properties, researchers started to develop Zinc doped Hydroxyapatite (HA-Zn) to increase its mentioned properties. Addition of chitosan was expected to improve antibacterial properties of HA-Zn. The aim of the research is to analyze the effect of chitosan addition on biocompatibility properties of chitosan-HA-Zn (K/HA-Zn) composite. HA-Zn was synthesized using solgel method. K/HA-Zn composite was made by mixing chitosan in acetic acid then HA-Zn was added into the mixture. It is then characterized using XRD, FTIR, SEM-EDAX, Antibacterial testing, and SBF. Biocompatibility analysis showed that antibacterial activity was effective against E.Coli. In addition, apatite layer was seen on composite surface indicating good bioactivity with optimal composition on the addition of 10 percent weight of chitosan.*

**Keywords:** composite, chitosan, biocompatibility, HA-Zn

*(halaman ini sengaja dikosongkan)*

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	vii
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT .....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR TABEL .....	xvii
BAB I .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Batasan Masalah .....	3
1.4 Tujuan Penelitian .....	3
1.5 Manfaat Penelitian .....	3
BAB II .....	5
2.1 <i>Bone Graft</i> .....	5
2.2 Hidroksiapatit Doping Zinc (HA-Zn) .....	8
2.3 Kitosan.....	10
2.4 Komposit Kitosan – Hidroksiapatit sebagai <i>Bone Graft</i> .....	20
BAB III.....	23
3.1 Bahan-Bahan Penelitian.....	23
3.2 Alat-Alat Penelitian .....	25
3.3 Diagram Alir .....	27
3.4 Prosedur Penelitian .....	30
3.4.1 Sintesis Hidroksiapatit doping Zinc .....	30
3.4.2 Sintesis Komposit Kitosan-Hidroksiapatit Doping Zinc .....	30
3.4.3 Pengujian.....	31
BAB IV .....	35
4.1 Hasil Pengujian FTIR .....	35
4.2 Hasil Pengujian XRD .....	38
4.3 Hasil Pengujian SEM-EDAX .....	41
4.4 Hasil Pengujian Biokompatibilitas .....	44
4.4.1. Hasil Pengujian Antibakteri .....	44
4.4.2 Hasil Pengujian Simulated Body Fluid (SBF) .....	47
BAB V .....	57

5.1 Kesimpulan .....	57
5.2 Saran .....	57
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN	
BIODATA PENULIS	

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2. 1</b>	Pemulihan tulang menggunakan graft hidroksiapatit ( <i>rsif.royalpublishing.org</i> ).....	6
<b>Gambar 2. 2</b>	Struktur Kimia Kitin (Islam dkk, 2011).....	10
<b>Gambar 2. 3</b>	Struktur Kimia Kitosan (Islam dkk, 2011).....	11
<b>Gambar 2. 4</b>	Mekanisme deasetilasi kitin (Champagne. 2002) .	13
<b>Gambar 2. 5</b>	Skema perbedaan dinding sel bakteri gram positif (A) dengan bakteri gram negatif (B) (Kong. 2010) .....	18
<b>Gambar 2.6</b>	Mekanisme chelasi ion Zn pada kitosan dalam berbagai perbandingan molar (1) molar ratio CS-Zn lebih besar dari 1:1; (2) molar ratio CS-Zn sama dengan 1:1; (3)molar ratio CS-Zn kurang dari 1:1 (Wang. 2003).....	19
<b>Gambar 3. 1</b>	Diagram Alir Penelitian	28
<b>Gambar 3. 2</b>	Diagram alir sintesis HA-Zn metode solgel.....	29
<b>Gambar 4. 1</b>	Grafik hasil pengujian FTIR HA-Zn.....	35
<b>Gambar 4. 2</b>	grafik hasil pengujian FTIR kitosan.....	36
<b>Gambar 4.3</b>	Perbandingan hasil FTIR HA-Zn, Kitosan, dan Komposit K/HA-Zn .....	37
<b>Gambar 4.4</b>	Grafik hasil pengujian XRD HA doping 15%mol Zinc (Agus. 2016).....	38
<b>Gambar 4.5</b>	Perbandingan grafik hasil uji XRD untuk kelima sampel uji (Agus. 2016).....	40
<b>Gambar 4.6</b>	Hasil pengujian SEM HA-Zn dengan perbesaran 3000 x .....	41
<b>Gambar 4.7</b>	Hasil pengujian SEM (A). HA-Zn serbuk, (B). 10%K/HA-Zn, (C). 15%K/HA-Zn dan (D). 20%K/HA-Zn Dengan Perbesaran 3000 kali (Agus. 2016).....	43
<b>Gambar 4.8</b>	Hasil pengujian aktifitas antibakteri terhadap <i>E.Coli</i> dan <i>S. Aureus</i> .....	44
<b>Gambar 4.9</b>	Hasil perendaman dalam larutan SBF selama 7 hari .....	48

<b>Gambar 4.10</b> Hasil pengujian FTIR setelah perendaman dalam larutan SBF 7 hari .....	49
<b>Gambar 4.11</b> Morfologi permukaan komposit Pra (kiri) dan Pasca (Kanan) Perendaman Dalam Larutan SBF; (A) 10%K/HA-Zn90; (B) 15%K/HA-Zn85; (C) 20%K/HA-Zn.....	50
<b>Gambar 4.12</b> Hasil pengujian Zinc terlarut hari ke-7 perendaman .....	51
<b>Gambar 4.13</b> Grafik pengurangan konsentrasi ion Ca dalam fungsi persen berat kitosan.....	53
<b>Gambar 4. 14</b> Hasil pengujian morfologi SEM setelah perendaman dalam larutan SBF 7 hari: (a) sampel 10%K/HA-Zn90 perbesaran 400x dan 3000x;(b) sampel 15%K/HA-Zn85 perbesaran 1000x dan 3000x;(c) sampel 20%K/HA-Zn80 perbesaran 1000x dan 3000x.....	55

## DAFTAR TABEL

**Tabel 4.1** Konsentrasi Elemen Unsur HA-Zn Hasil Uji EDX ....42

*(halaman ini sengaja dikosongkan)*



## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Berdasarkan data di Asia, Indonesia adalah negara dengan jumlah penderita patah tulang tertinggi. Diantaranya, ada sebanyak 300 – 400 kasus operasi bedah tulang per bulan di RS Dr. Soetomo Surabaya (Gunawan dkk, 2010; Istifarah, 2012). Dengan banyaknya jumlah kasus operasi bedah tulang yang ada, maka permintaan akan material pengganti tulang pun juga tinggi. Di dunia medis dikenal tiga material pengganti tulang yakni *autograft*, *allograft*, dan *xenograft*. Setiap material tersebut memiliki kekurangan dan kelebihan sebagai material untuk memperbaiki tulang. Kelemahan *autograft* adalah sering menyebabkan komplikasi dalam penyembuhan luka, operasi tambahan, nyeri pada donor dan pasokan tulang tidak memadai untuk mengisi *gap*. Sedangkan *allograft* dan *xenograft* terkait dengan reaksi infeksi, inflamasi, dan penolakan (Wahl dan Czernuszka, 2006; Venkatesan dkk., 2010; Istifarah. 2012). Berdasarkan kelemahan tersebut dan tingginya kebutuhan *bonegraft*, maka ilmuwan mengembangkan material sintesis yang dapat diterima tubuh, memiliki sifat mekanik yang baik, mudah dimanipulasi serta dapat menjalankan 3 fungsi dasar bonegraft yakni osteogenesis, osteoinduksi, dan osteokonduktif.

Salah satu material sintesis yang aman digunakan sebagai pengganti tulang adalah Hidroksiapatit. Hidroksiapatit (HA) termasuk dalam keluarga senyawa kalsium fosfat, yang dikenal sebagai senyawa utama pembentuk tulang dan gigi. Beberapa penelitian mengenai HA menunjukkan bahwa HA mempunyai sifat biokompatibilitas dan bioaktifitas yang baik, sehingga cocok dijadikan implant untuk tulang dan gigi. Namun, kelemahan HA terletak pada kemampu-larutan yang tinggi dalam tubuh serta sifat mekanik yang berbeda dari tulang dan jaringan sekitarnya. (Bezzi dkk, 2003). Karena keterbatasan ini maka mulai dikembangkan HA didoping dengan Zinc (HA-Zn). Zinc dikenal



sebagai salah satu ion penting dalam proses pembentukan tulang. Zinc pada HA terbukti memiliki efek stimulasi pembentukan tulang secara *in vitro* dan *in vivo*, memicu metabolisme dan perkembangan tulang, meningkatkan densitas tulang, dan mencegah perapuhan tulang (Ren, 2009). Pendopongan Zinc pada HA selain meningkatkan sifat mampu-larutnya, dalam konsentrasi kecil berfungsi menjadi *micronutrient* bagi beberapa proses dalam tubuh, namun dalam konsentrasi besar dapat menjadi racun bagi tubuh (Radovanovic, 2012). Di sisi lain, kemampuan HA-Zn dalam menghambat bakteri terbukti terbatas pada bakteri gram positif seperti *Staphylococcus Aureus*, dan sangat kecil teramati pada bakteri gram negatif salah satunya adalah *Esserechia Coli* (Kim, 1998; Radovanović. 2012).

Kitosan merupakan polisakarida linear yang terdiri dari glukosamin dan N-acetil Glukosamin dengan ikatan  $\beta$  (1-4) glikosidik: dan sudah banyak diaplikasikan dalam dunia medis. Kitosan mempunyai sifat biokompatibilitas yang baik dan dapat terdegradasi dan diserap dalam tubuh menjadi senyawa yang tidak beracun. Meskipun secara mekanik kemampuan kitosan tidak terlalu baik, kitosan dikenal mempunyai aktivitas anti bakteri yang bagus terhadap beberapa bakteri, baik bakteri gram positif maupun gram negatif. Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai material *bone graft* yang mempunyai sifat HA-Zn dan Kitosan, sehingga dapat dihasilkan suatu material yang diharapkan mempunyai sifat bioaktifitas yang baik, sifat mekanik serta sifat biokompatibilitas yang tinggi.

Pada penelitian ini dilakukan sintesis dan karakterisasi pengaruh penambahan kitosan terhadap kemampuan biokompatibilitas komposit Kitosan – HA-Zn (K/HA-Zn) sebagai kandidat material pengganti tulang (*bone graft*) yang baik.



---

## 1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh persen berat Kitosan terhadap sifat biokompatibilitas dilihat dari aktivitas antibakteri dan pembentukan apatit pada komposit Kitosan - HA-Zn (K/HA-Zn) sebagai kandidat *bone substitute* ?
2. Bagaimana Perbandingan komposisi K/HA-Zn agar didapat sifat biokompatibilitas yang optimal ?

## 1.3 Batasan Masalah

Agar diperoleh hasil akhir yang baik dan sesuai dengan yang diinginkan serta tidak menyimpang dari permasalahan yang ditinjau, maka batasan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Fluktuasi temperatur dalam furnace dan oven dianggap konstan
2. Pengaruh pengotor pada zinc dan kalsium diabaikan.
3. Temperatur inkubator dianggap konstan
4. Pengaruh pelarut dan jenis agar pada uji antibakteri diabaikan.

## 1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari diadakannya penelitian ini adalah:

1. Menganalisis pengaruh persen berat kitosan terhadap sifat biokompatibilitas dilihat dari aktivitas antibakteri dan pembentukan apatit pada komposit K/HA-Zn sebagai kandidat *bone substitute*.
2. Menganalisis perbandingan komposisi K/HA-Zn agar didapat sifat biokompatibilitas yang optimal.

## 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian kali ini memiliki manfaat untuk memberikan referensi mengenai proses sintesis K/HA-Zn sebagai kandidat material pengganti tulang (*bone substitute*) yang mempunyai sifat biokompatibilitas yang baik.



*(halaman ini sengaja dikosongkan)*



---

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

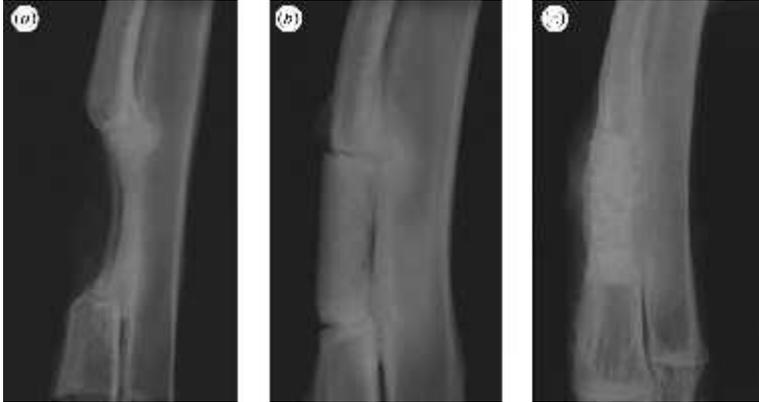
### 2.1 *Bone Graft*

Tulang merupakan salah satu bagian penting bagi tubuh manusia. Tidak hanya memberikan bentuk tubuh, tulang juga berfungsi sebagai pelindung organ vital tubuh seperti jantung dan paru-paru. Selain itu, tulang juga merupakan tempat pembentukan sel darah merah. Dalam ilmu material, tulang merupakan salah satu jenis komposit bersifat kompleks. Namun, layaknya bagian tubuh lainnya, tulang dapat mengalami cacat/defect yang disebabkan oleh penyakit, kecelakaan, ataupun anomali pertumbuhan dan perkembangan. Dalam dunia medis, cacat pada tulang ini diperbaiki prosedural yang dilakukan dengan tujuan untuk menggantikan tulang yang hilang atau cacat menggunakan bone graft atau material pengganti tulang. (Nguyen, 2012 )

Bone graft yang ideal harus memiliki beberapa sifat seperti tidak mudah larut dan harus dapat diuraikan tubuh, tidak beracun, tidak menimbulkan reaksi alergi, tidak menimbulkan reaksi inflamasi, dan yang paling penting adalah dapat menjalankan fungsi biologis sebagai pengganti tulang buatan, seperti osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis. Menurut Nguyen (2012) osteokonduksi merupakan keadaan dimana graft berfungsi sebagai scaffold atau rangka bagi sel tulang (sel osteoprogenitor). Osteoprogenitor pada daerah dimana graft di tempatkan menjadikan graft sebagai rangka atau pijakan untuk merangsang pertumbuhan dan penyebaran osteoprogenitor baru. Tahapan selanjutnya sel osteoprogenitor berdiferensiasi menjadi osteoblast yang akan memulai pertumbuhan tulang baru. Keadaan ini disebut osteoinduksi. Sel osteoblast kemudian akan tumbuh menjadi tulang baru sehingga graft dan tulang induk akan terintegrasi sepenuhnya. Agar *grafting* tulang berhasil, maka setidaknya *graft* harus dapat menjalankan salah satu dari tiga



fungsi tersebut. Salah satu contoh *bone graft* yang berhasil dapat dilihat pada gambar 2.1.



**Gambar 2. 1** Pemulihan tulang menggunakan graft hidroksiapatit ([rsif.royalpublishing.org](http://rsif.royalpublishing.org))

*Bone Graft* dapat dibedakan menjadi empat jenis berdasarkan sumbernya, yakni *autograft*, *allograft*, *xenograft*, dan *Graft* sintesis. *Autologous (Autogenous) graft* adalah jaringan yang diambil dari tubuh pasien itu sendiri. Hingga saat ini, *autograft* masih dijadikan acuan emas dalam mengembangkan material pengganti tulang yang ideal karena memiliki sifat osteokonduktif dan osteoinduktif yang baik dan merupakan sumber sel osteoprogenitor (Rosenberg dan Rose, 1988). *Autograft* mempunyai beberapa kekurangan antara lain: keterbatasan jumlah, kesulitan dalam mengambil jaringan, meningkatnya resiko infeksi, meningkatkan resiko kehilangan darah, dan menambah waktu anestesi (Coben dkk, 1994).

*Allograft* adalah jaringan tulang yang diambil dari satu pasien untuk ditransplantasikan ke pasien lainnya. *Allograft* pada umumnya didapat dari tulang mayat kemudian dibekukan, dikeringkan, dan diberi perlakuan untuk menghindari terjadinya



penularan penyakit. Tersedia beberapa jenis Allograft, diantaranya adalah *Freeze-Dried Bone Allograft* (FDBA) dan *Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft* (DFDBA) (Giannoudis PV.2005). FDBA dan DFDBA bekerja menggunakan mekanisme yang berbeda. FDBA bekerja dengan mekanisme osteokonduktif, sebuah proses dimana jaringan/*graft* tidak ikut terlibat dalam pertumbuhan tulang. *Graft* berfungsi sebagai scaffold atau rangka bagi tulang alami pasien untuk tumbuh dan berkembang pada permukaan dan di dalam *graft*. Seiring dengan berjalannya waktu, *graft* akan diserap dan digantikan dengan tulang baru (Nevins M, 2007). Sedangkan, DFDBA bekerja dengan mekanisme osteoinduktif, sebuah proses yang melibatkan sel pluripotensial di daerah sekitar tulang tepat dimana *graft* diletakkan. Sel ini nantinya akan berdiferensiasi menjadi sel pembentuk tulang. Selanjutnya *graft* akan diserap oleh tulang alami dan seluruh proses regenerasi diduga diinduksi oleh protein morfogenik tulang (BMP) dan faktor penumbuh lainnya yang dilepaskan oleh Allograft (Vaziri S. 2012).

Xenograft adalah jaringan tulang yang diambil dari spesies yang berbeda dengan pasien. Sampai sekarang dikenal dua sumber xenograft, yakni tulang yang diambil dari sapi dan koral. Salah satu contoh xenograft yang umum digunakan adalah *Bio-Oss®* (Osteohealth Co., Shirley, NY) yang dibuat dari tulang sapi yang sudah disterilkan dan komponen organik dalam tulang sudah dihilangkan. Bio-Oss tersedia di pasaran dalam Cancellous (spongiosa), butiran kortikal, dan blok. Saat ini sedang dikembangkan xenograft yang berasal dari tulang babi. Xenograft mempunyai sifat osteokonduktif, tersedia dalam jumlah banyak, serta bebas dari resiko penularan penyakit antar spesies. Namun, poin terakhir masih dalam perdebatan karena ditemukan adanya kasus *bovine spongiform encephalopathy* terutama di Inggris Raya (Nasr dkk, 1999; Nguyen, 2012)

Cara lain dalam menanggulangi cedera tulang adalah menggunakan teknik rekayasa jaringan, yakni dengan memakai pengganti tulang (*bone substitute*). Graft sintesis adalah jaringan



tulang sintetis yang bersifat biokompatibel. Graft sintetis dapat dibuat dari polimer, keramik, maupun komposit. Menurut Ashman (1992) dan Dumitrescu (2011) graft sintetis ideal harus mempunyai sifat berikut:

1. Biokompatibel
2. Mampu menjadi kerangka atau scaffold untuk pembentukan sel tulang baru
3. Dapat diserap dalam jangka panjang dan berpotensi untuk digantikan oleh tulang induk
4. Dapat dimanipulasi secara klinis
5. Hidrofilik
6. Tidak menimbulkan reaksi alergi
7. Mempunyai kuat tekan yang tinggi
8. *Microporous* dan menyediakan kekuatan tambahan untuk memperbaiki matriks tulang induk dan menjalankan fungsi perbaikan biologis
9. Dapat beradaptasi pada berbagai situasi medis (contoh trauma, kanker, dan lain-lain)
10. Tidak mendukung pertumbuhan pathogen

Graft berbasis polimer yang umum digunakan adalah poly methyl metacrylate (PMMA) dan poly hydroxyl ethyl metacrylate (PHEMA), namun layaknya polimer lain mempunyai sifat mekanik yang harus di tingkatkan agar sesuai untuk diaplikasikan sebagai bone graft (Dumiretsu. 2011). Sedangkan untuk graft yang berbahan keramik salah satunya adalah hidroksiapatit yang juga merupakan bahan utama dalam penelitian ini.

## 2.2 Hidroksiapatit Doping Zinc (HA-Zn)

Jaringan keras pada tulang manusia terdiri dari inorganic kalsium fosfat, organik kolagen, dan air. Salah satu contoh inorganic kalsium fosfat adalah hidroksiapatit. Pada tulang kortikal, Kristal kalsium hidroksiapatit (HA;  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) dapat dijumpai didalam kolagen berbentuk seperti jarum (Bhattacharjee, 2014). Beberapa dekade belakangan, peneliti berusaha mengembangkan *bone graft* sintetis berbahan dasar HA



karena kemiripannya dengan komponen penyusun tulang. Namun, penggunaan HA sintesis terbatas karena sifatnya yang getas dan tidak osteokonduktif. Salah satu cara untuk memperbaiki sifat mekanis dan osteokonduktifitas HA adalah dengan mendoping menggunakan ion metal, diantaranya adalah zinc (Ito dkk, 2002; Bhattacharjee, 2014). Mekanisme pendopingan Zinc pada HA hingga saat ini masih dalam penelitian. Ion  $Zn^{2+}$  diasumsikan menggantikan ion  $Ca^{2+}$  pada vakansi di struktur Kristal HA (Tang dkk, 2009; Matsunaga, 2010; Friederichs, 2015).

Sementara itu, penelitian mengenai aktifitas anti bakteri HA-Zn menunjukkan aktivitas anti-bakterial yang tinggi terhadap *M. Luteus* (gram positif) dan *S. Aureus* (gram positif) serta aktivitas anti-bakteri sedang terhadap *B.cereus* (Gram positif) dan *S.flexneri* (gram negatif) (Tank, 2014). Pada penelitian lain tercatat bahwa HA yang didoping dengan Zinc responsive terhadap bakteri gram negatif *Klebsilla Pneumoniae*. Kim (1988) dan Radovanović (2012) menegaskan bahwa HA-Zn mempunyai aktifitas antibakteri yang lebih tinggi terhadap *S.Aureus* dan aktivitas rendah pada *E.Coli*. Maka dapat ditarik kesimpulan bahwa aktivitas anti-bakterial HA doping Zinc bergantung pada jenis bakteri yang diujikan (C. Deepa.2013). Zinc pada HA-Zn berfungsi sebagai agen antimikroba. Mekanisme penghambatan yang terjadi

Aspek lain dalam penilaian mengenai biokompatibilitas suatu material adalah degradasi material tersebut. Dalam pengaplikasiannya, material dengan biokompatibilitas tinggi diharuskan tidak melepaskan zat berbahaya bagi sel-sel di sekitar tempat penanaman. Studi literatur sebelumnya mengenai pengaruh konsentrasi zinc pada tingkat degradasi Carbonated Hydroxyapatite (CHA) dalam larutan asam menemukan bahwa CHA murni lebih cepat terdegradasi dibandingkan dengan CHA terdoping. Hal ini disebabkan pada larutan asam, kelarutan dipengaruhi oleh ketidaksempurnaan struktur Kristal.

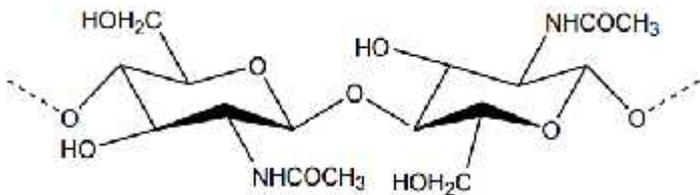


Penambahan Zinc pada CHA menurunkan ketidakteraturan struktur Kristal, memperbesar ukuran Kristal pada saat presipitasi menghasilkan *defect* struktur Kristal yang lebih kecil (Mayer. 2000). Mendukung penelitian Mayer, Pengurangan massa maksimum sebanyak 9% ditemukan pada nanoHA tanpa doping dan pengurangan massa yang tidak terlalu signifikan pada nanoHA-Zn. Terbukti dengan pendopongan ion metal mengurangi tingkat degradasi HA (Kalita. 2007).

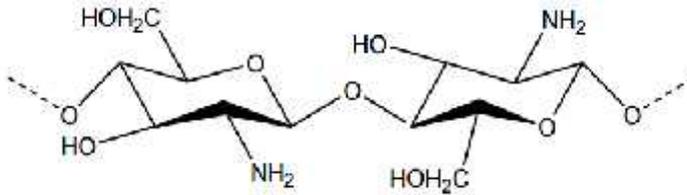
Dalam penelitian ini, HA-Zn yang digunakan disintesis menggunakan metode sol-gel. Pengamatan akan difokuskan pada kemampuan antibakteri, tingkat degradasi HA-Zn dalam larutan SBF, serta pelepasan ion  $Zn^{2+}$  di larutan SBF pasca 7 hari perendaman.

### 2.3 Kitosan

Kitosan merupakan sebuah kopolimer dari 2-glukosamin dan N-asetil-2-glukosamin dan merupakan senyawa turunan dari kitin (Chunyu Chang dkk, 2011). Struktur kimia kitosan terlihat pada **gambar 2.2**. Kitin, seperti yang terlihat pada **gambar 2.1**, adalah sebuah kopolimer residu dari 2-asetamida-deoksi-D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan  $\beta(1-4)$  merupakan komponen umum yang ditemukan pada eksoskeleton serangga, cangkang udang, dan dinding sel fungi. Serangga, seperti kupu-kupu dan kepik, juga mempunyai kitin pada sayap mereka (Islam dkk, 2011).

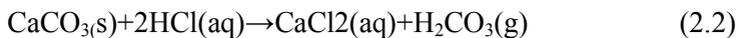


**Gambar 2. 2** Struktur Kimia Kitin (Islam dkk, 2011)



**Gambar 2. 3** Struktur Kimia Kitosan (Islam dkk, 2011)

Secara umum kitosan diproduksi melalui empat tahap: demineralisasi, deproteinasi, penghilangan warna, serta deasetilasi (Islam dkk, 2011). Proses demineralisasi ini bertujuan untuk menghilangkan garam-garam anorganik atau kandungan mineral yang ada pada kulit udang. Kandungan mineral utamanya adalah  $\text{CaCO}_3$  dan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  dalam jumlah kecil, mineral yang terkandung dalam kulit udang ini lebih mudah dipisahkan dibandingkan dengan protein karena hanya terikat secara fisik. Secara konvensional, proses demineralisasi dilakukan menggunakan asam klorida pekat. Proses yang terjadi pada tahap demineralisasi adalah mineral yang terkandung dalam kulit udang bereaksi dengan HCl sehingga terjadi pemisahan mineral dari kulit udang tersebut. Proses pemisahan mineral ditunjukkan dengan terbentuknya gas  $\text{CO}_2$  berupa gelembung udara pada saat HCl ditambahkan dalam sampel (Agustina. 2015). Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada persamaan 2.1 sampai persamaan 2.3. Pada beberapa penelitian, proses demineralisasi dilakukan setelah proses deproteinasi (Long.2013).

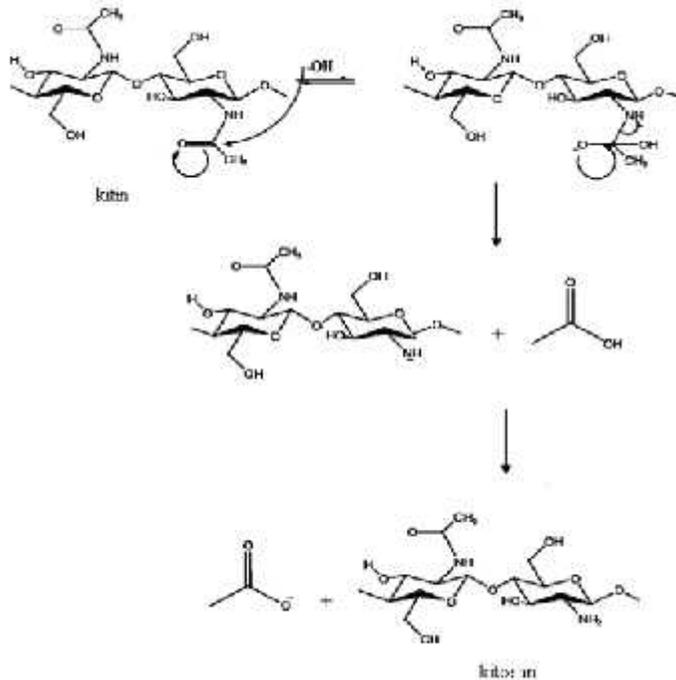


Proses deproteinasi bertujuan untuk memisahkan atau melepaskan ikatan-ikatan protein pada kulit udang. Pada tahap



deproteinasi, protein yang terkandung dalam kulit udang larut dalam basa sehingga protein yang terikat secara kovalen pada gugus fungsi kitin akan terpisah. Penggunaan larutan NaOH dengan konsentrasi dan temperatur tinggi meningkatkan efektifitas pelepasan protein. Proses pengadukan dan pemanasan bertujuan untuk mempercepat pengikatan ujung rantai protein dengan NaOH sehingga proses degradasi dan pengendapan protein berlangsung sempurna (Agustina. 2015). Hasil dari proses deproteinasi dinamakan kitin.

Proses terakhir dalam pembuatan kitosan adalah proses deasetilasi. Proses deasetilasi merupakan proses penghilangan gugus asetil ( $-\text{COCH}_3$ ) dari kitin dengan menggunakan larutan alkali agar berubah menjadi gugus amina ( $-\text{NH}_2$ ). Mekanisme deasetilasi terlihat pada **gambar 2.3**. Reaksi pembentukan kitosan dari kitin merupakan reaksi hidrolisis suatu amida oleh suatu basa. Kitin bertindak sebagai amida dan NaOH sebagai basa. Mula-mula terjadi reaksi adisi, pada proses ini gugus  $-\text{OH}$  masuk ke dalam gugus  $\text{NHCOCH}_3$  kemudian terjadi eliminasi gugus  $\text{CH}_3\text{COO}-$  sehingga dihasilkan suatu amina yaitu kitosan (Mahatmanti. 2001, Agustina.2015).



**Gambar 2. 4** Mekanisme deasetilasi kitin (Champagne. 2002)

Proses deasetilasi dipengaruhi oleh tiga faktor yakni konsentrasi  $\text{NaOH}$ , temperature reaksi, dan waktu reaksi (Tolaimatea dkk, 2003). Konsentrasi  $\text{NaOH}$  yang tinggi dapat menghasilkan kitosan dengan derajat deasetilasi yang tinggi. Selain itu, proses deasetilasi yang dilakukan secara bertahap juga terbukti dapat meningkatkan derajat deasetilasi kitosan (Champagne.2002).

Kualitas kitosan dapat diketahui dari besarnya derajat deasetilasi atau besar persen gugus asetil yang dapat dihilangkan dari kitin. Derajat deasetilasi merupakan parameter penting yang mempengaruhi kelarutan, reaktivitas kimia, dan sifat biodegradabel. Bergantung dari sumber dan prosedur preparasi, deajat deasetilasi bervariasi mulai dari 30% hingga 95% (Islam



dkk, 2011). Kitosan dengan deasetilasi sempurna 100% jarang terjadi karena gugus asetat yang berdekatan ke gugus hidroksil cis dapat mengalami deasetilasi, tetapi gugus trans lebih resisten (Suhardi, 1992). Derajat deasetilasi dapat di ketahui dengan menggunakan metode base line yang diusulkan oleh Domszy dan Rovert melalui persamaan 2.4

$$DD = 100 \left[ \left\{ \left( \frac{A_{1588}}{A_{3410}} \right) \times 100 \right\} / 1.33 \right] \quad (2.4)$$

Dimana  $A_{1588}$  dan  $A_{3410}$  adalah panjang gelombang seerapan untuk gugus amida dan gugus hidroksil (Agustina. 2015). Selain menggunakan rumus diatas, derajat deasetilasi juga dapat dilihat melalui hasil FTIR yakni dengan adanya getaran gugus amida bengkok dan gugus hidroksil (Long. 2013).

Selain dilihat dari derajat deasetilasi, kualitas kitosan juga dilihat dari karakterisasi antara lain uji kadar air, kelarutan dalam asam asetat 2%, tekstur, warna, serta uji dengan larutan ninhidrine. Kitosan dengan kandungan air yang besar tidak dikehendaki dalam pengaplikasian di berbagai bidang karena akan mempengaruhi daya tahan terhadap mikroorganismenya. Kadar air pada kitosan dipengaruhi oleh proses pada saat pengeringan, lama pengeringan, jumlah kitosan yang dikeringkan, dan luas permukaan tempat kitosan dikeringkan.

Kelarutan kitosan dalam asam asetat merupakan salah satu parameter yang dapat dijadikan sebagai standar penilaian mutu kitosan. Proses deasetilasi dalam basa kuat dan panas menyebabkan hilangnya gugus asetil pada kitin mengakibatkan kitosan bermuatan positif sehingga dapat larut dalam asam organik seperti asam asetat maupun asam formiat. Semakin tinggi kelarutan kitosan dalam asam asetat 2% menandakan kualitas kitosan yang dihasilkan semakin baik. Kelarutan diamati dengan membandingkan kejernihan larutan kitosan dengan kejernihan pelarutnya.

Pembuktian ada tidaknya gugus amina pada kitosan dilakukan dengan uji menggunakan larutan ninhidrin. Hasil uji ninhidrine kitosan menunjukkan positif yang dapat dilihat dari perubahan warna kitosan yang berwarna putih krem menjadi ungu



(Agustina. 2015). Ninhidrin merupakan zat pengoksidasi kuat yang dapat bereaksi dengan amina dari kitosan pada pH 4-8 membentuk senyawa berwarna ungu (Agustina,dkk. 2013).

Kitosan umum digunakan dalam dunia medis karena sifat anti-bakteri, bioresorbable, biokompatibel, non-toksik, non-antigenik, dan biofungsional. (Indriani, dkk. 2014). Sifat anti-bakteri yang dimiliki kitosan terbukti bekerja pada bakteri gram positif dan gram negatif termasuk diantaranya *Staphylococcus Aureus*, *Bacillus Cereus*, *Listeria Monocytogenes*, *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Shigella dysentriae*, *Vibrio Sp.*, dan *Salmonella Typhimurium* (Jiang. 2011). Secara umum, pada penelitian-penelitian sebelumnya kitosan digolongkan sebagai pembunuh bakteri (*bacteriocidal*) ataupun sebagai penghambat pertumbuhan bakteri (*bacteriostatic*). Namun, seiring dengan banyaknya penelitian yang dilakukan mengenai sifat dan mekanisme anti-bakteri kitosan, diambil kesimpulan bahwa kitosan lebih sebagai *bacteriostatic* dibandingkan *bacteriocidal* (Goy. 2009).

Aktivitas anti-bakteri kitosan dan turunannya bergantung pada beberapa faktor yang secara garis besar dapat digolongkan menjadi 4 kategori: (1) Faktor bakteri (spesies bakteri, umur bakteri); (2) Faktor Intrinsik kitosan (berat molekul, Derajat deasetilasi); (3) Faktor keadaan fisik (terlarut atau solid state); (4) Faktor lingkungan (pH, temperature) (Carvalho. 2011).

Bakteri gram positif dan bakteri gram negatif mempunyai susunan sel yang berbeda. Bakteri gram negatif memiliki membran luar yang tersusun atas lipopolisakarida (LPS) yang berfungsi sebagai permukaan hidrofilik untuk bakteri. LPS juga mempunyai grup anionik seperti karboksil dan fosfat yang berkontribusi menjaga stabilitas LPS melalui interaksi elektrostatik divalent dengan kation. Penghilangan kation oleh chelant agent mengakibatkan adanya pelepasan molekul LPS. Sementara pada dinding sel bakteri gram positif banyak tersusun atas peptidoglikan (PG) dan asam teichoic (TA). Komponen tersebut berikatan secara kovalen dengan asam N-Acetylmuramic



dari PG atau langsung tertambat pada membran sitoplasma sel melalui glikolipid (asam lipoteichoic – LTA) seperti pada gambar 2.5 yang memungkinkan untuk berikatan dengan kitosan menyebabkan disfungsi pada membran. Berangkat dari hal ini Chung (2004) mengamati bahwa aktifitas antibakteri kitosan terlihat lebih baik pada gram negatif dibandingkan dengan gram positif. Hal ini disebabkan karena komposisi dinding sel yang mengandung fosfolipid dan asam karboksilat. Dari hasil penelitiannya, disimpulkan bahwa pada kasus gram positif, diduga kitosan membentuk lapisan film di sekeliling sel sehingga menghambat penyerapan nutrisi ke dalam sel bakteri. Sementara pada kasus gram negatif, kitosan dengan berat molekul rendah lebih mudah untuk menembus dinding sel dan menyebabkan kerusakan metabolisme pada mikroorganisme (Carvalho. 2011). Namun, lebih jauh lagi perdebatan antara aktifitas antibakteri kitosan yang teramati pada bakteri gram positif dan negatif masih menjadi perdebatan. Dalam beberapa penelitian dikatakan bahwa efek lebih kuat didapatkan untuk bakteri gram positif (Goy. 2011; Raafat. 2008).

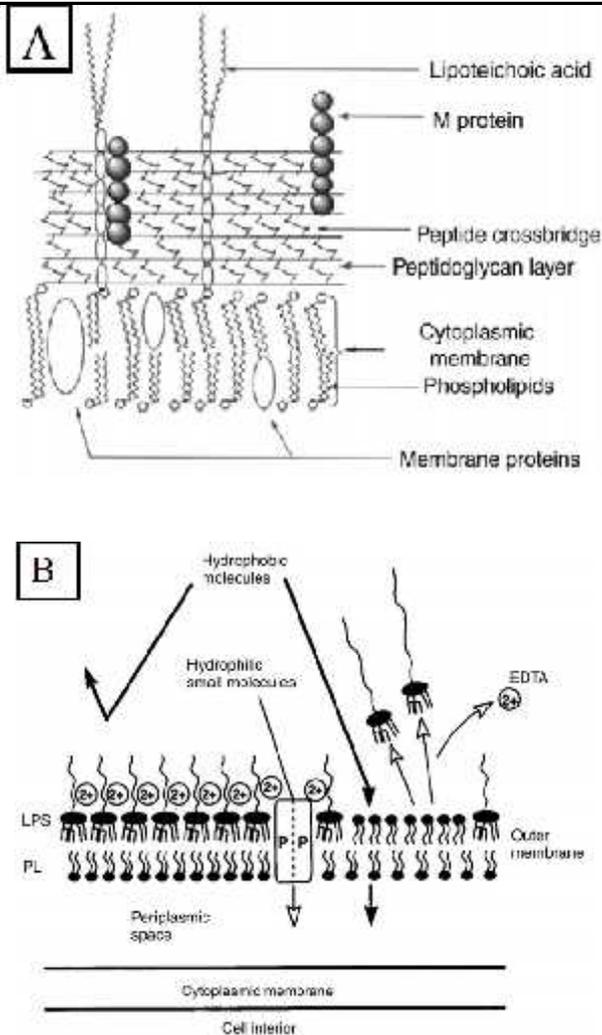
Faktor lain yang mempengaruhi aktifitas antibakteri kitosan adalah berat molekul dan derajat deasetilasi. Kedua faktor tersebut dikatakan mempunyai pengaruh masing-masing terhadap sifat antibakteri kitosan, namun pada beberapa literature menyebutkan pengaruh berat molekul terhadap kemampuan menghambat mikroba kitosan lebih besar daripada pengaruh derajat deasetilasi (Goy. 2009). Berat molekul erat kaitannya dengan kelarutan kitosan karena rantai yang lebih panjang sukar larut dibandingkan dengan rantai pendek (Baxter. 2004).

Mekanisme penghambatan mikroba oleh kitosan sampai saat ini masih menjadi diskusi. Terdapat sedikitnya 3 teori yang berbeda mengenai mekanisme penghambatan kitosan, dengan yang paling banyak diterima adalah mengenai perbedaan muatan antara kitosan dengan permukaan sel bakteri (Goy. 2009). Mekanisme penghambatan dimulai dengan interaksi antara kitosan dengan membran terluar/dinding sel mikroba yang



---

mengganggu stabilitas sel. Untuk gram positif, LTA dapat membentuk ikatan secara molekuler dengan kitosan sehingga mengganggu fungsi membran. Sedangkan, LPS dan protein pada dinding sel bakteri gram negatif disokong oleh interaksi elektrostatis dengan kation divalent yang bertugas menjaga stabilitas dinding sel. Polikation yang ada akan bersaing dengan kation divalen untuk berikatan dengan polianion pada saat pH dibawah pKa kitosan dan turunannya. Saat pH diatas pKa mekanisme yang terjadi adalah chelasi. Kontak antara kitosan dengan dinding sel, yang merupakan dua lapis phospolipid bermuatan negatif, memungkinkan terjadinya perubahan pada permeabilitas sel. Ikatan tersebut dapat dengan cepat menetralkan dan bahkan membalikkan muatan permukaan bakteri. Interaksi lebih jauh mampu mengubah sifat protein dan memicu terjadinya penetrasi ke dalam lapisan phospolipid diikuti dengan destabilisasi sel dan kebocoran substansi intraseluler sel. Kebocoran substansi dimulai dengan substansi berat molekul rendah seperti ion potassium dan fosfat kemudian nukleotida seperti DNA, RNA, dan material lainnya. Kebocoran ini juga sekaligus sebagai indikasi rusaknya membran sitoplasmik bakteri yang berujung pada kematian (Kong, 2010).

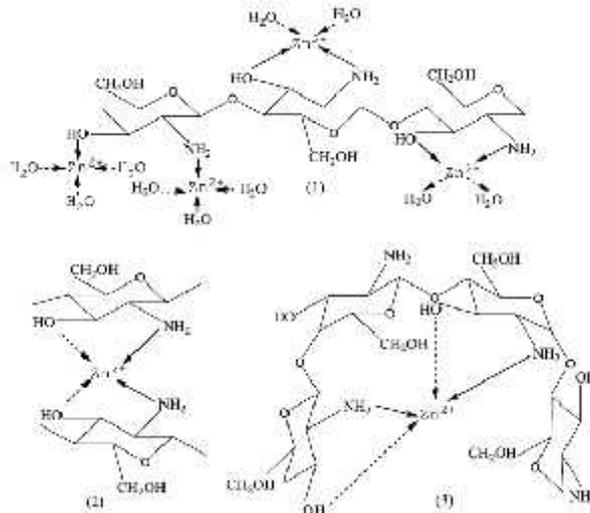


**Gambar 2. 5** Skema perbedaan dinding sel bakteri gram positif (A) dengan bakteri gram negatif (B) (Kong, 2010)

Mekanisme lain yang mungkin terjadi adalah chelasi. Kemampuan kitosan dalam mengikat logam (termasuk



diantaranya  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , dan  $\text{Cu}^{2+}$ ) sudah banyak dipelajari. Karena kemampuan tersebut, kitosan dapat diaplikasikan untuk pemurnian air yang terkontaminasi logam berat. Gabungan antara kitosan dan logam mampu meningkatkan aktivitas antibakteri kitosan dan menggabungkan kation divalen dalam keadaan netral.



**Gambar 2.6** Mekanisme chelasi ion Zn pada kitosan dalam berbagai perbandingan molar (1) molar ratio CS-Zn lebih besar dari 1:1; (2) molar ratio CS-Zn sama dengan 1:1; (3) molar ratio CS-Zn kurang dari 1:1 (Wang. 2003)

Gambar 2.6 menjelaskan mekanisme chelasi ion Zn oleh kitosan. Penggambaran mekanisme pengikatan tersebut dibagi menjadi dua, yakni pola *pendant* dimana ion logam berikatan dengan satu grup amino kitosan; dan pola jembatan, dimana ion berikatan dengan dua atau lebih grup amino dan hidroksil dari satu atau lebih rantai kitosan sebagai penghubung (Wang. 2003).



---

## 2.4 Komposit Kitosan – Hidroksiapatit Sebagai Material Pengganti Tulang

Hidroksiapatit merupakan senyawa yang umum ditemukan dalam jumlah kecil sebagai penyusun tulang dan gigi sejumlah makhluk hidup. Karena kemiripannya tersebut, mulai dikembangkan graft sintetis berbasis hidroksiapatit. Namun, HA di temukan rentan terhadap beberapa jenis bakteri, terutama bakteri pathogen penyebab infeksi di bidang ortopedik. Lebih jauh lagi, HA dalam tubuh tidak dapat terdegradasi dalam waktu lama. Karena adanya keterbatasan pada sifat HA, maka mulai dikembangkan HA yang dikompositkan dengan kitosan. Berdasarkan penelitian, mengkompositkan HA dengan kitosan akan memperbaiki sifat biokompatibilitas HA sebagai bone graft ditinjau dari kemampuan dalam menghambat bakteri dan tingkat degradasi dalam tubuh.

Kemampuan antibakteri penting dimiliki oleh material material pengganti tulang. Beberapa tahun belakangan, peneliti mulai memfokuskan untuk menanggulangi Infeksi Implan Ortopedik (OII) dengan mengembangkan material yang mempunyai sifat antibakteri yang baik. Saravanan (2011) menambahkan ion perak pada komposit kitosan – Hidroksiapatit menghasilkan kemampuan antibakteri yang lebih bagus dibandingkan komposit kitosan – hidroksiapatit saja. Sejalan dengan penelitian tersebut, studi mengenai aktivitas antibakteri komposit kitosan-hidroksiapatit terdoping perak (HA-Ag) dengan variasi penambahan perak 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, dan 10 mmol/L menghasilkan kesimpulan seiring dengan penambahan perak pada komposit kemampuan komposit dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.Coli* semakin besar. Aktivitas antibakteri yang semakin besar dapat disebabkan oleh terlarutnya ion perak pada medium. Ion perak selanjutnya menghambat pertumbuhan mikroba dengan beberapa mekanisme seperti melisis sel, mencegah replikasi sel, dan berinteraksi dengan dinding sel, membran plasma, DNA bakteri serta protein (Qiao. 2015). Tahun berikutnya, Anjaneyulu (2016) melakukan penelitian mengenai penghambatan



pertumbuhan *E.Coli* dan *S.Aureus* pada komposit hibrid hidroksiapatit terdoping perak- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -kitosan. Sejalan dengan penelitian Qiao, penambahan perak pada hidroksiapatit mencapai kemampuan maksimum menghambat bakteri pada konsentrasi 5% Ag dan diamati semakin banyak penambahan perak semakin tinggi aktivitas penghambatan di kedua bakteri. Namun, ketika dikompositkan penghambatan kurang signifikan teramati pada *S.Aureus*. Hal ini kemungkinan dikarenakan dinding sel *S.Aureus* yang lebih tebal sehingga sulit ditembus komposit.

Di sisi lain, laju degradasi material juga patut diperhitungkan, terutama bila material tersebut diaplikasikan untuk jangka panjang seperti *graft* sintesis. Pengujian laju degradasi komposit yang dilakukan oleh Maachou (2008) mengenai kitosan-nanohidroksiapatit secara *in vitro* dilakukan dengan merendam spesimen pada larutan 1,5xSBF. Hasilnya didapatkan bahwa komposit kitosan-nanohidroksiapatit mengalami pengurangan massa kemudian kenaikan terjadi pada minggu ke-2 perendaman. Kenaikan massa ini terjadi karena adanya deposisi kalsium pospat sebagaimana ditunjukkan dengan hasil SEM, penurunan kandungan kalsium dalam larutan SBF, dan peningkatan konsentrasi kalsium pada permukaan sampel.

Kong (2006) menunjukkan ukuran partikel apatit yang terbentuk pada *graft* kitosan lebih besar dibandingkan dengan pada permukaan komposit kitosan-HA. Namun, jumlah partikel apatit yang terbentuk lebih banyak ditemukan pada komposit kitosan-HA. Hal ini disebabkan adanya partikel nano HA pada komposit berfungsi sebagai tempat inisiasi inti apatit. Semakin banyak adanya partikel HA pada komposit maka semakin banyak pula tempat inisiasi inti apatit. Bila inti apatit mulai terbentuk, apatit dapat tumbuh secara spontan dengan mengkonsumsi ion kalsium dan fosfat yang terdapat pada cairan tubuh (Weng dkk, 1997).

Berdasarkan tinjauan pustaka diatas, penelitian ini akan mengkompositkan kitosan dengan HA yang didoping dengan Zinc (K/HA-Zn). Pendopingan ion zinc pada HA bertujuan untuk



---

meningkatkan sifat mampu larutnya atau untuk mengurangi laju degradasi HA. Sedangkan penambahan kitosan pada komposit bertujuan untuk meningkatkan kemampuan anti bakteri graft komposit K/HA-Zn. Sehingga dapat dihasilkan suatu komposit K/HA-Zn yang memiliki sifat biokompatibilitas yang baik.



---

## BAB III METODOLOGI

### 3.1 Bahan-Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan antara lain :

1. Kalsium Nitrat Tetrahidrat ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )  
Berbentuk bongkahan putih, mudah larut dalam aquades, dan merupakan bahan utama dalam sintesis hidroksiapatit terdoping seng. Didapatkan dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya.
2. Zinc Nitrat Tetrahidrat ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )  
Berbentuk bongkahan putih agak kekuningan, mudah larut dalam aquades, dan merupakan bahan doping dalam sintesis hidroksiapatit terdoping seng. Didapatkan dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya.
3. Etilen Diamin Tetraasetat (EDTA)  
Digunakan dalam bentuk garam dinatrium EDTA dengan rumus kimia ( $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Berbentuk serbuk halus berwarna putih, mudah larut dalam air. Didapatkan dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya.
4. *Di-Ammonium Hydrogen Phosphate* ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ )  
Digunakan dalam bentuk serbuk putih. Diperlukan dalam proses sintesis hidroksiapatit terdoping seng. Didapatkan dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya.
5. Amoniak ( $\text{NH}_4\text{OH}$ )  
Berwujud cair dan berbau tajam.
6. Kitosan  
Digunakan dalam bentuk serbuk berwarna putih kekuningan disintesis dari rajungan. Dibeli dari CV. Biochitosan dengan derajat deasetilasi 86%. Larut dalam asam asetat namun tidak dapat larut dalam air.



---

7. Asam Asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )

Digunakan dalam bentuk larutan encer 3%. Memiliki bau menyengat. Diperlukan dalam proses sintesis komposit kitosan – hidroksiapatit terdoping seng.

8. Asam Klorida ( $\text{HCl}$ )

Digunakan dalam bentuk larutan kuning pekat 37%. Memiliki bau menyengat, bersifat korosif, dan berbahaya bagi tubuh. Diperlukan dalam pembuatan larutan tubuh dalam pengujian *Simulated Body Fluid* (SBF). Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya.

9. Natrium Klorida ( $\text{NaCl}$ )

Digunakan dalam bentuk serbuk berwarna putih. Larut dalam air, gliserol, dan amonia, namun tidak larut dalam asam klorida. Diperlukan dalam pembuatan larutan tubuh dalam pengujian *Simulated Body Fluid* (SBF). Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya.

10. Natrium Bikarbonat/bicnat ( $\text{NaHCO}_3$ )

Digunakan dalam bentuk padatan berwarna putih. Tidak berbau, dan larut dalam air. Diperlukan dalam pembuatan larutan tubuh dalam pengujian *Simulated Body Fluid* (SBF). Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya.

11. Kalium Klorida ( $\text{KCl}$ )

Merupakan garam kuat padat berwarna putih, tidak berbau, dan larut dalam air. Diperlukan dalam pembuatan larutan tubuh dalam pengujian *Simulated Body Fluid* (SBF). Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya.

12. Dipotassium Hidrogen Fosfat Trihidrat ( $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )

Salah satu jenis buffer berbentuk padat berwarna putih dan tidak berbau. Larut dalam Air. Diperlukan dalam pembuatan larutan tubuh dalam pengujian *Simulated Body Fluid* (SBF). Dibeli dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya.



13. Magnesium Klorida Hexahidrat ( $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ )

Digunakan dalam bentuk kristalin berwarna putih, tidak mudah terbakar, tidak berbau, dan larut dalam air. Diperlukan dalam pembuatan larutan tubuh dalam pengujian *Simulated Body Fluid* (SBF). Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya.

14. Kalsium Klorida ( $CaCl_2$ )

Garam berbentuk kristalin putih, tidak berbau, tidak mudah terbakar, serta larut dalam air. Diperlukan dalam pembuatan larutan tubuh dalam pengujian *Simulated Body Fluid* (SBF). Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya.

15. Natrium Sulfat ( $Na_2SO_4$ )

Digunakan dalam bentuk serbuk berwarna putih yang larut dalam air. Diperlukan dalam pembuatan larutan tubuh dalam pengujian *Simulated Body Fluid* (SBF). Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya.

16. Tris(Hydroxymethyl) Aminomethane ( $(CH_2OH)_3CNH_2$ )

Digunakan dalam bentuk serbuk putih, bereaksi dengan udara bebas, serta larut dalam air. Diperlukan dalam pembuatan larutan tubuh dalam pengujian *Simulated Body Fluid* (SBF). Dibeli dari PT. Sumber Ilmiah Persada Surabaya terdaftar dalam merk dagang MERCK.

### 3.2 Alat-Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Neraca Analitik

Neraca analitik merek Mettler Toledo diperlukan untuk menimbang massa bahan penelitian.



2. Hot plate dengan *magnetic stirrer* dan *magnetic bar*  
Digunakan untuk melarutkan serta memanaskan campuran dalam keseluruhan proses sintesis komposit kitosan-hidroksiapatit terdoping seng.
3. Oven  
Digunakan sebagai alat bantu proses drying dalam keseluruhan proses sintesis komposit kitosan-hidroksiapatit terdoping seng.
4. Furnace Horizontal  
Digunakan sebagai alat bantu proses drying dan kalsinasi dalam keseluruhan proses sintesis komposit kitosan-hidroksiapatit terdoping seng. Furnace yang digunakan berbentuk horizontal dan beroperasi dalam keadaan vakum.
5. Mesin uji *X-Ray Diffraction* (XRD)  
Digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang terbentuk pada komposit kitosan-hidroksiapatit terdoping seng.
6. Mesin uji *Scanning Electron Microscopy/Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy* (SEM/EDX)  
Digunakan untuk melihat morfologi serta unsur yang terbentuk pada komposit kitosan-hidroksiapatit terdoping seng.
7. Mesin uji *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR)  
Digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi tertentu yang terbentuk pada kitosan.
8. Mesin uji *Atomic Adsorption Spectroscopy* (AAS)  
Digunakan untuk mengidentifikasi adanya unsur Ca dan Zn pada larutan SBF dalam konsentrasi ppm.



---

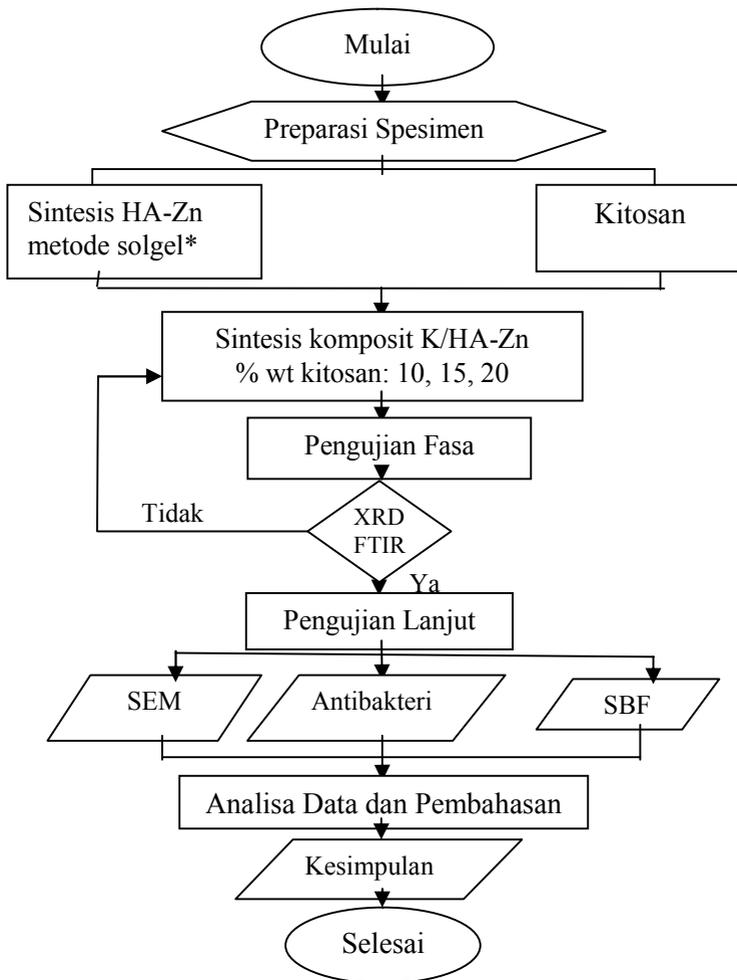
9. Penggaris

Digunakan untuk mengukur besarnya zona hambat yang terbentuk pada komposit kitosan-hidroksiapatit doping seng

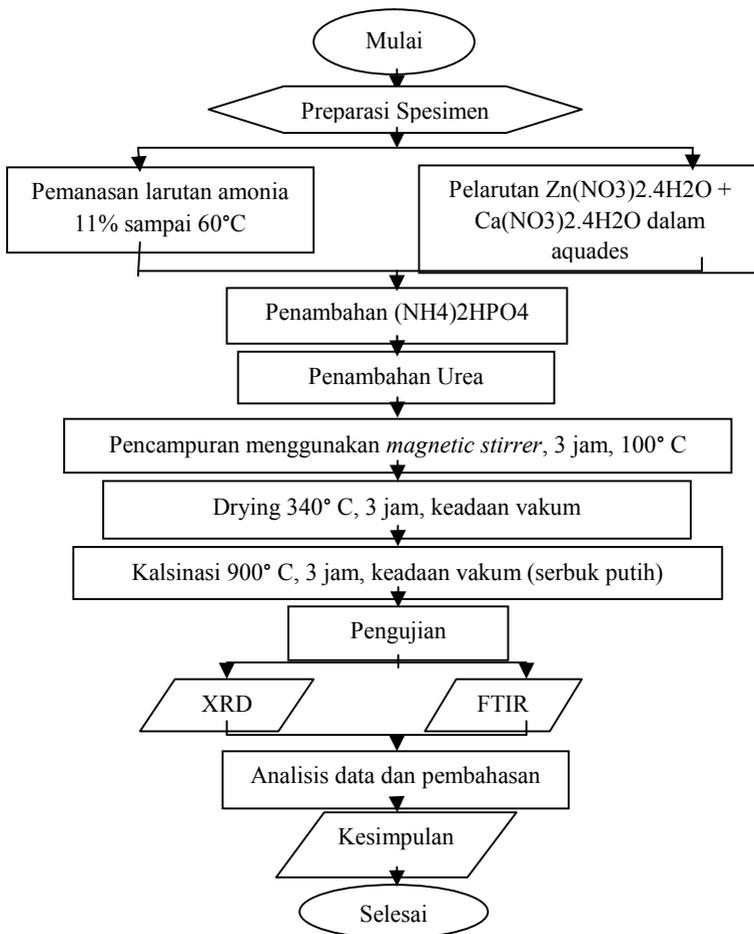
10. Peralatan laboratorium lainnya seperti gelas beaker, gelas ukur, cawan petri, pipet tetes, dan lain-lain.

### **3.3 Diagram Alir**

Untuk mempermudah dalam pengerjaan penelitian, maka dibuat diagram perencanaan proses kerja secara sistematis. Urutan dari penelitian secara umum ditunjukkan pada Gambar 3.1. Sedangkan proses sintesis HA-Zn dengan metode solgel (\*) secara sistematis disajikan pada gambar 3.2



**Gambar 3. 1** Diagram Alir Penelitian



Gambar 3. 2 Diagram alir sintesis HA-Zn metode solgel



---

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Sintesis Hidroksiapatit doping Zinc

Sebanyak 16,923 ml larutan amonia 11% dipanaskan hingga temperature 60°C diikuti dengan penambahan EDTA 14 gram sambil dilakukan pengadukan konstan dan menghasilkan larutan bening. Pada wadah terpisah, 1,1307 gram Zinc nitrat dan 10 gram kalsium nitrat dilarutkan ke dalam 423,46 ml aquades. Larutan zinc dan kalsium selanjutnya di tambahkan ke dalam larutan EDTA dan amonia. Larutan akan berubah warna dari bening menjadi keruh. Kemudian sebanyak 3,345 gram Di-amonium hidrogen fosfat ditambahkan ke dalam larutan diikuti dengan penambahan 3,4679 gram urea sehingga didapat larutan berwarna putih. Larutan ini dipanaskan mencapai temperature 100°C dan didiamkan selama 3 hingga 4 jam pada keadaan pengadukan konstan. Dengan bertambahnya waktu larutan akan menguap dan menyisakan gel kental berwarna putih di dasar wadah. Proses drying dilaksanakan dalam furnace vakum 340°C memakan waktu 3 jam. Pada proses drying, gel yang semula berwarna putih akan berubah menjadi bongkahan hitam rapuh. Bongkahan ini kemudian dikalsinasi pada 900°C menghasilkan bongkahan putih dalam waktu 3 jam. Bongkahan dihaluskan menggunakan mortar dan siap untuk dikarakterisasi.

#### 3.4.2 Sintesis Komposit Kitosan-Hidroksiapatit Doping Zinc

Sintesis komposit kitosan-hidroksiapatit terdoping zinc menggunakan metode pencampuran biasa seperti dalam penelitian Istifarah (2012) dengan sedikit perubahan. Sintesis dimulai dengan melarutkan 2 gram kitosan dengan 100 ml asam asetat 3% diaduk dengan kecepatan konstan pada 70°C. Larutan kitosan ini kemudian ditambahkan ke dalam Aquades 10 ml aquades yang terlebih dahulu dipanaskan hingga 70°C. Penambahan bubuk HA-Zn dilakukan secara perlahan ke dalam campuran kitosan dengan aquades tersebut. Campuran diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 1 jam sampai didapatkan hasil berupa bubur. Setelah itu, bubur didiamkan 24 jam dan



dikeringkan dalam oven 70°C selama lebih dari semalam. Hasil akhir berupa komposit dalam bentuk bubuk yang dihaluskan dengan mortar. Serbuk komposit kemudian dicetak menjadi bentuk silinder dengan cara dikompaksi menggunakan beban 78Mpa.

### **3.4.3 Pengujian**

#### **3.4.3.1 Pengujian Fisik-kimia Komposit K/HA-Zn**

##### **a) Analisis Fasa**

Analisis fasa merupakan metode pengujian untuk melihat unsur/senyawa yang terbentuk pada HA/Zn dan K-HA/Zn. Pengujian dilakukan menggunakan mesin uji X-Ray Diffraction Method (XRD) di Universitas Diponegoro Semarang. Adapun sampel yang digunakan berbentuk bubuk dengan penembakan  $2\theta$  5° - 80°. Prinsip dasar XRD adalah mendifraksi cahaya melalui celah Kristal. Difraksi cahaya oleh kisi-kisi atau Kristal ini dapat terjadi apabila difraksi tersebut berasal dari radius yang memiliki panjang gelombang yang setara dengan jarak antar atom, yaitu sekitar 1 Angstrom. Ketika berkas sinar X berinteraksi dengan suatu material, maka sebagian berkas akan diabsorpsi, ditransmisikan, dan sebagian lagi dihamburkan terdifraksi. Hamburan terdifraksi inilah yang dideteksi oleh XRD. Berkas sinar X yang dihamburkan tersebut ada yang saling menghilangkan karena berbeda fasa dan ada juga yang saling menguatkan karena fasa yang identik. Ukuran kristallinitas juga dapat diprediksi dari hasil XRD. Berdasarkan metode Schreer, semakin kecil ukuran kristal, maka semakin lebar puncak difraksi yang dihasilkan.

##### **b) Analisis Gugus Fungsi**

Analisis gugus fungsi dilakukan untuk mengetahui ikatan yang ada pada kitosan. Hasil yang didapat merupakan grafik dengan sumbu x panjang gelombang dan sumbu y %transmitansi. Melalui grafik tersebut dapat dihitung derajat deasetilasi kitosan sesuai pada lampiran. Pengujian dilakukan di Laboratorium



Karakterisasi Material Jurusan Teknik Material dan Metalurgi FTI-ITS Surabaya menggunakan instrument Thermo Scientific Nicolet IS10 dengan panjang gelombang  $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ . Prinsip dasar pengujian FTIR adalah interaksi energy dengan suatu materi. Saat spesimen uji ditembakkan dengan sinar inframerah, atom-atom dalam spesimen uji akan bergetar atau bervibrasi sebagai akibat energy yang berasal dari sinar inframerah tidak cukup kuat untuk menyebabkan terjadinya atomisasi ataupun eksitasi electron. Besar energy vibrasi setiap komponen molekul berbeda-beda tergantung pada kekuatan ikatan yang terdapat pada molekul.

#### 3.4.3.2 Pengujian Morfologi Komposit K/HA-Zn

Untuk pengamatan morfologi dari permukaan sampel serbuk K/HA-Zn dilakukan pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscope* tipe FEI INSPECT S50 di Laboratorium Karakterisasi Material. Selain dilakukan pengamatan morfologi permukaan, instrumen yang digunakan dilengkapi dengan *Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy* (EDX) sehingga dapat mengetahui pemetaan unsur yang terdapat pada sampel K/HA-Zn. Data hasil SEM/EDX berupa gambar dengan perbesaran serta grafik yang menunjukkan intensitas unsur tertentu yang terdapat pada spesimen uji. Prinsip dasar SEM adalah memfokuskan sinar elektron (*electron beam*) di permukaan obyek dan mengambil gambarnya dengan mendeteksi elektron yang muncul dari permukaan obyek. Jika elektron mengenai suatu benda maka akan timbul dua jenis pantulan yaitu pantulan elastis dan non-elastis. Dari pantulan non-elastis didapatkan sinyal elektron sekunder dan karakteristik sinar X. Sedangkan dari pantulan elastis didapatkan sinyal *backscattered electron* (BSE). Pada SEM, gambar dibuat berdasarkan deteksi BSE yang muncul dari permukaan sampel ketika permukaan sampel dipindai dengan elektron. Elektron-elektron yang terdeteksi selanjutnya diperkuat sinyalnya, kemudian besar amplitudonya ditampilkan dalam gradasi gelap terang pada monitor CRT (Cathode Ray Tube). Sedangkan



prinsip kerja EDX adalah melalui sinar X karakteristik. Pada saat ditembakkan dengan elektron, electron pada kulit terdalam akan terkesitasi dari kulit sehingga meninggalkan vakansi. Elektron dari kulit luar harus melepaskan sebagian energy agar dapat berpindah ke kulit dalam. Energi yang dilepas dipancarkan dalam bentuk sinar X. Sinar X inilah yang diserap EDX dan ditampilkan dalam bentuk grafik puncak-puncak yang mewakili unsur tertentu.

### 3.4.3.3 Pengujian Biokompatibilitas Komposit K/HA-Zn

#### a) Analisis Aktifitas Antibakteri

Untuk mengetahui tingkat interaksi komposit K/HA-Zn dengan bakteri patogen, maka dilakukan pengujian antibakteri di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA ITS Surabaya. Pengukuran aktivitas antibakteri secara *in vitro* dilakukan dengan metode difusi lempeng agar (*Disk Diffusion Test*) (Boyd, 1995). Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri patogen gram positif *Esherichia Coli* dan bakteri patogen gram negatif *Staphylococcus Aereus*. Mula-mula dibuat larutan baku 0,5 McFarland. Larutan ini digunakan sebagai pembanding kekeruhan biakan bakteri. Pada kekeruhan larutan 0,5 McFarland diperkirakan jumlah bakteri yang digunakan sebesar  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Larutan ini dibuat dengan cara mencampurkan 1% BaCl<sub>2</sub> dan 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan perbandingan 0,5;0,95. Pada tabung yang lain, bakteri terlebih dahulu di kultur dalam media agar. Biakan bakteri kemudian dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam tabung berisi larutan 2 ml NaCl 0,85% hingga mencapai kekeruhan yang sama dengan larutan McFarland. Sampel berbentuk serbuk dilarutkan dalam pelarut *buffer* fosfat steril pH 7.2 dengan konsentrasi 800mg/ml. Kertas cakram berukuran diameter 0,6 cm dicelupkan ke dalam larutan dan diletakkan di atas lempeng Mueller-Hinton Agar (MHA) yang sebelumnya sudah diswap dengan 0,1 ml larutan bakteri dan diratakan menggunakan spatula Drigalski steril. Sampel kemudian diinkubasi pada temperatur ruang selama 24-48 jam di



inkubator. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona bening di sekitar kertas cakram menggunakan penggaris.

#### b) Analisis Degradasi Material

Untuk mengetahui laju peluruhan komposit K-HA/Zn maka dilakukan pengujian *Simulated Body Fluid* (SBF). Pengujian dilakukan secara *in vitro* dengan cara merendam spesimen berbentuk silinder berdiameter 10mm dengan panjang 20mm dalam 50 ml larutan kokubo (SBF) yang dikondisikan tetap pada temperature 37 (Na<sup>+</sup> 142.0, K<sup>+</sup> 5.0, Mg<sup>2+</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, dan SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 0.5 mmol/dm<sup>3</sup> ) dan pH 7.4 dengan cara dititrasasi menggunakan 1M HCl secukupnya hingga didapat pH yang dimaksud (Yoshida, 2004). Kemudian sampel ditimbang berat massa sebelum perendaman dan 7 hari setelah perendaman. Setelah 7 hari perendaman, sampel diangkat dari larutan dan dicuci dalam Aquades. Setelah itu dikeringkan dalam oven 65°C. Kinetik degradasi komposit di dalam larutan SBF ditentukan dengan mengamati perubahan berat yang terjadi selama masa perendaman mengikuti persamaan (Maachou. 2008)

$$W = \frac{m_a - m_b}{m_b} \times 100 \dots\dots\dots(3.1)$$

Dimana  $m_a$  adalah massa yang terukur setelah perendaman SBF dan  $m_b$  adalah massa sebelum perendaman.

Untuk mendapatkan data yang lebih menunjang, maka larutan SBF pra dan pasca perendaman selanjutnya diamati menggunakan *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS). Pengamatan ini bertujuan untuk melihat tingkat peluruhan Zinc komposit K/HA-Zn. Pengujian SBF dilakukan di Laboratorium Inovasi Material Jurusan Teknik Material dan Metalurgi FTI ITS Surabaya, sedangkan pengujian AAS bertempat di Laboratorium Lingkungan LPPM ITS Surabaya.

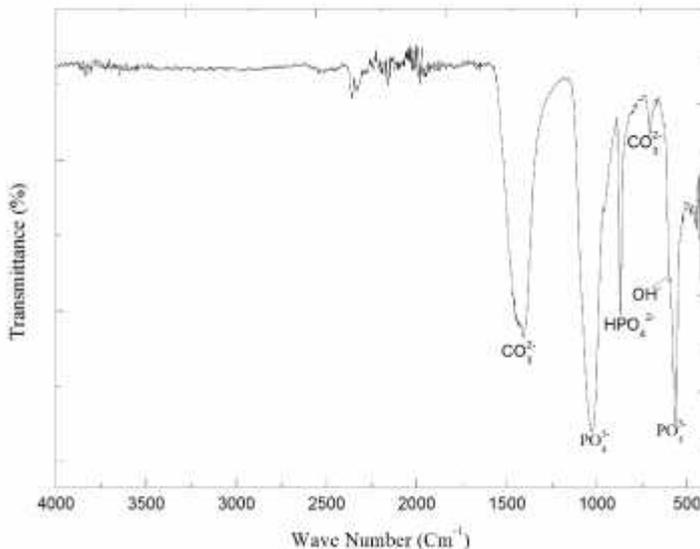


## BAB IV ANALISIS DATA DAN PEMBAHASAN

Berikut ini adalah hasil dan analisis serta pembahasan terhadap data yang didapatkan melalui serangkaian eksperimen sebagaimana telah di paparkan pada bab sebelumnya.

### 4.1 Hasil Pengujian FTIR

Seluruh sampel berupa serbuk komposit K/HA-Zn dengan variasi persen berat kitosan diuji FTIR untuk mengetahui gugus fungsi atau ikatan yang terbentuk pada sampel. Grafik pengujian FTIR HA-Zn dapat dilihat pada Gambar 4.1.

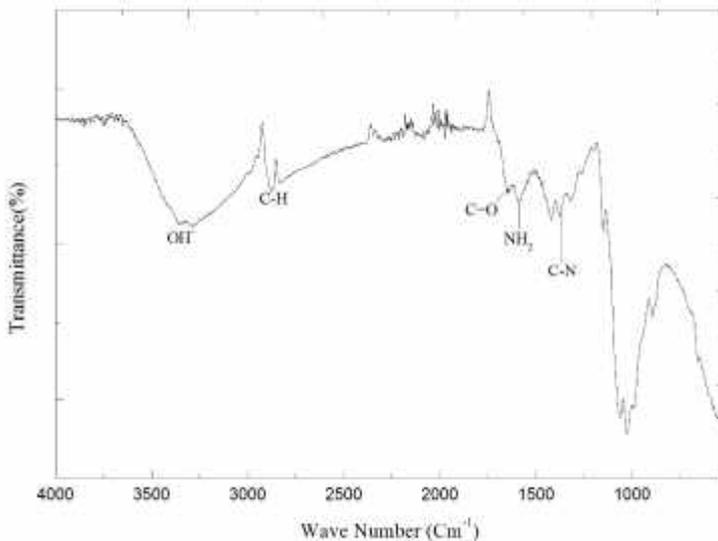


**Gambar 4. 1** Grafik hasil pengujian FTIR HA-Zn

Gambar 4.1 menunjukkan hasil FTIR untuk HA-Zn. Spektra IR untuk HA-Zn mencatat adanya vibrasi gugus fosfat ( $PO_4$ ) di  $1029.08$  serta bengkokan gugus fosfat di  $566\text{cm}^{-1}$ . Disamping adanya fosfat, ikatan karbonat juga terdeteksi pada sampel di  $871.84\text{ cm}^{-1}$ . Dalam penelitiannya, Maldovan (2015) menyatakan



bahwa ion karbonat dapat menggantikan ion hidroksil pada struktur HA (tipe A), tipe B bila menggantikan ion fosfat, dan bila keduanya disebut tipe AB. HA dengan kandungan karbonat biasa disebut dengan carbonated HA (CHA). Sejalan dengan penjelasan tersebut, tidak ditemukan adanya peak  $-OH$  pada sampel. Tidak adanya  $-OH$  disebabkan pada temperature tinggi Zn cenderung berinteraksi dengan HA disekitar ikatan  $-OH$  atau secara langsung dengan grup  $-OH$  (Moldovan, 2015). Ikatan kuat antara Zn dengan O terdeteksi pada  $449.83\text{ cm}^{-1}$ ,  $457.8\text{ cm}^{-1}$  dan  $566\text{ cm}^{-1}$ . Tumpang tindih antara ikatan ZnO dengan Fosfat menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara Zn dengan fosfat dari HA (Moldovan, 2015).

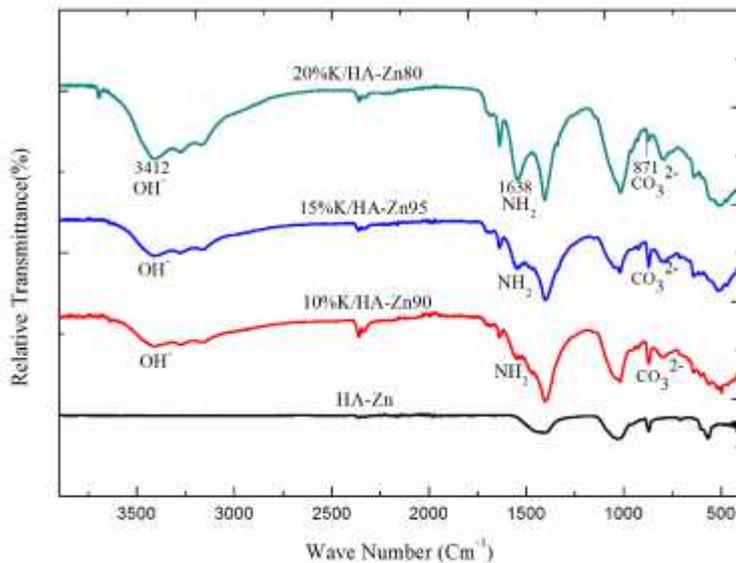


**Gambar 4. 2** grafik hasil pengujian FTIR kitosan

Gambar 4.2 menunjukkan beberapa serapan panjang gelombang spesifik yang menjadi ciri khas penanda kitosan. Penelitian Zhang (2012) menyebutkan bahwa kitin dan kitosan mempunyai 3 serapan karakteristik yakni vibrasi grup  $-NH_2$ ,  $-CO$ , dan  $-COCH_3$ . Spektra FTIR Kitosan menunjukkan adanya



serapan pada bilangan gelombang  $3360.42\text{ cm}^{-1}$ , dan  $3282.27\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan tumpang tindih antara  $\text{NH}_2$  *stretch* dan  $\text{O-H}$  *stretch*. Bilangan gelombang ikatan  $\text{C-H}$  terbaca pada bilangan gelombang  $2879.08\text{ cm}^{-1}$  dan  $2834.89\text{ cm}^{-1}$ . Kemudian, sampel juga menunjukkan adanya ikatan  $\text{C=O}$  pada amida di  $1641.16\text{ cm}^{-1}$ . Sedangkan, untuk peak  $1590.48\text{ cm}^{-1}$ ,  $1418.38\text{ cm}^{-1}$ ,  $1373.90\text{ cm}^{-1}$ ,  $1149.99\text{ cm}^{-1}$ ,  $1061.14\text{ cm}^{-1}$ , dan  $1026.16\text{ cm}^{-1}$  berurutan mengindikasikan adanya ikatan  $\text{NH}_2$  (*Amide II*),  $\text{C-N}$  *stretch*, deformasi  $\text{CH}_3$  simetri, ikatan  $\text{C-O-C}$ , dan ikatan  $\text{C-O}$ . Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Puvvada (2012) mengenai kitosan yang dibuat dengan kulit udang untuk aplikasi farmaseutikal yang menyatakan bahwa terdapat kitosan pada sampel sesuai dengan peak yang teridentifikasi.



**Gambar 4. 3** Perbandingan hasil FTIR HA-Zn, Kitosan, dan Komposit K/HA-Zn

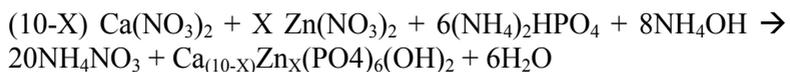
Komposit K/HA-Zn dengan variasi persen berat kitosan sebesar 10%, 15%, 20% terlihat mempunyai pola spektra serupa



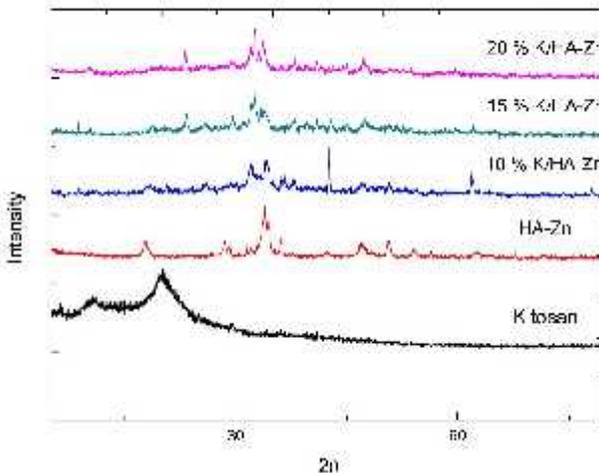


Untuk mendukung hasil pengujian FTIR, maka dilakukan pengujian XRD untuk melihat senyawa yang terbentuk pada sampel komposit dan kontrol. Hasil pengujian XRD untuk HA-Zn dapat dilihat pada gambar . Dari hasil XRD terdapat peak  $2\theta$  pada 34 dengan intensitas tinggi yang merupakan peak heksagonal hidroksilapatit ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ) sesuai dengan ICDD 01-086-0740. Pada sampel HA-Zn juga ditemukan adanya senyawa  $\beta$ -kalsium pospat di  $2\theta$  sama dengan  $31^\circ$  sesuai dengan ICDD . Saat dipanaskan mendekati melebihi temperatur kritis, terjadi dekomposisi HA. Dekomposisi tersebut memicu terjadinya reaksi pembentukan senyawa lainnya salah satunya adalah  $\beta$ -kalsium pospat (Das. 2013). Karena terdapat dua fasa keluarga kalsium fosfat yang berbeda, HA dan  $\beta$ -Kalsium pospat, kombinasi ini dinamakan BCP (Biphasic Calcium Phosphate) (Gunawan. 2014).

Selain itu, pada HA-Zn ditemukan hasil sampingan lain berupa parascholzite ( $\text{CaZn}_2(\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (ICDD 01-073-8416). Hasil ini sejalan dengan penelitian Kaygili (2012) dan Gunawan (2014) menunjukkan pembentukan parascholzite yang ada pada HA-Zn dengan 15% mol Zn. HA-Zn yang disintesis memiliki tingkat kristalinitas yang tinggi dibuktikan dengan peak yang terlihat tajam dan jelas. Secara teori, Parascholzite terbentuk karena perubahan susunan Kristal HA. Zn dalam komposit diasumsikan menggantikan vakansi Ca (Friedrichs. 2015). Secara kimia, reaksi yang terjadi adalah



Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Agus (2016) yang menemukan adanya parascholzite dan  $\beta$ -kalsium pospat pada HA-Zn yang disintesis melalui metode solgel. Pengaruh penambahan kitosan pada HA-Zn menurut hasil pengujian XRD dapat dilihat pada gambar 4.5 .



**Gambar 4. 5** Perbandingan grafik hasil uji XRD untuk kelima sampel uji (Agus. 2016)

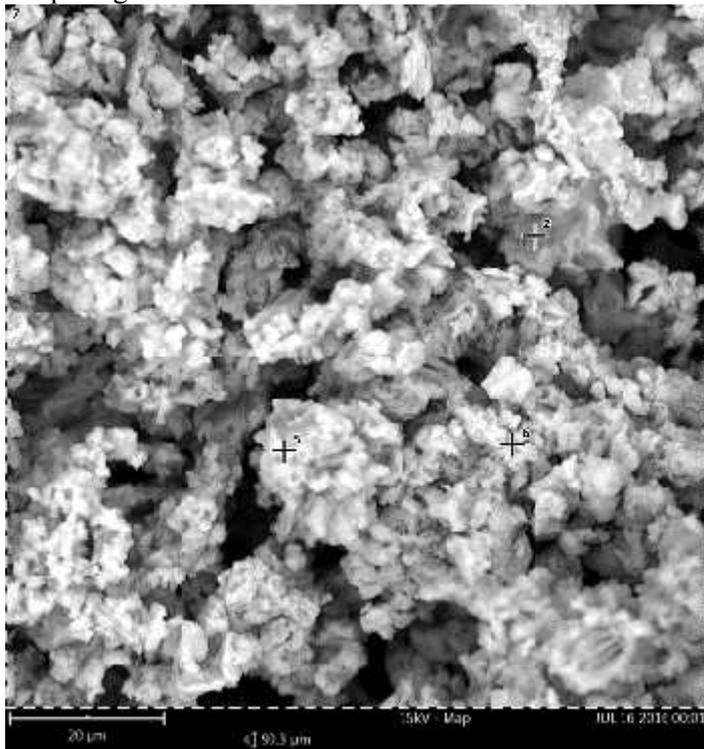
Pada gambar tersebut, terlihat bahwa masih terdapat puncak HA-Zn meskipun terjadi penurunan intensitas. Seiring dengan penambahan kitosan, terjadi penurunan intensitas dan pergeseran puncak HA-Zn mengindikasikan terjadinya ikatan antara HA-Zn dan Kitosan saat dikompositkan (Istifarah. 2012). Di lain pihak, tidak teridentifikasinya peak baru menandakan tidak terjadi ikatan kimia antara kitosan dengan HA-Zn. Ikatan yang terjadi merupakan ikatan fisik, karena itu peak karakteristik kitosan dan HA-Zn muncul secara individu pada hasil XRD.

Hasil XRD komposit pada komposisi 10%K/HA-Zn90 ditemukan adanya peak di sekitar  $2\theta$  sama dengan  $40^\circ$ . Dari hasil identifikasi, peak tersebut bukan merupakan peak HA ataupun kitosan. Kemungkinan besar peak merupakan pengotor yang belum teridentifikasi.



### 4.3 Hasil Pengujian SEM-EDAX

Melalui hasil pengujian XRD dan FTIR dapat dikatakan bahwa sintesis komposit K/HA-Zn berhasil. Ditunjukkan dengan adanya peak-peak karakteristik yang mengindikasikan adanya kitosan, HA-Zn, dan interaksi antar keduanya. Hasil ini kemudian dikuatkan dengan pengamatan morfologi permukaan menggunakan SEM-EDAX. Hasil pengujian SEM HA-Zn dapat dilihat pada gambar 4.6.



**Gambar 4. 6** Hasil pengujian SEM HA-Zn dengan perbesaran 3000 x



Dari gambar 4.6, dapat dilihat HA terdoping Zn yang berhasil disintesis tersusun atas butiran-butiran berukuran kecil yang menggumpal. Selain itu, dapat dilihat kerapatan antar gumpalan butiran tidak terlalu tinggi. Hal ini menandakan adanya porositas pada HA-Zn. Studi terkait morfologi HA-Zn yang dilakukan oleh Ren (2009) dan Radovanovic (2012) mengatakan hal yang sejalan dengan penelitian ini bahwa morfologi permukaan HA-Zn terdiri atas butiran yang menggumpal. Porositas pada *bone substitute* sangat penting dikarenakan fungsinya sebagai tempat pelekatan sel, sirkulasi darah, dan vaskularisasi (Shavandi. 2015). Sementara itu, dari hasil EDAX didapatkan perbandingan Ca/P untuk HA-Zn sebesar 1.81. Dari hasil EDAX juga dideteksi adanya Zinc sebanyak 2,6% sehingga dapat dikatakan HA sudah terdoping dengan Zinc. Unsur yang berhasil dideteksi EDAX dalam satuan persen berat dapat dilihat pada tabel 4.1

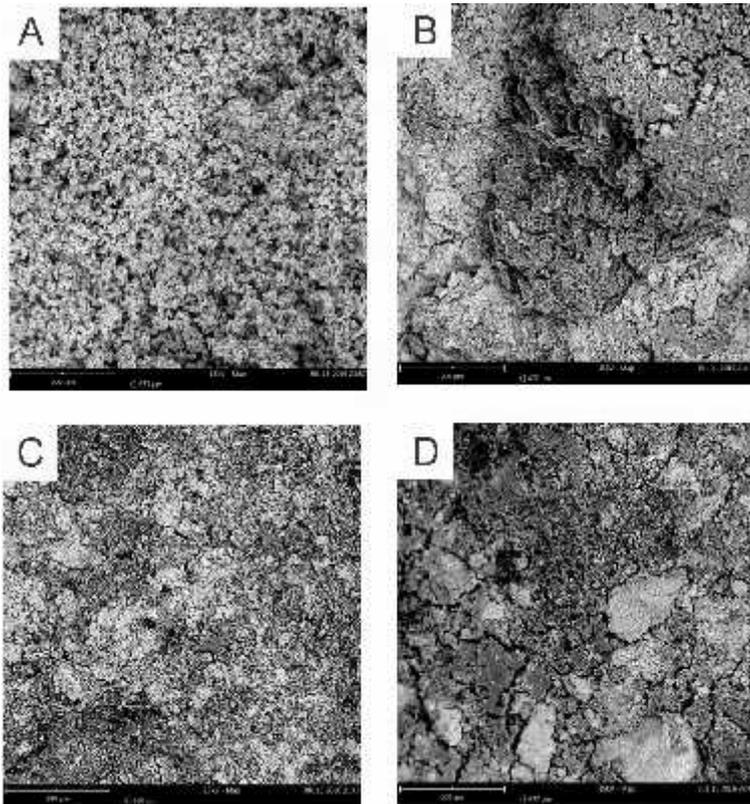
**Tabel 4.1** Konsentrasi Elemen Unsur HA-Zn Hasil Uji EDX

Elemen Unsur	% wt
Ca	21,2
P	11,7
O	64,5
Zn	2,6

Penambahan kitosan mempunyai pengaruh pada morfologi komposit K/HA-Zn. Gambar 4.7 dibawah menunjukkan perbedaan yang terjadi pada saat penambahan kitosan. Setelah adanya penambahan kitosan terlihat adanya jaring yang saling berhubungan dan diantara jaring tersebut terdapat butiran-butiran HA-Zn. Bila komposisi kitosan sedikit, kitosan tidak mampu menyelubungi partikel HA, sehingga yang terjadi adalah kitosan hanya sebagai perekat butiran-butiran HA



(Zhang li. 2005). Karena adanya perekat ini, butiran HA-Zn yang semula berukuran kecil cenderung berkumpul menjadi bongkahan. Selain itu, porositas yang terlihat pada HA-Zn lebih padat seiring dengan penambahan kitosan. Hasil ini juga terlihat pada penelitian Agus (2016) yang mensintesis komposit K/HA-Zn melalui pencampuran kimia.



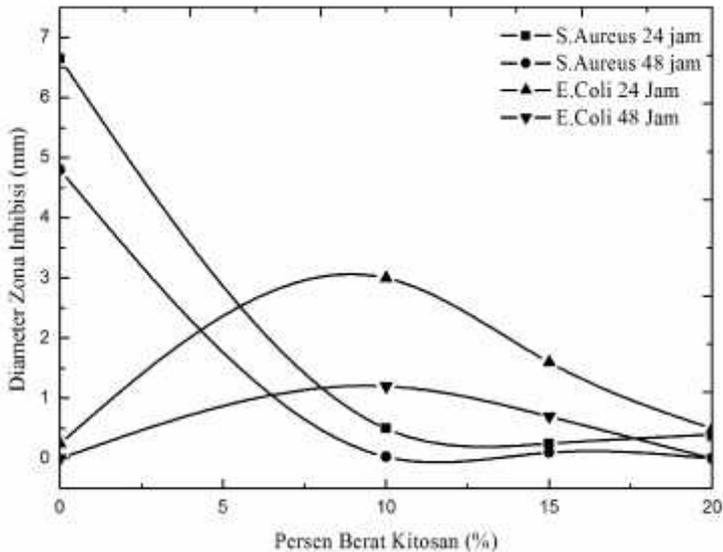
**Gambar 4. 7** Hasil pengujian SEM (A). HA-Zn serbuk, (B). 10%K/HA-Zn, (C). 15%K/HA-Zn dan (D). 20%K/HA-Zn Dengan Perbesaran 3000 kali (Agus. 2016).



## 4.4 Hasil Pengujian Biokompatibilitas

### 4.4.1. Hasil Pengujian Antibakteri

Pengamatan kemampuan antibakteri terhadap *Esherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus* dilakukan pada komposit 10%K, 15%K, 20%K, dan HA-Zn sebagai kontrol 24 jam dan 48 jam setelah masa inkubasi. Hasil pengamatan yang di dapatkan terlihat pada gambar 4.8.



**Gambar 4.8** Hasil pengujian aktifitas antibakteri terhadap *E. Coli* dan *S. Aureus*

*Esserechia Coli* (*E. Coli*) adalah salah dua bakteri pathogen Gram negatif yang sering dijumpai pada kasus infeksi implant ortopedik (IIO) setelah *Pseudomonas Aeruginosa*. *E. Coli* mengandung faktor virulensi (FV) khusus seperti adhesins, protease, racun, protein-kebal-serum, dan lain-lain. Faktor Virulensi ini membantu organisme untuk membentuk koloni,



menyerang jaringan inang, mengganggu mekanisme kekebalan inang, mengambil nutrisi esensial, dan menyebabkan reaksi inflamasi. Selain itu, *E.Coli* juga diketahui dapat membentuk lapisan biofilm yang mendukung dalam proses pelekatan organisme pada permukaan implan (Crémet, dkk. 2012). Sedangkan *Staphylococcus Aureus* (*S.Aureus*) merupakan bakteri pathogen gram positif. *S.Aureus* dikenal sebagai pembawa infeksi pasca penanaman prostetik di dunia orthopedik seperti *septic arthritis* dan *osteomyelitis*, yang melibatkan perusakan otot dan tulang. Selain itu, bakteri jenis ini juga diketahui kebal terhadap beberapa jenis antibiotik salah satunya adalah grup  $\beta$ -laktam yakni *oxacillin*, *penicillin*, dan *amoxicillin* (Byrne. 2011; Ribeiro. 2012). Bakteri gram positif dan gram negatif mempunyai struktur sel yang berbeda. Oleh karena itu, penting untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan mekanisme penghambatan yang terjadi pada gram positif dan gram negatif.

Pengamatan yang dilakukan terhadap *E.Coli* selama 24 jam pertama menunjukkan bahwa penambahan kitosan pada HA-Zn mempengaruhi aktifitas antibakteri komposit K/HA-Zn. Namun, seiring dengan penambahan kitosan, zona hambat semakin mengecil. HA-Zn tercatat mempunyai zona hambat sebesar 0,25 mm sedangkan untuk komposisi 10%K, 15%K, dan 20%K berturut-turut 3 mm, 1,16 mm dan 0,5 mm. Sementara, untuk *S. Aureus* dapat diamati bahwa penambahan kitosan pada HA-Zn menurunkan kemampuan antibakteri HA-Zn sendiri. Terbukti dengan komposisi 100% HA-Zn zona hambat yang terukur adalah 6,65 mm. Sementara pada komposit 10%K, 15%K, dan 20%K 0,5; 0,25; dan 0,4 mm.

Dari data tersebut dapat dilihat bahwa zona hambat HA-Zn lebih besar ditemukan terhadap *S.Aureus* dibandingkan *E.Coli*. Hal ini sesuai dengan penelitian mengenai sifat antibakteri HA-Zn yang dilakukan oleh Radovanovic (2012) didukung oleh Kolmas (2014) yang menunjukkan bahwa *S.Aureus* lebih rentan terhadap HA-Zn dibandingkan dengan *E.Coli* ditunjang dengan adanya persentase reduksi koloni bakteri yang lebih besar pada



*S.Aureus*. Perbedaan ini terjadi karena bakteri gram positif mempunyai struktur membrane sel yang terdiri atas peptidoglikan dan asam Teichoic (TA) yang lebih mudah untuk ditembus oleh Zinc menyebabkan kerusakan pada DNA dan RNA serta menghambat reproduksi bakteri yang dapat berujung kematian (Zhou. 2007; Kolmas. 2014).

Penambahan kitosan memberikan pengaruh yang cukup signifikan terhadap aktivitas penghambatan *E.Coli* namun tidak demikian dengan *S.Aureus* (Prabu dan Natarjan. 2012). Seiring dengan penambahan kitosan, aktifitas penghambatan antibakteri komposit mulai menurun. Kitosan selain dikenal mempunyai sifat antibakteri yang baik juga dikenal mempunyai kecenderungan untuk mengikat logam berat salah satunya adalah Zn. Kemampuan mengikat ini disebut *chelation*. Beberapa penelitian membuktikan bahwa dengan adanya Zn, sisi aktif kitosan yakni grup amida pada C2 yang dihasilkan dari protonisasi cenderung berikatan dengan Zn. Adanya ikatan ini mempermudah interaksi dengan komponen anionik pada permukaan sel seperti LPS dan protein. Interaksi yang terjadi mengakibatkan perubahan struktur pada membran terluar menyebabkan terlepasnya sejumlah protein dari sel (Wang. 2004). Dengan kata lain, adanya divalen kation meningkatkan sifat antibakteri. Pada penelitian ini dengan semakin bertambahnya persen berat kitosan, persen Zn pada komposit semakin berkurang. Sehingga kemungkinan ikatan yang terjadi antara sisi aktif kitosan dengan Zn semakin kecil yang berujung pada penurunan aktifitas antibakteri komposit.

Pada pengamatan 48 jam berikutnya, aktivitas antibakteri *S. Aureus* dan *E.Coli* baik untuk komposit seluruh komposisi maupun kontrol mengalami penurunan. Hasil tersebut menegaskan bahwa kitosan pada komposit K/HA-Zn mempunyai efek bacteriostatic yang bersifat menghambat untuk rentang waktu tertentu dalam hal ini 24 jam pertama pasca inkubasi. Hal ini dapat disebabkan oleh munculnya subpopulasi bakteri resisten sebagai akibat dari adaptasi fisiologis sel terhadap paparan kitosan (Rafaat. 2008).

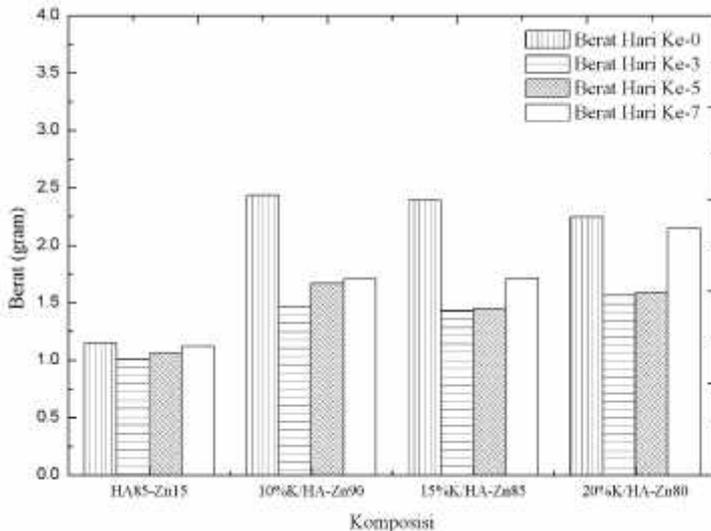


---

#### 4.4.2 Hasil Pengujian Simulated Body Fluid (SBF)

Lingkungan tubuh manusia diketahui dapat mempunyai efek merusak bagi biomaterial, karenanya setiap biomaterial harus diuji untuk melihat pengaruh lingkungan tubuh terhadap sifat biomaterial. Adanya ion dan kondisi tertentu lainnya dalam tubuh mengakibatkan biomaterial dapat kehilangan stabilitasnya, terkorosi, atau bahkan terdegradasi. Degradasi material dalam cairan tubuh bisa merupakan hal yang tidak diinginkan bergantung dari aplikasinya (Czikó. 2013). Salah satu cara menguji biomaterial dalam cairan tubuh adalah dengan menggunakan larutan SBF. Larutan SBF yang pertama kali dikembangkan oleh Kokubo (1990) mempunyai konsentrasi ion yang hampir setara dengan plasma darah manusia dan pH 7.4 yang mendekati keasaman tubuh. Selain itu, penelitian Kokubo membuktikan bahwa perendaman keramik bioaktif dalam SBF menyebabkan munculnya lapisan apatit pada permukaan keramik. Pembentukan lapisan apatit mengindikasikan bahwa material sintetik dapat berinteraksi dengan tulang induk (Geçer. 2008). Dengan kata lain, pengujian SBF merupakan salah satu cara pengujian *in vitro* yang terjangkau dan mudah untuk mensimulasikan dan mengamati biokompatibilitas biomaterial dalam tubuh.

Perendaman sampel dilakukan selama 7 hari. Dalam rentang waktu tersebut, pada hari ke 0,3,5, dan hari terakhir sampel dikeluarkan dari larutan SBF untuk ditimbang massa yang hilang selama perendaman. Dari hasil tersebut didapat data seperti pada gambar 4.9.

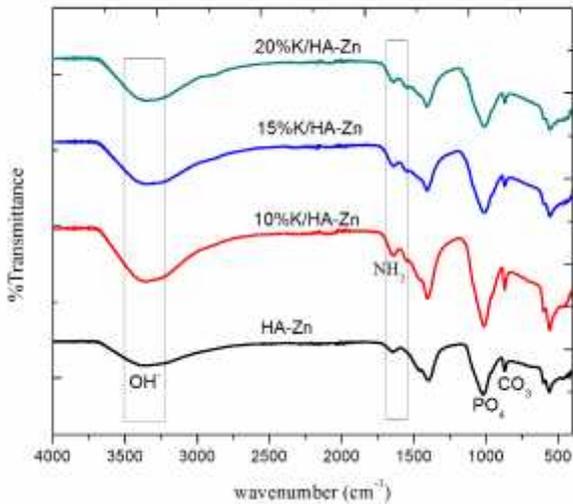


**Gambar 4.9** Hasil perendaman dalam larutan SBF selama 7 hari

Dari hasil perhitungan, didapatkan bahwa HA-Zn yang sudah dikompositkan dengan kitosan mempunyai kelarutan lebih tinggi dari HA-Zn murni. Hal ini disebabkan karena kitosan dalam komposit berinteraksi dengan larutan dan luruh terlebih dahulu. Penelitian Zhang li (2005) mengatakan bahwa bila dalam sampel fasa kitosan kurang dari fasa organik, kitosan tidak mampu menyelubungi partikel HA. Sehingga yang terjadi adalah kitosan berfungsi sebagai perekat yang menyatukan partikel-partikel HA. Selain itu, adanya porositas membuat larutan SBF lebih mudah masuk di antara porositas dan membuat kitosan yang merupakan polimer lebih mudah terdegradasi. Hal ini diperkuat dengan hasil FTIR sampel setelah 7 hari perendaman dimana peak OH pada serapan gelombang  $3000-3400\text{ cm}^{-1}$  dan peak amida pada kisaran  $1600-1650\text{ cm}^{-1}$  pada gambar 4.10 mengalami penurunan intensitas. Hal serupa juga terjadi pada penelitian yang

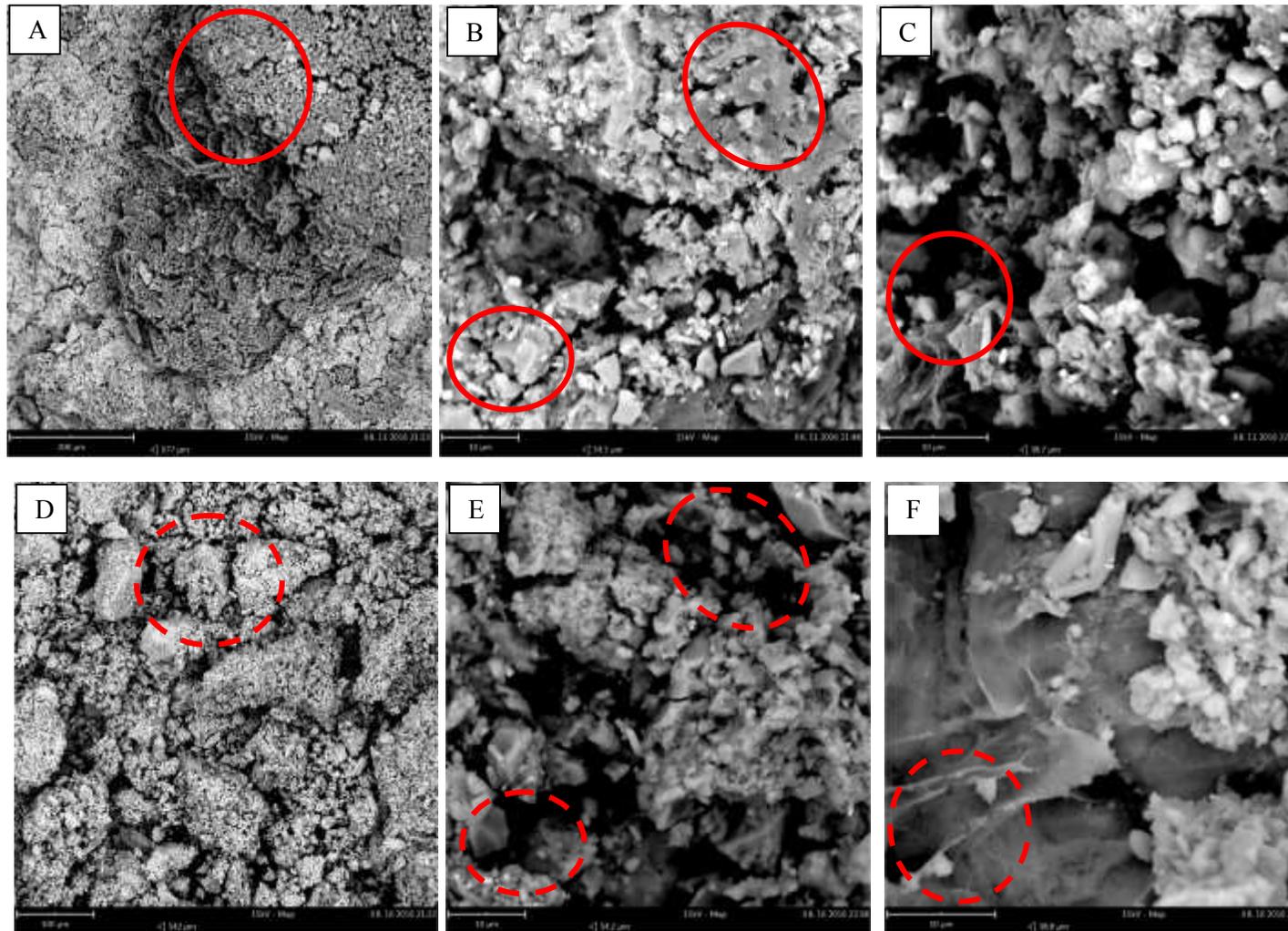


dilakukan Maachou (2008) mengenai membrane komposit kitosan/hidroksiapatit yang disintesis menggunakan metode Freeze-Gelation.



**Gambar 4.10** Hasil pengujian FTIR setelah perendaman dalam larutan SBF 7 hari

Selain dapat dilihat dari hasil FTIR, hasil SEM morfologi permukaan mengindikasikan hal yang sama. Pada gambar 4.11, ditandai dengan lingkaran merah, kitosan sudah tidak lagi terlihat. Sebelum perendaman terdapat struktur seperti perekat yang menyatukan butiran-butiran HA-Zn. Namun, setelah perendaman perekat tersebut hilang menyisakan porositas antara butiran HA-Zn satu dengan lainnya, sehingga struktur yang mirip seperti perekat ini dapat diasumsikan sebagai kitosan.



Sebelum SBF

Setelah Perendaman SBF

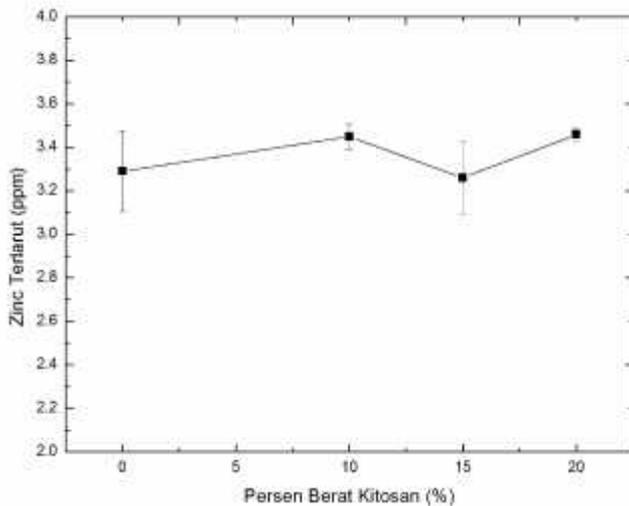
**Gambar 4.11** Morfologi permukaan komposit Pra (kiri) dan Pasca (Kanan) Perendaman Dalam Larutan SBF; (A) 10%K/HA-Zn90; (B) 15%K/HA-Zn85; (C) 20%K/HA-Zn



## LAPORAN TUGAS AKHIR

### Jurusan Teknik Material dan Metalurgi

Meskipun kitosan diduga lebih dahulu terdegradasi, tidak menutup kemungkinan kalsium dan zinc pada komposit selanjutnya terdegradasi setelah kitosan yang berfungsi sebagai perekat luruh dalam SBF. Tubuh manusia mengandung 2-3 gram zinc, dan hampir 90% ditemukan dalam otot dan tulang. Dari hasil pengujian AAS, Zinc yang terlarut dalam larutan SBF mengalami peningkatan seiring dengan penambahan kitosan, namun peluruhan yang dihasilkan masih dalam ambang batas aman Zinc dalam darah. Hasil tersebut dapat dilihat pada gambar 4.12 dibawah ini.



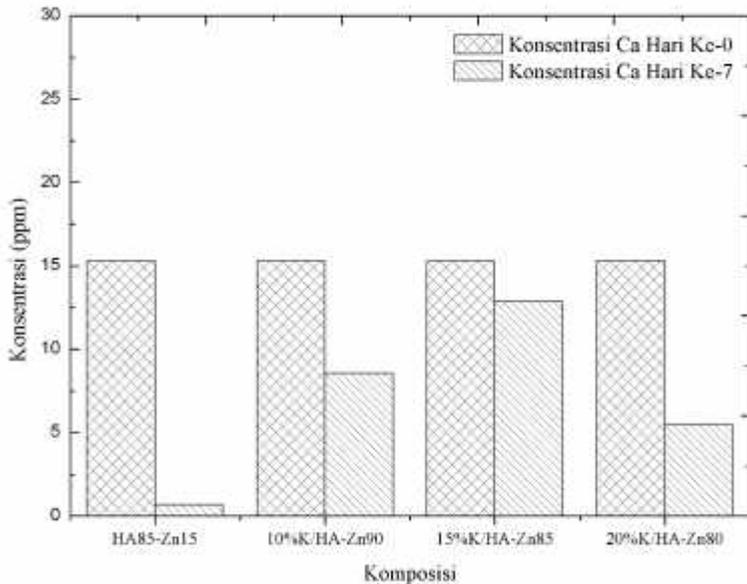
**Gambar 4.12** Hasil pengujian Zinc terlarut hari ke-7 perendaman

Konsentrasi zinc pada manusia normal dalam sel darah merah berada pada kisaran 3.6 – 25.4 ppm, sedangkan pada plasma darah berkisar 0.49-7.70 ppm (Herring. 1996). Perlu diingat bahwa kisaran kadar konsentrasi Zinc pada darah berbeda



untuk setiap populasi (Mumtaz. 1998). Perbedaan ini dikarenakan faktor geografis, lingkungan, dan pola makan yang berbeda. Selain itu, karena zinc merupakan salah satu elemen logam penting dalam tubuh yang berperan dalam penyembuhan luka, fungsi imunitas, fungsi enzimatis, dan persepsi terhadap bau dan rasa, sehingga kadar zinc dalam darah akan berkurang. Disisi lain, tubuh tidak menyimpan zinc sehingga diperlukan asupan zinc secara regular (Kaur. 2014). Kasus toksisitas akut akibat zinc umumnya terjadi karena paparan zinc yang berlebihan terutama melalui pola makan menyebabkan gangguan gastrointestinal yang ditandai dengan keluhan nyeri perut, mual, diare, dan muntah-muntah (WHO Publication. 2011). Walaupun masih dalam ambang batas aman, masih perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai laju pelepasan Zinc pada komposit K/HA-Zn apakah pada waktu pengamatan lebih lama pelepasan zinc yang terjadi lebih signifikan.

Material pengganti tulang yang baik haruslah mempunyai kemampuan bioaktifitas untuk memicu pertumbuhan sel tulang. Kemampuan bioaktifitas dapat dilihat melalui terbentuknya lapisan apatit pada permukaan sampel. Hasil perendaman dalam SBF selama 7 hari mengindikasikan terjadinya peningkatan massa pada hari ke 5 hingga 7. Peningkatan ini dapat terjadi karena adanya inti apatit yang mulai tumbuh pada permukaan sampel. Terbentuknya lapisan apatit berhubungan dengan adanya penurunan konsentrasi ion Ca dan P pada larutan SBF. Grafik pengaruh penambahan komposisi kitosan dengan penurunan konsentrasi ion Ca disajikan pada gambar 4.13.



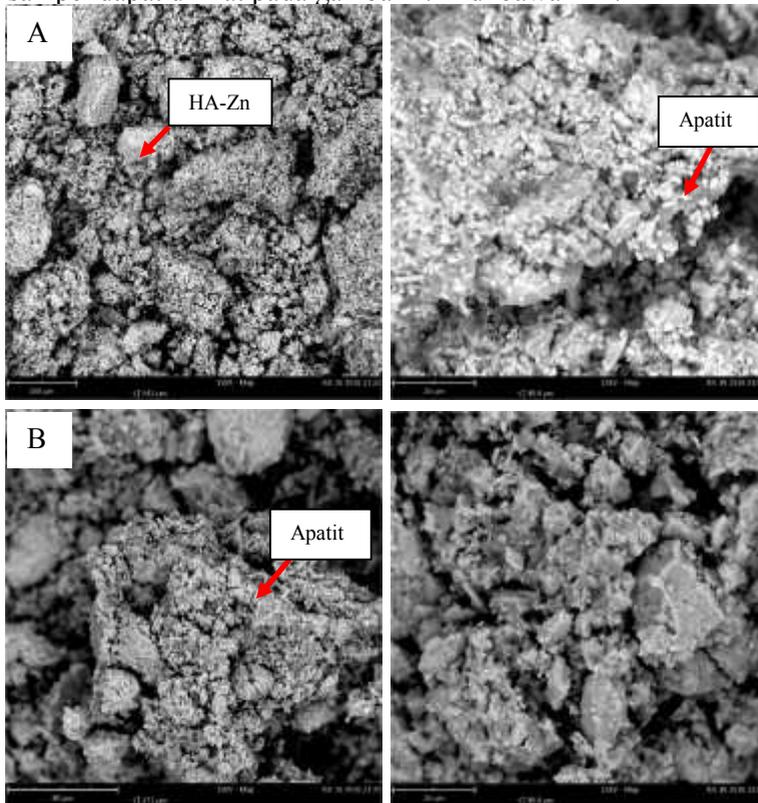
**Gambar 4.13** Grafik pengurangan konsentrasi ion Ca dalam fungsi persen berat kitosan

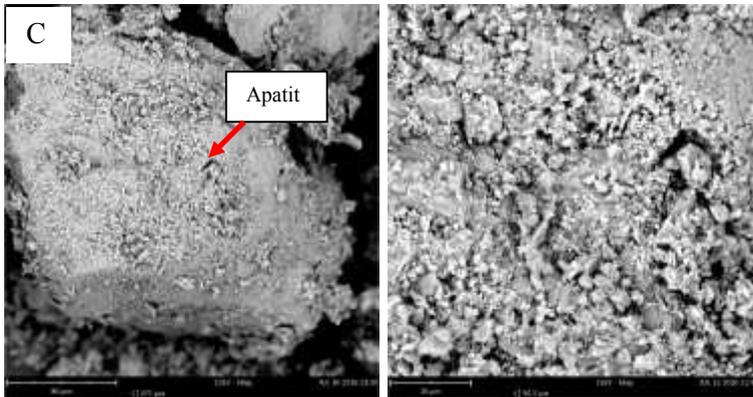
Dari grafik tersebut, dapat diamati bahwa pengurangan konsentrasi ion Ca terbesar terjadi pada HA-Zn, yakni sebesar 98,16% dari 15,29 ppm turun menjadi 0,28 ppm. 10%K/HA-Zn menempati posisi ke-dua yakni dari 15,29 ppm menjadi 8,55 ppm atau terjadi penurunan sebesar 44,08%. Untuk komposisi 15%K/HA-Zn95 penurunan terjadi dari 15,29 ppm menjadi 12,83 ppm mengindikasikan penurunan konsentrasi Kalsium pada larutan sebanyak 16,09%. Namun, pada komposisi 20%K/HA-Zn80, pengurangan kalsium kembali meningkat menjadi 64,29% atau dari 15,29 ppm menjadi 5,46 ppm. Dari hasil dapat diamati tren yang terjadi adalah dengan meningkatnya kitosan, pengurangan ion Ca yang terjadi semakin berkurang. Hal ini dapat disebabkan karena adanya HA-Zn pada sampel 10%K/HA-



Zn lebih banyak dari sampel lainnya, sehingga kecenderungan HA-Zn untuk menarik ion kalsium lebih besar. Ion kalsium digunakan dalam pembentukan lapisan apatit, mengakibatkan semakin banyak berkurang konsentrasi Ca pada larutan kemungkinan ditemukan lapisan apatit lebih banyak pada permukaan (Maachou. 2008).

Di sisi lain, pembentukan apatit juga dapat dianalisa melalui hasil FTIR yang menunjukkan bahwa setelah 7 hari perendaman, peak karakteristik untuk kitosan yakni peak amida mengalami penurunan kemungkinan disebabkan adanya interaksi pembentukan apatit (Maachou. 2008). Morfologi permukaan sampel dapat dilihat pada gambar 4.14 di bawah ini.





**Gambar 4. 14** Hasil pengujian morfologi SEM setelah perendaman dalam larutan SBF 7 hari: (a) sampel 10%K/HA-Zn90 perbesaran 400x dan 3000x;(b) sampel 15%K/HA-Zn85 perbesaran 1000x dan 3000x;(c) sampel 20%K/HA-Zn80 perbesaran 1000x dan 3000x

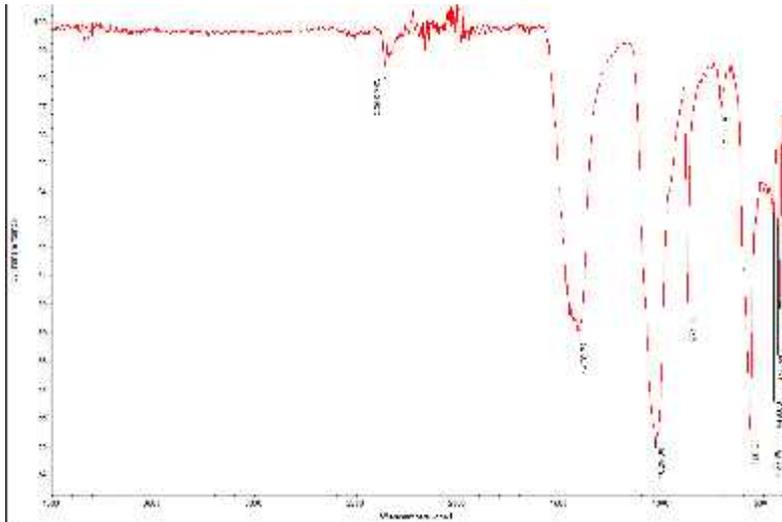
Dari hasil SEM permukaan sampel 10% kitosan, terlihat adanya butiran butiran putih yang sudah mulai menutupi bongkahan HA-Zn. Butiran putih halus inilah yang disebut apatit. Pada ketiga sampel komposit ditemukan apatit meskipun dalam intensitas yang berbeda. Kehadiran apatit menandakan kemampuan bioaktifitas yang baik. Selain itu, pada sampel tidak terlihat kitosan yang berfungsi sebagai perekat antara gumpalan HA-Zn. Tidak terlihatnya kitosan didukung oleh penelitian zhang li (2015) yang mengatakan perendaman dalam SBF mengakibatkan kitosan terdegradasi terlebih dahulu.



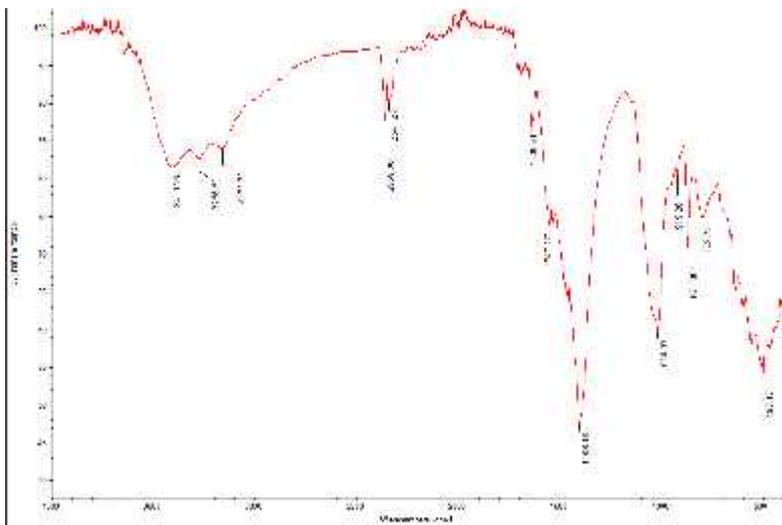
*(halaman ini sengaja dikosongkan)*



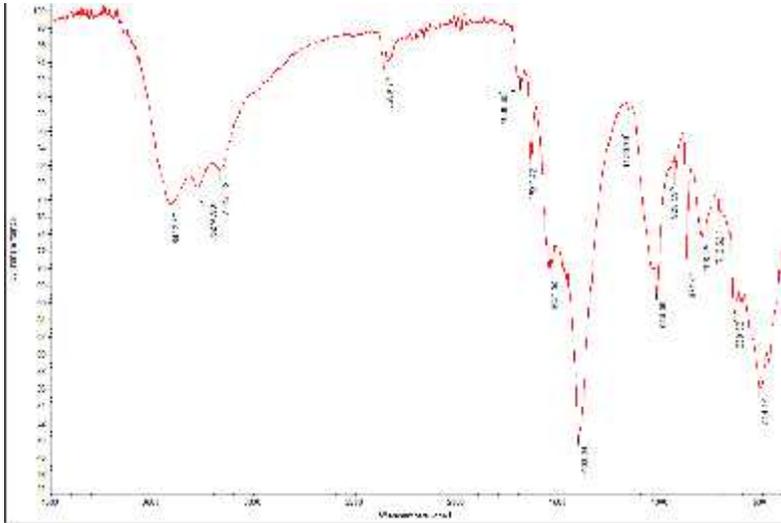
LAMPIRAN



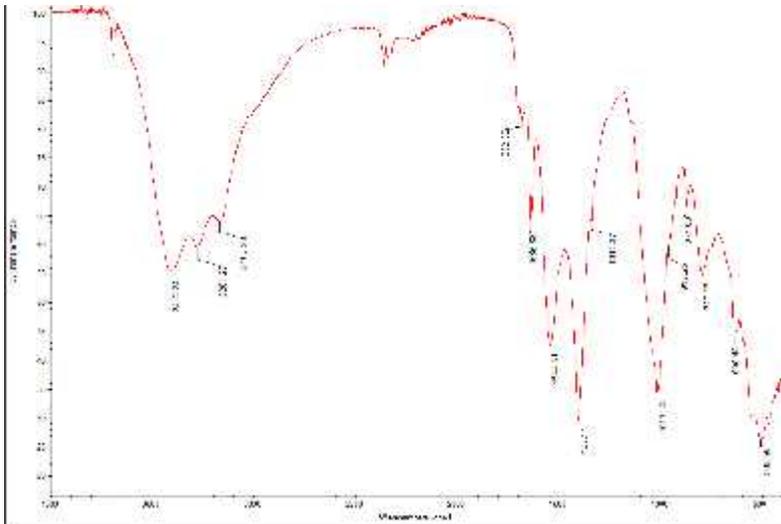
Gambar 1. Hasil FTIR HA-Zn



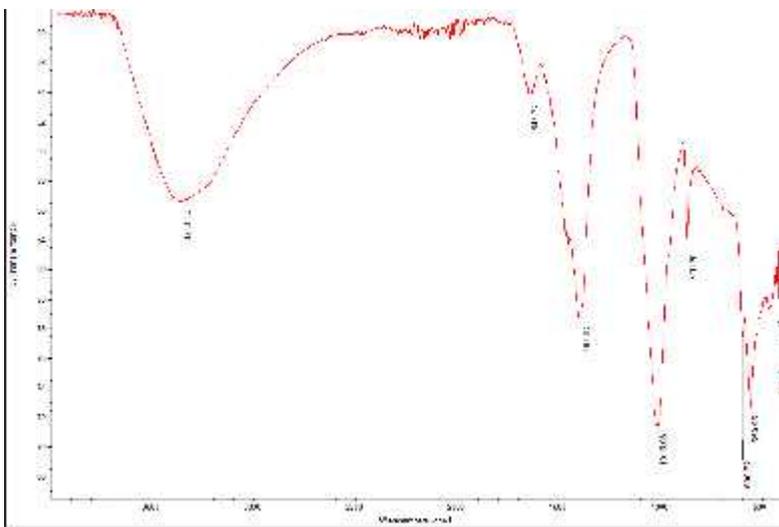
Gambar 2. Hasil FTIR Komposit 10%K/HA-Zn90



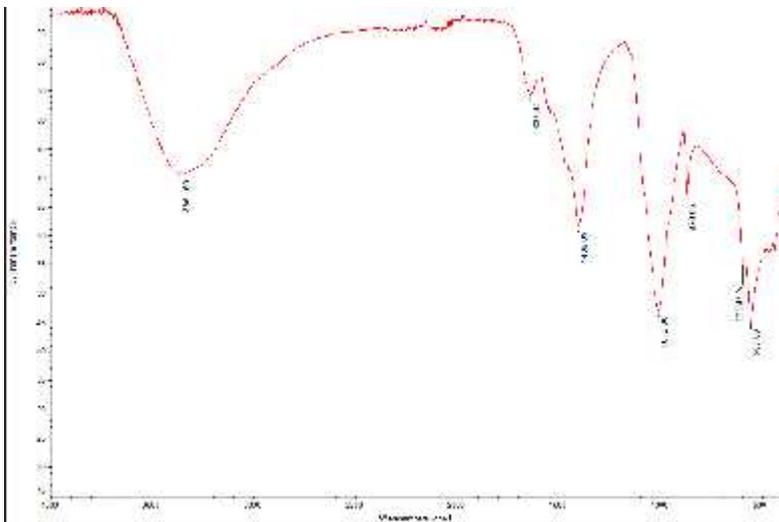
Gambar 3. Hasil FTIR Komposit 15%K/HA-Zn85



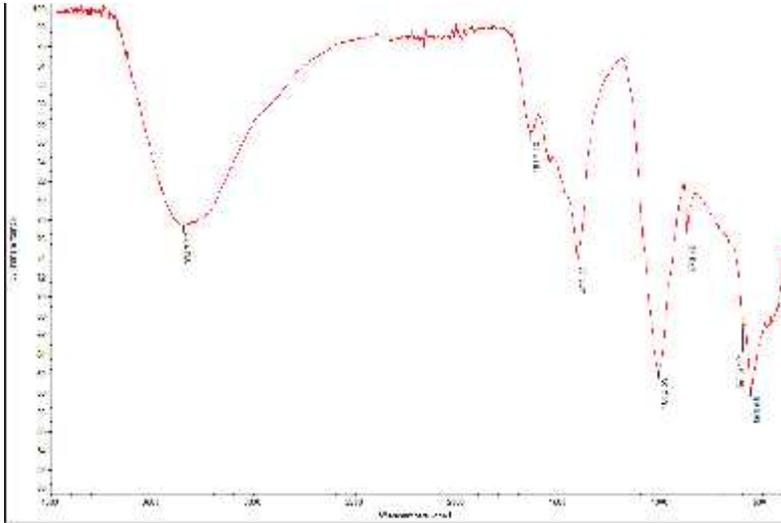
Gambar 4. Hasil FTIR Komposit 20%K/HA-Zn80



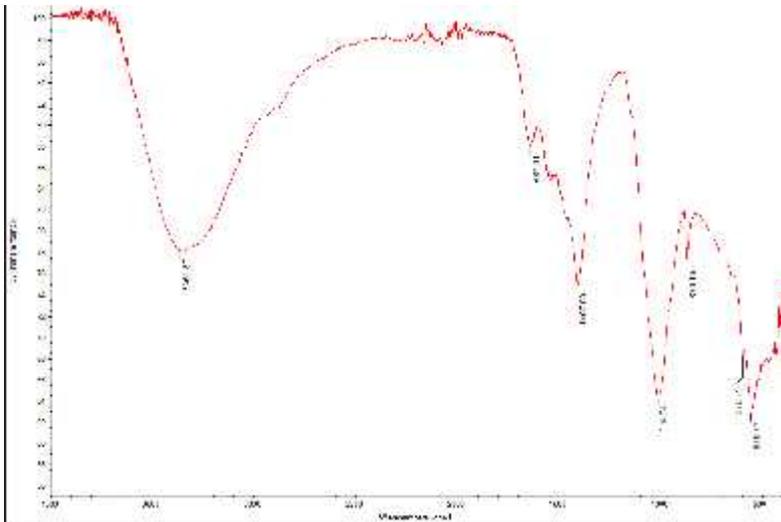
Gambar 5. Hasil FTIR Setelah Perendaman SBF HA-Zn



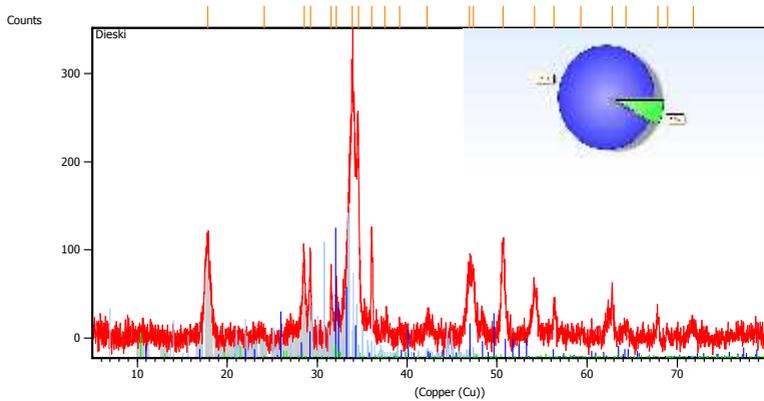
Gambar 6. Hasil FTIR setelah Perendaman SBF Komposit  
10%K/HA-Zn



Gambar 7. Hasil FTIR setelah perendaman SBF Komposit 15%K/HA-Zn



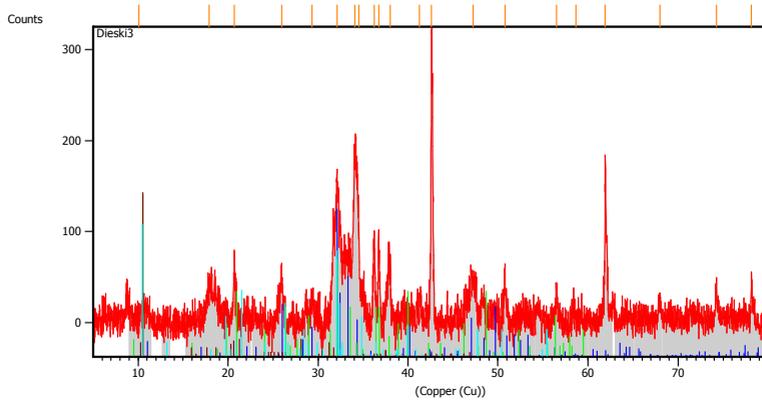
Gambar 8. Hasil FTIR Setelah Perendaman Komposit 20%K/HA-Zn



Gambar 8. Hasil XRD HA-Zn

Tabel 1. Peak List Hasil XRD HA-Zn

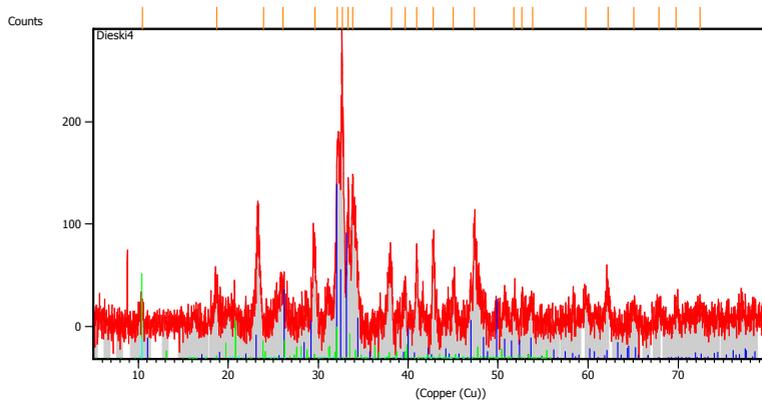
	Height [cts]	d spacing [Å]	Rel. Int. [%]
17.8024	107.55	0.5510	31.70
24.1210	10.19	0.7872	3.29
28.5120	88.73	0.1574	28.83
29.2218	82.41	0.1968	26.59
31.5281	78.27	0.1574	25.25
32.0721	64.32	0.1181	20.75
33.8862	309.96	0.1968	100.00
34.5513	239.66	0.1181	77.32
36.0161	131.74	0.0984	42.50
37.5067	11.22	0.6298	3.62
39.1798	13.57	0.4723	4.38
42.2598	20.83	0.7872	6.72
46.9544	81.91	0.4723	26.43
47.4072	67.60	0.7362	21.81
50.6852	108.84	0.3149	35.12
54.1668	53.35	0.3936	17.21
56.3178	37.75	0.1968	12.18
59.2821	6.40	0.9446	2.07
62.7706	53.90	0.1181	17.39
64.3314	15.01	0.5448	4.84
67.8545	24.80	0.2362	8.00
68.9134	11.84	0.2362	3.82
71.7741	16.84	0.4723	5.43



Gambar 9. Hasil XRD Komposit 10%K/HA-Zn90

Tabel 2. Peak List Komposit 10%K/HA-Zn90

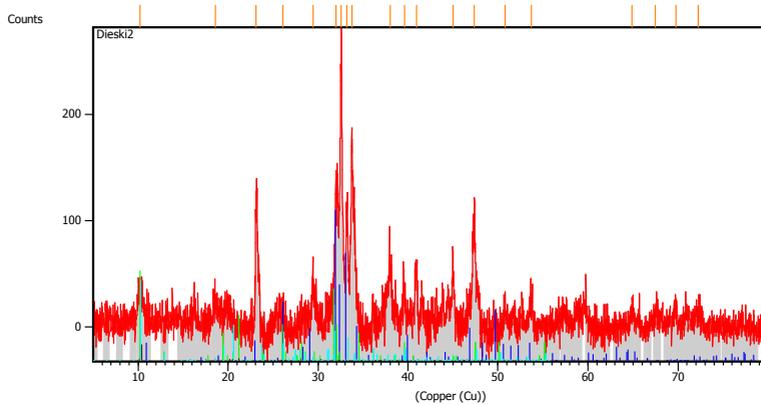
	Height [cts]	$d$ -spacing [Å]	Rel. Int. [%]
10.1000	17.33	0.9446	5.49
17.3893	42.15	0.9446	13.35
20.6629	66.86	0.1181	21.19
29.3002	62.10	0.3119	19.68
29.3081	29.80	0.9446	9.44
32.1112	168.83	0.3906	53.51
34.0541	185.72	0.2362	58.86
37.0837	138.31	0.2462	42.25
36.2327	85.10	0.1968	26.07
36.4186	90.88	0.1874	28.79
37.9717	62.03	0.2755	19.66
41.3153	17.17	0.3149	5.44
42.6443	315.53	0.1181	100.00
47.2468	34.48	0.6798	10.92
50.7730	47.50	0.3149	15.18
56.5226	32.61	0.2462	10.33
58.6749	7.66	0.9446	2.24
61.0131	148.53	0.0787	47.07
67.9682	20.24	0.2362	6.42
74.2380	40.60	0.1181	12.87
78.1623	42.20	0.1181	13.37



Gambar 10. Hasil Pengujian XRD 15%K/HA-Zn85

Tabel 3. Peak List Komposit 15%K/HA-Zn 85

	Height [cts]	d spacing [Å]	Rel. Int. [%]
10.4563	15.63	0.5510	5.25
18.7060	37.93	0.3936	12.94
23.9200	109.00	0.1968	36.62
26.0716	12.41	0.3936	10.96
29.0365	65.86	0.2755	22.13
32.0797	177.60	0.2362	39.66
32.6539	297.67	0.0787	100.00
33.2803	131.71	0.1968	41.26
33.7885	129.61	0.1968	39.55
38.1461	48.35	0.3542	16.24
39.6781	35.91	0.3936	13.07
40.9493	71.83	0.1968	24.13
42.8176	82.62	0.2362	27.76
45.0555	59.84	0.3149	19.38
47.7823	96.23	0.1968	32.32
51.7530	12.36	0.3936	4.15
52.6643	22.69	0.2362	7.62
53.8890	12.60	0.4723	4.33
59.7568	21.13	0.4125	7.10
62.1937	29.83	0.3936	10.02
65.0548	20.96	0.5510	7.04
67.8898	16.71	0.4723	5.61
69.7938	15.45	0.5149	4.82
72.4505	13.35	0.6228	4.48



Gambar 11. Hasil XRD Komposit 20%K/HA-Zn80

Tabel 4. Peak list Komposit 20%K/HA-Zn80

	Height [cts]	d-spacing [Å]	Rcl. Int. [%]
10.2196	35.77	0.2755	12.40
18.5553	17.86	0.6298	6.19
23.1043	123.79	0.1574	42.90
26.0800	24.89	0.2562	8.66
29.4150	42.58	0.2562	14.76
31.9373	139.90	0.1958	48.49
32.5667	288.53	0.1181	100.00
33.1782	111.48	0.1958	38.64
33.7387	186.22	0.1574	64.54
37.9697	57.13	0.3149	19.80
39.6113	31.78	0.3149	11.01
40.9432	53.35	0.3149	18.49
45.0059	59.96	0.1181	20.78
47.3754	120.03	0.2755	41.60
50.8117	19.75	0.4723	6.85
53.7213	21.19	0.3936	7.34
64.8750	17.33	0.4723	6.01
67.4845	11.65	0.9446	4.04
69.7497	18.80	0.3936	6.52
72.2384	12.60	0.6398	4.37



Tabel 5. Hasil Pengujian SBF hari ke 3,5, dan 7

Komposisi	Hari Perendaman Ke			
	Berat (gram)			
	0	3	5	7
HA <sub>85</sub> -Zn <sub>15</sub>	1.1484	1.01	1.06	1.12
10%K/HA-Zn90	2.4387	1.4636	1.67	1.71
15%K/HA-Zn85	2.3902	1.4287	1.45	1.71
20%K/HA-Zn80	2.2462	1.5654	1.59	2.15

Tabel 6. Hasil Pengujian Antibakteri

Komposisi	Diameter Zona Hambat (mm)							
	S.Aureus 24 Jam		S. Aureus 48 Jam		E.Coli 24 Jam		E.Coli 48 Jam	
	I	II	I	II	I	II	I	II
HA <sub>85</sub> -Zn <sub>15</sub>	1.5	1.1	1.2	0.95	0.65	0	0	0
	1.4	1	1.4	0.9	0.65	0	0	0
	1.4	1.2	1.1	0.95	0.65	0	0	0
10%K/HA- Zn90	0.61	0.65	0.61	0	0.7	1.1	0.8	0.7
	0.65	0.65	0.61	0	0.7	0.9	0.65	0.65
	0.63	0.7	0.61	0	0.7	1.1	0.8	0.7
15%K/HA- Zn85	0.61	0.62	0.61	0.61	0.7	0.8	0	0.75
	0.65	0.6	0.61	0.61	0.7	0.7	0	0.7
	0.65	0.61	0.61	0.61	0.7	0.7	0	0.75
20%K/HA- Zn80	0.61	0.61	0	0	0.7	0.65	0	0
	0.61	0.6	0	0	0.65	0.65	0	0
	0.61	0.61	0	0	0.65	0.65	0	0



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI

**INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER**  
**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT**

Gedung LPPM, Kampus ITS Sukolilo - Surabaya 60111  
Telp : 031 - 5953758, 5939940, Fax : 031 - 8985795, PABX : 1404, 1405  
http://www.itsm.id.ac.id

FR/LL-ITS/8.10-02

**LAPORAN HASIL ANALISA**

- |                         |  |
|-------------------------|--|
| 1. Nomor Laboratorium : | G174/A/VI/2016   |
| 2. Nama :               | NOVIHANA NOOR PRADITA                                      |
| 3. Alamat :             | Jl. Wonorejo Penun Rengency Dhir Kav. 52, Bangunt Sunabaya |
| 4. Jurusan :            | Teknik Material dan Metalurgi FTI-ITS                      |
| 5. Jenis Pengukuran :   | AAS  |
| 6. Kode Sampel :        | LL-ITS-0318  |
| 7. Hasil Pengukuran :   |  |

No	Nama Sampel	Parameter Pengujian	Satuan	Hasil Pengujian	Metode Pengujian
1	S1 HA - Zn	Zn	ppm	3,42	SNI 6569.7-2008
2	S2 HA - Zn			3,18	
3	S2 10% K			3,48	
4	S2 15% K			3,58	
5	S2 20% K			3,48	
6	S1 10% K			3,41	
7	S1 15% K			3,14	
8	S1 20% K			3,44	
9	S1 HA - Zn	Ca	ppm	0,28	SNI 06-6388.56-2005
10	S2 HA - Zn			0,09	
11	S2 10% K			12,41	
12	S2 15% K			12,83	
13	S2 20% K			5,46	
14	S1 10% K			8,55	
15	S1 15% K			47,72	
16	S1 20% K			42,01	

**Catatan:**

- Hasil uji hanya dari contoh sampel air yang diambil
- Laboratorium tidak bertanggung jawab atas kerugian pada pihak ke tiga
- Laporan hasil pengujian tidak dapat digunakan sebagai alat bukti hukum
- Laporan hasil Pengujian hanya diperbanyak secara utuh

Surabaya, 14 Juli 2016  
Kepala Laboratorium Lingkungan LPPM-ITS

Siti Nurhidayah, ST., MS., Ph.D  
NIP. 19840501 200912 2 004



---

## BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian dan analisis data yang telah dilakukan dari studi pengaruh kitosan terhadap sifat biokompatibilitas komposit K/HA-Zn, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Pengaruh penambahan kitosan terhadap sifat biokompatibilitas komposit K/HA-Zn
  - Aktivitas antibakteri lebih besar ditemukan terhadap E.Coli daripada S.Aureus pada komposisi 10%K/HA-Zn90 dengan zona hambat 3 mm.
  - Pada hari ketujuh pengamatan, ditemukan adanya apatit pada permukaan komposit yang ditandai dengan munculnya lapisan berwarna putih pada komposit.
2. Komposisi optimal yang didapatkan adalah 10%K/HA-Zn90 ditinjau dari aktivitas antibakteri dan lapisan apatit yang terbentuk pada permukaan komposit.

### 5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya, berikut beberapa saran yang dapat diperhatikan :

1. Pada saat melaksanakan pengujian SBF, larutan yang digunakan untuk merendam sampel harus lebih besar dari 60 ml per sampel dikarenakan penyerapan air oleh sampel cukup banyak dan cepat sehingga mengantisipasi jumlah larutan yang terlalu sedikit untuk diuji menggunakan AAS.
2. Pengujian AAS sebaiknya dilakukan per hari agar pelepasan zinc dan pengurangan kalsium pada larutan lebih terlihat
3. Perlu di lakukan penelitian lebih lanjut mengenai konsentrasi minimum penghambatan bakteri (MIC) dan MBC supaya dapat lebih menegaskan sifat bakteristatis kitosan



*(halaman ini sengaja dikosongkan)*



---

**DAFTAR PUSTAKA**

- Agustina, Sry, I.M.Swantara, dan I.N.Suartha. 2015. "Isolasi Kitin, Karakterisasi, dan Sintesis Kitosan Dari Kulit Udadang." **Jurnal Kimia** 9 (2): 271-278.
- Bhattacharjee, Promitha, H.Begam, A.Chanda, dan S.K.Nandi. 2014. "Animal trial on zinc doped hydroxyapatite: A case study." **Journal of Asian Ceramic Society** (2): 44-51.
- Byrne, F.M, dan M.H. Wilcox. 2011. "MRSA prevention strategies and current guidelines." **Injury, Int. J. Care Injured** S3-S6.
- Cremet.Lisa, S.Corvec, P.Bemer, L.Bret, C.Lebrun, B.Lesimple, A-F.Miegeville, A.Reynaud, D.Lepelletier, dan N.Caroff. 2012. "Orthopaedic-implant infections by Escherichia coli:Molecular and phenotypic analysis of the causative Analysis." **Journal of Infections** 64: 169-175.
- Czikó, Melinda., E-S Bogya, R.Barabás, L.Bizo, dan R.Stefan. 2013. "In vitro biological activity comparison of some hydroxyapatite-based composite materials using simulated body fluid." **Central European Journal of Chemistry** 11 (10): 1583-1598.
- Danilchenko, S N; O. V.Kalinkevich, M.V.Pogorelov, A.N.Kalinkevich, A.M. Skylar, T.G. Kalinichenko, V.Y. Ilyashenko, V.V.Starikov, V.I. Bumeyster, V.Z. Sikora, L.F. Sukhodub, A.G. Mamalis, S.N. Lavrynenko, dan J.J. Ramsden. 2009. "Chitosan–hydroxyapatite composite biomaterials made by a one step co-precipitation." **Journal of Biological Physics and Chemistry** 9 (3): 119 -126.
- Deepa , C., A.N.Begum, dan S.Aravindan. 2013. "Preparations and Antimicrobial Observations of Zinc Doped Nanohydroxyapatite." **Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics** 4 (3): 370-377.



- Gecer,A, N.Yıldız, D.Kavak, dan A.C.alımlı. 2009. "Comparison of Chitosan Apatite Composites Synthesized by Different Methods." **Polymer Composite** 288-295.
- Gunawan, Sopyan, Suryanto, dan A naqshbandi. 2014. "Zinc-doped biphasic Calcium Phosphate Nanopowders Synthesized Via Sol-Gel Method." **Indian Journal Of Chemistry** 53A: 152-158.
- Islam,M.M., S.M.Masum, M.M.Rahman, Molla, M.A.Islam; A.A. Shaikh, dan S.K.Roy. 2011. "Preparation of Chitosan from Shrimp Shell and Investigation of Its Properties." **International Journal of Basic & Applied Sciences** 11 (1): 77-80.
- Istifarah. 2012. *Sintesis dan Karakterisasi Komposit Hidroksiapatit dari Tulang Sotong (Sepia sp.)-Kitosan untuk Kandidat Aplikasi Bone Filler*. Skripsi. Fsaintek Unair; Surabaya
- Kalita, Samar J., dan H.A. Bhatt. 2007. "Nanocrystalline hydroxyapatite doped with magnesium and zinc: Synthesis and characterization." **Materials Science and Engineering C** 27: 837 – 848.
- Kaur, K., R.Gupta, S.A.Saraf, dan S.K.Saraf. 2014. "Zinc: The Metal of Life." **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 13: 358-376.
- Kolmas, Joanna., E.Groszyk, dan D.K-Rózycka. 2014. "Substituted Hydroxyapatites with Antibacterial Properties." **BioMed Research International** 1-15.
- Li, Zhang., Li Yubao, Yang Aiping, Peng Xuelin, Wang Xuejiang dan Zhang Xiang,. 2005. "Preparation and in vitro investigation of chitosan/nano-hydroxyapatite composite used as bone substitute materials." **Journal of Materials Science: Materials in Medicine** 16: 213-219.
- Maachou, H., K.E. Bal, Y. Balb, Chagnes, G. Cote, dan D. Alliouche. 2008. "Characterization and In Vitro Bioactivity of Chitosan/Hydroxyapatite Composite



- Membrane Prepared by Freeze-Gelation Method." **Trends Biomater. Artif. Organs** 22 (1): 16-27.
- Moldovan, M, D. Prodan, V.Popescu, C.Prejmerean, C.Saroși, M.Saplontăi, S.Țălu, dan E.Vasile. 2015. "Structural and morphological properties of HA-ZnO powders prepared for biomaterials." **Open Chemistry** 13: 725-733
- Mumtaz, Majid, A.Siddique, N.Mukhtar, dan T.Mehboob. 1999. "Status of Trace Elements Level in Blood Samples of Different Age Population of Karachi (Pakistan)." **Journal of Medical Science** 29: 697-699.
- Nguyen Ngoc Hung. 2012. Basic Knowledge of Bone Grafting, Bone Grafting, Dr Alessandro Zorzi (Ed.), ISBN: 978-953-51-0324-0, InTech, DOI: 10.5772/30442. Available from: <http://www.intechopen.com/books/bone-grafting/basic-knowledge-of-bone-grafting>
- Prabu, K., dan E. Natarajan. 2012. "In Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activity of Chitosan Isolated from Podophthalmus Vigil." **Journal of Applied Pharmaceutical Science** 2 (9): 75-82.
- Purnomo, Agus. S.T.Wicaksono, dan H.Ardhyananta. 2016. *Pengaruh Penambahan Kitosan Terhadap Sifat Mekanik Komposit Kitosan - Hidroksiapatit Terdoping Seng Sebagai Kandidat Material Pengganti Tulang*. Skripsi, Surabaya: ITS .
- Puvvada, Y.S., S.Vankayalapati, dan S.Sukhavasi3. 2012. "Extraction of chitin from chitosan from exoskeleton of shrimp for application in the pharmaceutical industry." **International Current Pharmaceutical Journal** 1 (9): 258-263.
- Raafat, Dina. 2008. *Chitosan as an antimicrobial compound: Modes of action and resistance mechanisms*. **Dr.rer.nat Dissertation**, Bonn: Universität Bonn.
- Radovanovic,S, D.Veljovic, B.Jokic, S.Dimitrijevic, G.Bogdanovic, V.Kojic, R.petrovic, dan D.Janackovic.



---

2012. "Biocompatibility and antimicrobial activity of zinc(II)-doped hydroxyapatite, synthesized by a hydrothermal method." **Journal of the serbian chemical society** 1787-1798.

Ren, Fuzeng., R.Xin, X.Ge, dan Y.Leng. 2009. "Characterization and structural analysis of zinc-substituted hydroxyapatites." **Acta Biomaterialia** 5: 3141–3149.



### **BIODATA PENULIS**

Penulis bernama lengkap Novihana Noor Pradita dilahirkan di kota Denpasar pada tanggal 11 November 1994. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal di SDIT Tawakkal Denpasar, SMPIT Tawakkal Denpasar, dan sempat mengenyam pendidikan satu tahun di SMA PGRI 4 Denpasar sebelum akhirnya melanjutkan studi di SMA Negeri 26 Jakarta Selatan. Lulus SMA tahun 2012, penulis diterima di Jurusan Teknik Material dan Metalurgi Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif di AIESEC Surabaya baik menjadi panitia project maupun pengurus. Penulis memulai keanggotaan di AIESEC sebagai staff Project Quality Control dan sempat mendapatkan gelar sebagai staff terbaik. Setelah itu, penulis melanjutkan menjadi Manager Incoming Exchange 2014/2015 pada semester pertama dan menutup keanggotaan di AIESEC sebagai Manager Legality and Governance 2014/2015, department finance and governance. Selain itu, penulis pernah menjadi ketua konferensi Local Committee Surabaya (LCC) yang merupakan konferensi tahunan AIESEC bagi member baru. Di luar AIESEC, penulis juga pernah terlibat sebagai pengajar sukarela untuk anak yatim piatu kelas 2 dan 4 SD di Yayasan Nurul Hayat.