

Karakteristik Degradasi dari Biomaterial Poli- (kaprolakton-kitosan-hidroksiapatit) Iradiasi Dalam Larutan *Simulated Body Fluid*

Degradation Characteristics of Irradiated Poly-(caprolactone- chitosan-hydroxyapatite) Biomaterial in Simulated Body Fluid Solution

Yessy Warastuti dan Nani Suryani

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, BATAN
Jl. Lebak Bulus Raya, No 49 Pasar Jumat Jakarta Selatan
e-mail : yessyw@batan.go.id; warastuti79@gmail.com

Diterima 01 April 2013; Disetujui 15 Mei 2013

ABSTRAK

Karakteristik Degradasi dari Biomaterial Poli-(kaprolakton-kitosan-hidroksiapatit) Iradiasi Dalam Larutan *Simulated Body Fluid*. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari karakteristik degradasi komposit poli-(kaprolakton-kitosan-hidroksiapatit) dalam larutan *simulated body fluid* (SBF). Membran komposit dibuat dengan metode pencampuran dan pengadukan sampai homogen menggunakan pelarut asam asetat kemudian dicetak menjadi membran tipis. Iradiasi dengan mesin berkas elektron pada dosis 0 kGy s/d 30 kGy dilakukan untuk melihat pengaruhnya terhadap karakteristik membran. Pengujian absorpsi dalam SBF dilakukan dengan variasi waktu perendaman, dan uji degradasi dilakukan selama 0 s/d 12 minggu, sedangkan identifikasi gugus fungsi menggunakan *Fourier Transform Infra Red Spectroscopy* (FTIR), serta analisis struktur mikro permukaan membran komposit sebelum dan setelah perendaman dalam SBF dilakukan dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Hasil evaluasi menunjukkan bahwa absorpsi membran dalam SBF menurun karena proses iradiasi yang menyebabkan gugus NH_2 yang berkontribusi pada sifat hidrofilisitas pada kitosan mengalami pemutusan. Absorpsi maksimal pada komposit III ($58,2\% \pm 2,22$) disebabkan karena komposit III memiliki konsentrasi polikaprolakton paling kecil dan kitosan paling besar, sehingga sifat hidrofobitasnya menurun. Uji degradasi menunjukkan bahwa degradasi optimal dicapai oleh komposit III ($1,3\% \pm 0,98$) setelah 8 minggu perendaman. Hasil uji spektrum FTIR menunjukkan gabungan puncak yang khas dari bahan penyusunnya dan terbentuk spektrum spesifik untuk CO_3^{2-} dari apatit terkarbonasi akibat perendaman dalam SBF. Hal tersebut diperkuat dari hasil uji struktur mikro dengan SEM yang memperlihatkan adanya lapisan apatit atau endapan kalsium fosfat, berbentuk seperti jarum kecil merata pada seluruh permukaan membran. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa komposit poli-(kaprolakton-kitosan-hidroksiapatit) potensial digunakan sebagai biomaterial.

Kata Kunci: poli-kaprolakton, kitosan, degradasi, *simulated body fluid* (SBF)

ABSTRACT

Degradation Characteristics of Irradiated Poly-(caprolactone-chitosan-hydroxyapatite) Biomaterial in Simulated Body Fluid Solution. This investigation purpose was to study degradation characteristics of poly-(caprolactone-chitosan-hydroxyapatite) biomaterial in simulated body fluid (SBF) solution. A composite membrane has been synthesized using blending and stirring method with acetic acid solvent and then molded into thin film. Electron beam radiation dose 0 - 30 kGy were done in order to evaluate radiation effects. SBF absorption with various immersing times and degradation for 0 - 12 weeks were conducted. Fourier Transform Infra Red Spectroscopy (FTIR) was used to identify functional groups of composite and Scanning Electron Microscopy (SEM) was

applied to analyse micro structural surface of membrane before and after immersion. The irradiation process indicate that SBF absorption decrease because NH_2 groups in chitosan which contributes to the hidrophilicity was broken. The composite III indicate maximum absorption ($58,2\% \pm 2,22$) due to its smallest concentration of polycaprolactone and highest concentration of chitosan that caused decrease of hydrophobicity. Optimum degradation of composite III ($1,3\% \pm 0,98$) was reached after 8 weeks of immersion time. FTIR spectrum indicate the unity of typical peaks of the constituent materials and specific spectrum of CO_3^{2-} of carbonated apatite which was formed because immersion of SBF. Micostructural analysis using SEM indicate the formation of needlelike apatite layer or calcium phosphate precipitate over all surface membran. All the results indicate that these composite meet the requirements to biomaterial.

Keywords: poly-caprolactone, chitosan, degradation, simulated body fluid (SBF)

PENDAHULUAN

Penelitian dan pengembangan bahan untuk memperbaiki dan meregenerasi tulang menjadi fokus di bidang biomaterial. Bahan yang prospektif untuk implan harus memiliki sifat mekanik yang baik, kemampuan degradasi oleh cairan tubuh yang terkontrol, kemampuan berikatan dengan tulang, dan biokompatibel. Hal terpenting adalah bahan tersebut harus bersifat biodegradabel. Beberapa dekade terakhir ini telah dilakukan penelitian uji klinis dari beberapa jenis biodegradabel polimer seperti *polyglycolic acid* (PGA), *polylactic acid* (PLA) dan *poly-caprolactone* (PCL) [1].

Polikaprolakton (PCL) merupakan biodegradabel poliester utama yang umum digunakan sebagai salah satu bahan dasar pembuatan biomaterial. PCL ideal karena bersifat non toksik, memiliki sifat mekanik yang bagus, biokompatibel dengan banyak jenis polimer dan biodegradabel. Terbatasnya penggunaan polikaprolakton untuk regenerasi jaringan disebabkan karena sifat hidrofobisitas-nya dapat mempengaruhi regenerasi sel dan laju degradasinya. Cara sederhana untuk meningkatkan hidofilisitas-nya adalah dengan mencampur PCL dengan polimer alam seperti kitosan. Sama halnya dengan PCL, kitosan bersifat non toksik, biodegradabel, dan biokompatibel. Pencampuran antara kitosan dan PCL sangat biokompatibel dan memudahkan perlakuan terhadap PCL pada pemrosesannya. Namun demikian

penggunaan campuran kitosan dan PCL, juga masih memiliki kekurangan, yaitu tidak adanya sifat bioaktif sebagai syarat regenerasi tulang, dan sifat mekaniknya rendah. Berbagai usaha dilakukan untuk mengatasi hal tersebut, salah satunya adalah dengan menambahkan hidroksiapatit [2]. Hidroksiapatit, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ adalah senyawa mineral anggota kelompok mineral apatit yang merupakan unsur anorganik utama penyusun tulang dan gigi. Hidroksiapatit memiliki beberapa karakter, yaitu bioaktif, biokompatibel, osteokonduktif, tidak toksik, dan tidak imunogenik, sehingga senyawa ini paling banyak digunakan untuk bahan pengganti tulang [3-5].

Tujuan dari penggunaan biomaterial adalah untuk mengganti salah satu bagian atau fungsi dari tubuh dengan aman dan dapat diterima baik secara fisiologis maupun ekonomis. Pada umumnya dilakukan pengujian terhadap biomaterial sintetik agar sesuai untuk diaplikasikan sebagai bahan implan. Metode pengujian secara *in vivo* atau *in vitro* dilakukan dengan media larutan *simulated body fluid* (SBF) [6]. Larutan *simulated body fluid* (SBF) adalah larutan buatan yang memiliki komposisi dan konsentrasi ionik yang hampir mirip dengan plasma darah manusia, pertama kali diperkenalkan oleh Kokubo [7]. Lebih lanjut Kokubo menjelaskan bahwa syarat terpenting bagi suatu bahan agar dapat berikatan dengan tulang hidup adalah terbentuknya lapisan apatit mirip tulang pada permukaan bahan di dalam tubuh dan

pembentukan apatit tersebut secara in vivo dapat diproduksi dalam SBF [8]. Setelah beberapa dekade, para peneliti biomaterial sepakat bahwa pembentukan apatit pada material yang direndam dalam larutan SBF adalah bukti dari ke-bioaktifan material tersebut, dan dapat digunakan untuk mengantisipasi kemampuannya berikatan dengan tulang secara in vivo [9]. Selama pengujian, biomaterial direndam dalam larutan sintetik yang mensimulasi bagian anorganik dari plasma darah dengan atau tanpa adanya kultur sel. Metode tersebut bersifat mudah dan sederhana untuk menguji kestabilan dari material di dalam tubuh [10].

Berdasarkan deskripsi tersebut, dalam makalah ini diuraikan hasil penelitian mengenai karakteristik degradasi komposit polikaprolakton/kitosan/hidroksiapatit di dalam larutan SBF dan potensinya sebagai biomaterial. Biomaterial diproses menjadi membran tipis dengan metode pengadukan, penuangan dan penguapan pelarut pada suhu kamar. Iradiasi dengan mesin berkas elektron dilakukan untuk tujuan sterilisasi dan pengaruh variasi dosis iradiasinya (0 kGy sampai 30 kGy) dianalisis terhadap sifat fisik membran. Karakterisasi yang dilakukan antara lain uji absorpsi membran dalam larutan SBF dengan variasi waktu perendaman (0-60 menit), uji degradasi membran dalam larutan SBF dengan variasi waktu perendaman (0-12 minggu), karakterisasi gugus fungsi dengan *Fourier Transform Infra Red Spectroscopy* (FTIR) sebelum dan sesudah perendaman dalam SBF dan uji struktur mikro dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) sebelum perendaman dan setelah perendaman 8 minggu dalam SBF.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Peralatan

Polikaprolakton diproduksi oleh Daicel Chemical Industry Ltd, Jepang dan kitosan *medical grade* diproduksi oleh PT Biotech Surindo, Cirebon. Bahan kimia dengan

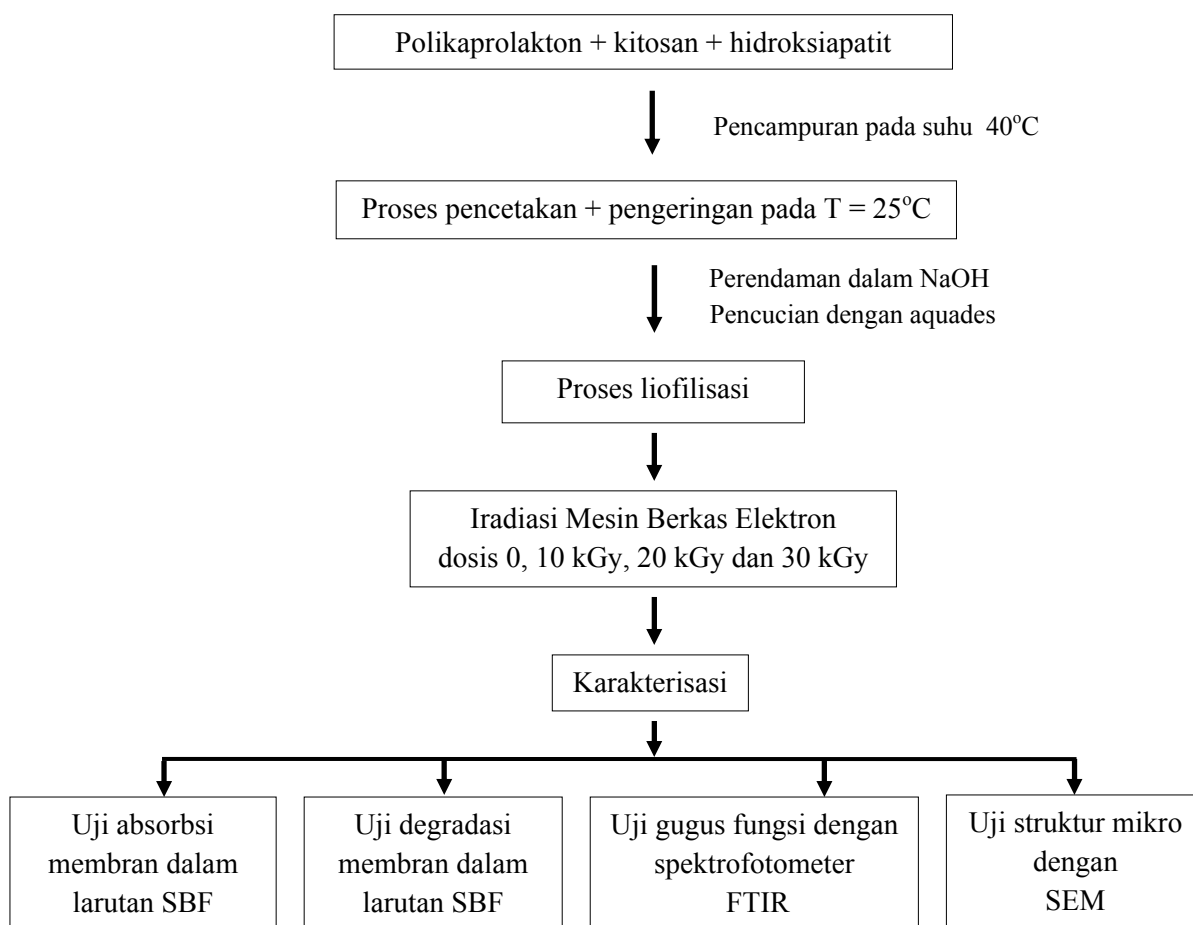
kemurnian p.a yang digunakan antara lain $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, NH_3 25%, NaOH , CH_3COOH glasial, dan bahan kimia untuk membuat larutan *Simulated Body Fluid* (SBF), diantaranya $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaCl , NaHCO_3 , Na_2SO_4 , KCl , HCl , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan $(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2$ produksi E.Merck.

Peralatan yang digunakan antara lain Mesin Berkas Elektron (MBE) GJ-2 buatan Cina, Spektrometer *Fourier Transform Infra Red Spectroscopy* (FTIR) Shimadzu buatan Jepang, *Scanning Electron Microscope* (SEM) JEOL JSM-6360 LA buatan Jepang, oven Heraeus buatan Jerman, Sanyo freezer, *lyophilizer* Christ Beta I, timbangan analitik Acculab BL 210 S Sartorius, *IKA C-Mag HS 7 hot plate stirrer*, peralatan gelas dan cetakan plastik polipropilena.

Pembuatan Komposit Membran Polikaprolakton

Alur kerja pembuatan komposit membran polikaprolakton-kitosan-hidroksiapatit ditampilkan pada Gambar 1.

Butiran polikaprolakton di larutkan dalam asam asetat glasial 100% pada suhu 60°C. Setelah larut, ditambahkan serbuk kitosan dan hidroksiapatit. Serbuk hidroksiapatit dibuat dengan cara mencampur kalsium nitrat, diammonium hidrogen fosfat dan amonia 25% dengan menggunakan metode yang dilakukan oleh Mobasherpour [11]. Campuran polikaprolakton, kitosan dan hidroksiapatit diaduk selama enam jam pada suhu 40 °C sampai homogen, kemudian dituang kedalam cetakan plastik polipropilena berukuran 12 cm x 7,5 cm. Komposit tersebut dikeringkan pada suhu kamar. Setelah kering, membran direndam dalam 1% larutan natrium hidroksida selama satu malam. Membran dicuci dengan akuades sampai bersih dari sisa larutan natrium hidroksida. Membran dibekukan pada suhu -20°C selama satu malam, kemudian dilakukan proses liofilisasi (kering beku) selama 48 jam. Membran dikemas dalam plastik, kemudian diiradiasi dengan menggunakan Mesin Berkas Elektron (MBE).



Gambar 1. Alur kerja pembuatan dan karakterisasi membran komposit polikaprolakton-kitosan-hidroksiapatit iradiasi

Dosis iradiasi yang digunakan yaitu 0 kGy, 10 kGy, 20 kGy, dan 30 kGy pada tegangan 1,5 MeV, arus 2 mA, dan kecepatan konveyor 11,7 Hz.

Pembuatan Larutan *Simulated Body Fluid* (SBF)

Metode yang digunakan untuk membuat larutan SBF adalah metode yang dipakai oleh Kokubo [12]. Sebanyak 1 Liter aqua trides disiapkan untuk membuat larutan SBF dengan komposisi seperti pada Tabel 1.

Aqua trides diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, lalu bahan kimia dimasukkan satu persatu sesuai urutan seperti yang tertera pada Tabel 1 (satu bahan kimia diaduk sampai larut, baru ditambahkan dengan bahan kimia

berikutnya). Suhu larutan diatur sampai 36,5 °C dan pH larutan disesuaikan sampai pH 7,4 dengan menggunakan larutan HCl 1 M.

Larutan SBF siap untuk digunakan dan dijaga pada suhu 5-10 °C selama penyimpanan. Membran komposit polikaprolakton-kitosan-hidroksiapatit berukuran 1 cm x 1 cm dimasukkan kedalam botol plastik, kemudian ditambahkan 15 mL larutan SBF, dan botol ditutup rapat. Setelah itu botol disimpan pada suhu 37°C selama dua sampai dua belas minggu untuk pengamatan. Karakterisasi yang dilakukan antara lain uji absorpsi membran dalam larutan SBF, uji degradasi membran dalam larutan SBF, karakterisasi gugus fungsi dengan spektrofotometer FTIR, dan uji struktur mikro dengan SEM.

Tabel 1. Komposisi bahan kimia penyusun larutan SBF
(*Simulated Body Fluid*)

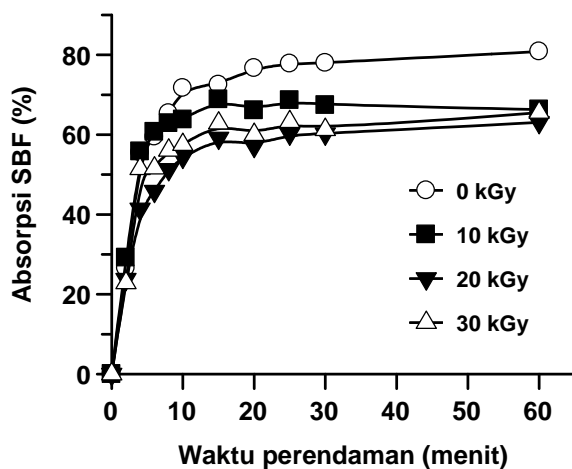
No.	Bahan Kimia	Jumlah
1.	NaCl	7,996 gram
2.	NaHCO ₃	0,350 gram
3.	KCl	0,224 gram
4.	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,228 gram
5.	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,305 gram
6.	HCl 1 M	40 mL
7.	CaCl ₂ .2H ₂ O	0.278 gram
8.	Na ₂ SO ₄	0.071 gram
9.	(HOCH ₂) ₃ CNH ₂	6,057 gram

HASIL DAN PEMBAHASAN

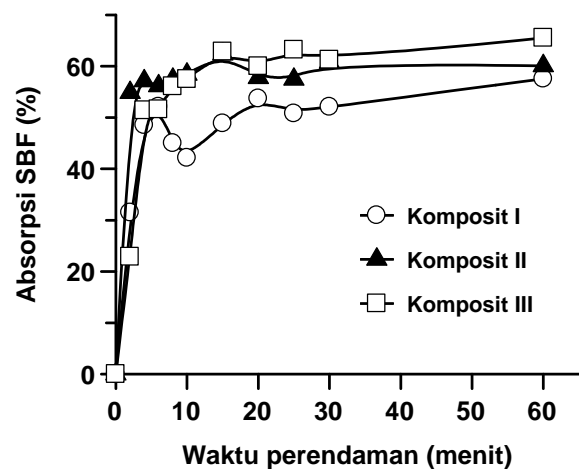
Uji Absorpsi SBF Membran Komposit

Uji absorpsi membran komposit I, II, dan III dilakukan dalam larutan SBF. Perbandingan absorpsi SBF membran komposit III pada berbagai dosis radiasi dan perbandingan absorpsi SBF membran komposit dosis 30 kGy pada berbagai komposisi ditampilkan pada Gambar 2 dan Gambar 3.

Jumlah larutan SBF yang terabsorpsi meningkat seiring dengan bertambahnya waktu perendaman. Perbandingan absorpsi membran komposit III yang ditampilkan pada Gambar 2 menunjukkan bahwa kemampuan membran untuk mengabsorpsi larutan SBF menurun seiring dengan bertambahnya dosis iradiasi. Persentase absorpsi membran komposit dosis 0 kGy, yaitu $66,4\% \pm 16,31$ lebih besar daripada dosis 10 kGy ($60,9\% \pm 11,86$), 20 kGy

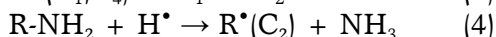
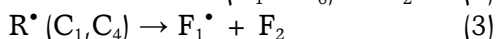
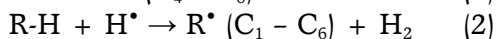
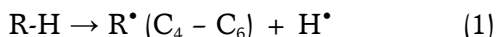


Gambar 2. Perbandingan absorpsi SBF membran komposit III pada berbagai dosis iradiasi



Gambar 3. Perbandingan absorpsi SBF membran komposit dosis 30 kGy pada berbagai komposisi

(55,2% ± 11,95) dan 30 kGy (51,6% ± 12,33). Hal ini disebabkan karena terjadinya proses degradasi pada kitosan. Ulanski dan Rosiak melaporkan bahwa kitosan iradiasi pada fase padat hanya mengalami degradasi saja dan proses ikatan silang dapat diabaikan [13]. Ershov dkk. meneliti mekanisme degradasi kitosan iradiasi sebagai berikut :

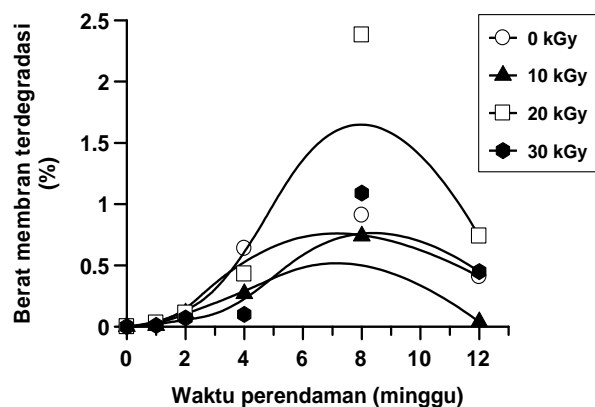


Dimana R-H dan R-NH₂ adalah makromolekul kitosan, R*(C_n) adalah makroradikal kitosan terlokalisasi pada atom karbon C_n, F₁ dan F₂ adalah fragmen atau pecahan dari rantai utama. Seperti terlihat pada reaksi [4], iradiasi menyebabkan sejumlah gugus NH₂ dari kitosan mengalami pemutusan dan berubah menjadi gas ammonia setelah bereaksi dengan radikal hidrogen. Gugus NH₂ memiliki kontribusi yang besar pada sifat hidrofilisitas kitosan, sehingga pemutusan rantai tersebut menyebabkan penurunan kapasitas absorpsi air pada membran komposit [14,15]. Perbandingan absorpsi SBF membran komposit dosis 30 kGy pada berbagai komposisi disajikan pada Gambar 3. Terlihat bahwa persentase absorpsi membran

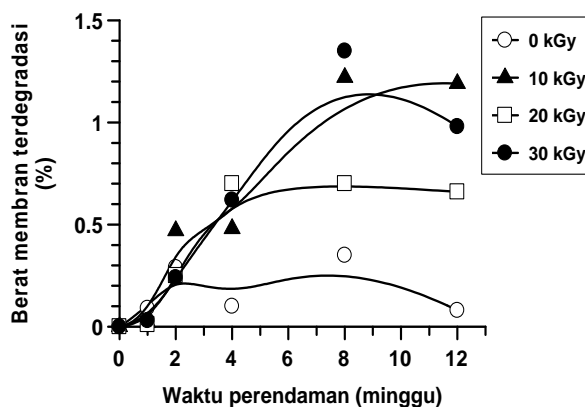
komposit III (58,2% ± 2,22) lebih besar dari pada komposit II (55,2% ± 12,33) dan komposit I (48,2% ± 7,31). Hal ini disebabkan karena kandungan polikaprolakton pada komposit III (25%) < komposit II (45%) < komposit I (50%) dan berbanding terbalik dengan kandungan kitosan, yaitu komposit III (50%) > komposit II (35%) > komposit I (25%). Polikaprolakton bersifat hidrofobik, sedangkan kitosan bersifat hidrofilik, sehingga semakin besar kandungan kitosan dalam komposit, semakin besar pula kemampuan absorpsinya. Adanya bahan pengisi, yaitu hidroksiapatit juga meningkatkan jumlah absorpsi karena gugus fungsi -OH bebas membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air, sehingga dapat dikatakan bahwa hidroksiapatit meningkatkan sifat hidrofilisitas dari komposit [2, 16].

Uji Degradasi dalam SBF

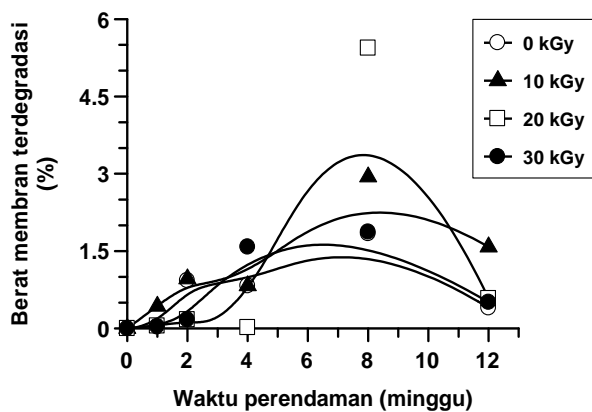
Uji degradasi membran komposit I, II dan III dalam larutan SBF disajikan pada Gambar 4 s/d Gambar 7. Membran direndam dalam larutan SBF steril pada suhu 37°C selama 0 sampai 12 minggu kemudian persentase berat membran yang terdegradasi dianalisis berdasarkan lamanya waktu perendaman.



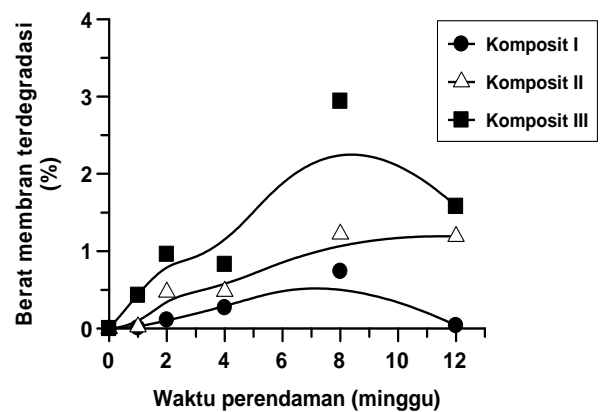
Gambar 4. Degradasi membran komposit I dalam SBF



Gambar 5. Degradasi membran komposit II dalam SBF



Gambar 6. Degradasi membran komposit III dalam SBF



Gambar 7. Perbandingan berat membran terdegradasi dosis 10 kGy pada berbagai komposisi

Karakteristika degradasi membran komposit I dalam SBF disajikan pada Gambar 4. Berat membran terdegradasi optimal dicapai pada minggu ke-8, yaitu sebesar $1,3\% \pm 0,74$. Selain itu, degradasi maksimal dicapai pada membran iradiasi dosis 10 kGy sebesar $0,7\% \pm 0,96$. Degradasi membran komposit II disajikan pada Gambar 5. Seperti halnya komposit I, waktu degradasi optimal dicapai pada minggu ke-8, sebesar $0,9\% \pm 0,46$ dan degradasi maksimal pada membran iradiasi dosis 10 kGy sebesar $0,7\% \pm 0,51$, sedangkan karakteristik degradasi membran komposit III pada Gambar 6 memperlihatkan bahwa berat membran optimal juga dicapai pada waktu perendaman 8 minggu, yaitu $3,0\% \pm 1,69$. Membran iradiasi 10 kGy menunjukkan hasil maksimal pada 1,3% \pm 0,98. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Y.Wan dkk. yang mengatakan bahwa proses degradasi komposit polikaprolakton bersifat sangat lambat, dengan persen kehilangan berat maksimal berkisar antara 1% setelah sepuluh minggu perendaman dalam larutan PBS (*phosphate buffer saline*) [17]. E.Cottam dkk. meneliti bahwa iradiasi dapat menurunkan kecepatan degradasi dari polikaprolakton [18]. Terlihat bahwa persen berat membran terdegradasi maksimal berkisar pada dosis iradiasi 10 kGy.

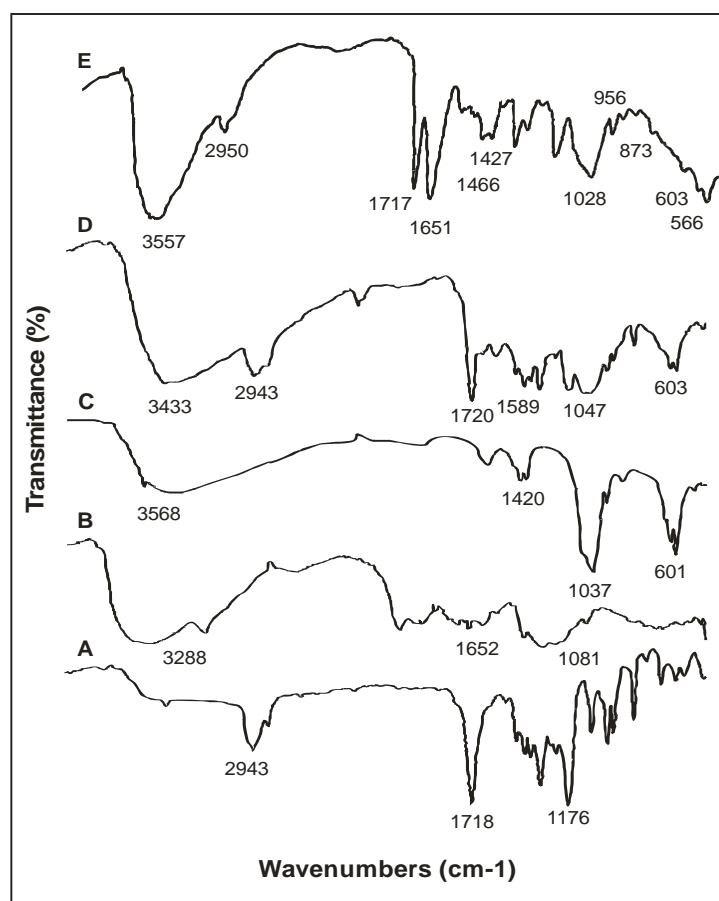
Kecepatan hidrolisis alifatik poliester tergantung pada kinetika pemutusan ikatan ester. Proses degradasi berlangsung lebih cepat pada materi amorf daripada materi yang kristalin karena sifat penetrasi air-nya. Polikaprolakton dan kitosan bersifat semi kristalin. Lambatnya proses degradasi disebabkan karena polikaprolakton murni bersifat kristalin dan sangat hidrofobik sehingga membuat resistan terhadap degradasi hidrolitik. Pencampuran polikaprolakton dan kitosan akan menurunkan kristalinitasnya dan meningkatkan sifat amorf-nya serta meningkatkan kecepatan degradasi [19]. Persen kehilangan berat pada komposit meningkat seiring dengan bertambahnya kandungan kitosan [20]. Hal ini sejalan dengan data penelitian pada Gambar 7. Perbandingan berat membran terdegradasi dosis 10 kGy pada berbagai komposisi dapat dilihat pada Gambar 7. Terlihat bahwa pada dosis iradiasi 10 kGy, berat membran terdegradasi paling besar dicapai oleh komposit III sebesar $1,3\% \pm 0,98$, kemudian komposit II sebesar $0,6\% \pm 0,51$, dan degradasi paling kecil adalah komposit I sebesar $0,2\% \pm 0,30$. Hal ini disebabkan karena komposit III memiliki kandungan kitosan terbesar yaitu 50% dan kandungan polikaprolakton paling kecil yaitu 25% jika dibandingkan dengan kandungan kitosan

dan polikaprolakton pada komposit I dan II. Adanya bahan pengisi yaitu hidroksiapatit sebagai penguat komposit kitosan/polikaprolakton juga mempengaruhi kecepatan degradasi. Penambahan hidroksiapatit meningkatkan kristalinitas polikaprolakton sehingga proses degradasinya lambat, selain itu jumlah hidroksiapatit yang ditambahkan tergantung pada jumlah polisakarida dalam campuran [21]. Hal tersebut sejalan dengan persentase berat membran terdegradasi pada dosis 10 kGy. Komposit I dan III memiliki kandungan hidroksiapatit yang sama, yaitu 25%, sementara komposit II kandungan hidroksiapatitnya 20%. Persentase degradasi

maksimal terdapat pada komposit III, karena walaupun kandungan hidroksiapatitnya sama dengan komposit I, tetapi jumlah polikaprolakton pada komposit III lebih kecil dari komposit I. Selain itu, kandungan kitosan pada komposit III juga paling besar. Hal tersebut menyebabkan komposit III memiliki nilai degradasi yang paling besar.

Analisis Gugus Fungsi menggunakan Spektrofotometer FTIR

Spektrum FTIR dari membran komposit dan material penyusunnya seperti polikaprolakton, kitosan dan hidroksiapatit disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Spektrum FTIR polikaprolakton (A), kitosan(B), hidroksiapatit(C), membran komposit (D), membran komposit setelah direndam 8 minggu dalam SBF (E)

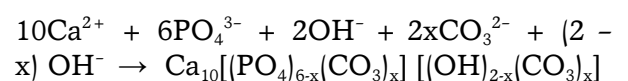
Spektrum FTIR dari polikaprolakton terdapat pada Gambar 8(A). Spektrum yang khas dari struktur polikaprolakton terdiri dari vibrasi regang dan tekuk dari $-(CH_2)-$ pada bilangan gelombang $3000-2850\text{ cm}^{-1}$, ikatan $C=O$ pada daerah di sekitar bilangan gelombang $1700-1750\text{ cm}^{-1}$ dan ikatan $C-O$ pada daerah sekitar $1050 - 1250\text{ cm}^{-1}$. Absorpsi yang kuat di sekitar daerah 1750 cm^{-1} mengindikasikan gugus ester alifatik [22]. Gambar 8(B) adalah spektrum FTIR dari kitosan. Terdiri dari ikatan $H-NH$ yang terdapat pada panjang gelombang 3288 cm^{-1} , vibrasi regang NH_2 pada bilangan 1652 cm^{-1} , dan vibrasi tekuk $C-H$ dari CH_2 pada bilangan gelombang 1419 cm^{-1} . Spektrum 8(C) dari hidroksiapatit menunjukkan vibrasi regang OH (ikatan H intermolekular) pada $3568-3388\text{ cm}^{-1}$, serapan khas dari karbonat (CO_3^{2-}) pada 1420 cm^{-1} dan 874 cm^{-1} kemudian serapan fosfat (PO_4^{3-}) pada $1037, 601, \text{ dan } 569\text{ cm}^{-1}$. Spektrum 8(D) adalah FTIR dari membran komposit yang menunjukkan gabungan puncak khas dari bahan penyusunnya yaitu spektrum polikaprolakton, kitosan dan hidroksiapatit ($3500-3300, 2900, 1720, 1047, 875 - 1389, \text{ dan } 567 - 1047\text{ cm}^{-1}$) [23]. Spektrum FTIR membran komposit yang telah direndam dalam larutan SBF selama 8 minggu terdapat pada Gambar 8(E). Pita serapan yang khas dari polikaprolakton terdapat pada panjang gelombang 2950 cm^{-1} yaitu vibrasi rangka $-(CH_2)_4-$ dan ikatan $C=O$ pada 1717 cm^{-1} [21]. Pada penelitian ini kitosan memiliki derajat deasetilasi $\geq 90\%$ yang menyebabkan ikatan amida terlihat pada spektra, sehingga vibrasi regang $C=O$ dari ikatan amida teramati pada bilangan 1651 cm^{-1} [23]. Selain itu pita serapannya menunjukkan spektrum yang tajam setelah perendaman dalam SBF. Pita serapan lebar dari fosfat yang diturunkan dari vibrasi regang $P-O$ pada ion $(PO_4)^{3-}$ teramati di bilangan $1200-900\text{ cm}^{-1}$, sedangkan ikatan $O-P-O$ teramati pada bilangan $566 \text{ dan } 603\text{ cm}^{-1}$. Puncak yang khas pada panjang gelombang 956 cm^{-1} mengindikasikan adanya ion HPO_4^{2-} didalam kisi kristal, sementara itu bilangan gelombang $1460 - 1400\text{ cm}^{-1}$ yang disertai

spektrum pada bilangan 873 cm^{-1} adalah spesifik untuk CO_3^{2-} dari apatit terkarbonasi tipe-B, dimana gugus PO_4^{3-} disubstitusi oleh gugus CO_3^{2-} [22,23]. Komposit yang dilapisi oleh hidroksiapatit terkarbonasi/*carbonated hydroxyapatite* (CHA) memiliki kristalinitas rendah sehingga sifat bioaktivitas-nya sangat baik Bioaktivitas adalah faktor penting yang memfasilitasi fiksasi kimia dari bahan biomaterial terhadap jaringan tulang dan menentukan sukses tidak-nya penelitian in vivo dari bahan cangkok tulang [2].

Analisis Membran Komposit menggunakan SEM

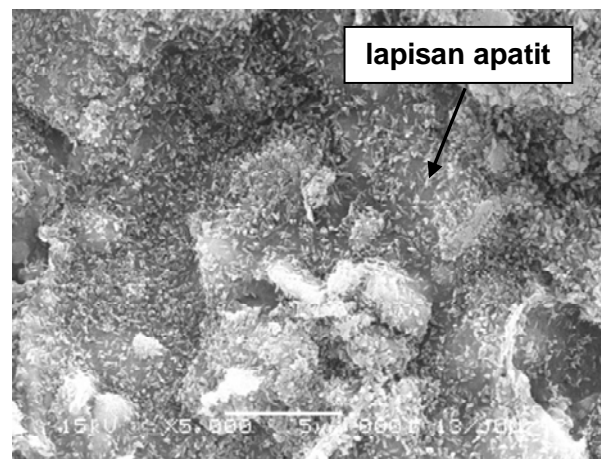
Morfologi permukaan dari membran komposit sebelum dan sesudah direndam dalam larutan SBF selama 8 minggu disajikan pada Gambar 9 dan 10.

Gambar 9 memperlihatkan SEM dari komposit membran sebelum direndam dalam larutan SBF. Permukaan membran terlihat kasar dan terdapat mikropori yang berasal dari penambahan hidroksiapatit. Jaringan penghubung berpori pada membran berfungsi sebagai sirkulasi pada cairan tubuh dan darah [24]. Ukuran pori bervariasi berkisar kurang dari $5\text{ }\mu\text{m}$. Setelah perendaman selama 8 minggu seperti yang terlihat pada Gambar 10, terbentuk endapan kalsium fosfat (CaP) seperti jarum kecil pada permukaan membran. Endapan CaP ini disebut juga lapisan apatit dan terbentuk merata menutupi seluruh permukaan membran setelah 8 minggu perendaman. Kristal apatit terus terbentuk dengan cara mengambil ion kalsium dan fosfat yang berasal dari larutan SBF, dan gas karbondioksida dari udara, sehingga terbentuk amorfus kalsium fosfat terkarbonasi. Seiring dengan bertambahnya waktu, amorfus kalsium fosfat terkarbonasi ini berubah bentuk menjadi kristal apatit yang strukturnya seperti struktur tulang [2,25]. Reaksi tersebut dapat digambarkan sebagai berikut :





Gambar 9. SEM komposit membran sebelum direndam dalam SBF



Gambar 10. SEM komposit membran setelah direndam dalam SBF

Karakterisasi dalam larutan SBF sangat penting dilakukan untuk melihat kemampuan pembentukan tulang dari membran komposit. Kemampuan pembentukan tulang ini dievaluasi dengan cara menguji kemampuan pembentukan lapisan apatit pada permukaan membran dengan cara menginkubasi material tersebut dalam larutan SBF pada konsentrasi ion yang setara dengan plasma darah manusia.

Dari hasil SEM terlihat bahwa membran komposit polikaprolakton-kitosan-hidroksiapatit memiliki kemampuan untuk membentuk "komposisi tulang" yang dapat dilihat dari terbentuknya lapisan apatit pada permukaan membran.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa membran komposit polikaprolakton-kitosan-hidroksiapatit iradiasi memiliki potensi untuk aplikasi biomaterial. Hal tersebut dapat dilihat dari hasil analisis SEM yaitu terbentuknya lapisan apatit pada permukaan membran, dan analisis FTIR yang menunjukkan membran terlapisi hidroksiapatit terkarbonasi yang dapat memfasilitasi fiksasi kimia biomaterial terhadap jaringan tulang. Uji degradasi

dalam larutan *simulated body fluid* (SBF), menunjukkan bahwa waktu perendaman optimal untuk mencapai berat membran terdegradasi maksimal dicapai selama 8 minggu.

Membran komposit III menunjukkan hasil uji biodegradasi paling optimal karena memiliki kadar polikaprolakton paling kecil dan kitosan yang paling besar. Kitosan akan menurunkan kristalinitas polikaprolakton, sehingga kecepatan degradasi meningkat.

Iradiasi optimal dicapai pada dosis kurang dari 30 kGy karena dapat menurunkan nilai absorpsi dan kecepatan degradasi dari membran komposit.

DAFTAR PUSTAKA

1. SU, JIANYU., CHEN, L. and LI, L., Characterization of polycaprolactone and starch blends for potential application within the biomaterials field, *Afr. J. Biotechnol.*, **11** (3), 694-701 (2012).
2. XIAO, X., LIU, R et al., Preparation and characterization of hydroxyapatite/polycaprolactone-chitosan composites, *J. Mater Sci: Mater Med.*, **20**, 2375-2383 (2009).

3. NAYAK, K.A., Hydroxyapatite synthesis methodologies: An overview, *Int. J. Chem. Tech. Res.*, **2** (2), 903-907 (2010).
4. AOKI H. "Synthesis and Medical Application of Hydroxyapatite Nanocomposite", Takayama Press System. Co. Inc. Tokyo, (1991).
5. CENGIZ,B., YAVUZ, G. and NURAY, Y., Synthesis and characterization of hydroxyapatite nanocomposite, *Colloids and Surface A: Physicochem. Eng. Aspect.*, **322**, 29-33 (2008).
6. VUKELIC, M., MITIC, Z et al., Interaction of biomaterials containing calcium hydroxyapatite/poly-l-lactide with the simulated body fluid, *Acta medica medianae.*, **50** (4), 35-39 (2011).
7. KOKUBO, T., Bioactive glass ceramics: properties and applications, *Biomaterials.*, **12**, 155-163 (1991).
8. KOKUBO, T. and TAKADAMA, H., How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials.*, **27** (15), 2907-2915 (2006).
9. BOHNER, M. and LEMAITRE, J., Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution?, *Biomaterials.*, **30** (12), 2175-2179 (2009).
10. MULLER, L. and FRANK, A.M., Preparation of SBF with different content and its influence on the composition of biomimetic apatites, *Acta biomaterialia.*, **2** (2), 181-189 (2006).
11. MOBASHERPOR., HESHAJIN, M.S et al., Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method, *J. Alloys and Compounds.*, **430**, 330-333 (2007).
12. KOKUBO, T., KUSHITANI, H et al., Solutions able to reproduce in vivo surface structure changes in bioactive glass ceramic A-W, *J. Biomed. Mater. Res.*, **24**, 721-734 (1990).
13. ULANSKI, P., ROSIAK, J., Preliminary studies on radiation-induced changes in chitosan, *Radiat. Phys. Chem.*, **39**, 53-57 (1992).
14. HAI, L., DIEP, T.B., NAGASAWA, N et al., Radiation depolymerization of chitosan to prepare oligomers, *Nucl. Instr. and Meth. In Phys. Res. B.*, **208**, 466-470 (2003).
15. SHEN, K., HU, Q et al., Effect of ⁶⁰Co irradiation on the properties of chitosan rod, *Mat. Sci. and Eng C.*, **31**, 866-872 (2011).
16. WU, CHIN-SAN., A comparison of the structure, thermal properties, and biodegradability of polycaprolactone/chitosan and acrylic acid grafted polycaprolactone/chitosan, *Polymer.*, **46**, 147-155 (2005).
17. WAN, Y et al., Compressive mechanical properties and biodegradability of porous poly(caprolactone)/chitosan scaffold, *J. Polymdegradstab.*, **93**, 1736-1741 (2008).
18. COTTAM,E., HUKINS, D.W.L et al., Effect of sterilization by gamma irradiation on the ability of polycaprolactone (PCL) to act as a scaffold material, *J. Med. eng & physics.*, **31**, 221-226 (2009).
19. CORELLO, V.M Corello., BOESEL, et al., Hydroxyapatite reinforced chitosan and polyester blends for biomedical applications, *Macromol. Mater. Eng.*, **290**, 1157-1165 (2005).

20. N, JOHARI., FATHI, M.H. and GOLOZAR, M.A., Fabrication, characterization and evaluation of the mechanical properties of poly(ϵ -caprolactone)/nano-fluoridated hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering, *Composite: Part B.*, **43**, 1671-1675 (2012).
21. SAHOO, S., SASMAL, A., et al., Synthesis of chitosan-polycaprolactone blend for control delivery of ofloxacin drug, *Carbohydrate Polymers.*, **79**, 106-113 (2010).
22. STOCH, A et al., FTIR monitoring of the growth of the carbonate containing apatite layers from simulated and natural body fluids, *J. Molecular Struc.*, **511-512**, 287-294 (1999).
23. MULLER, L., MULLER, F.A., Preparation of SBF with different HCO_3^- content and its influence on the composition of biomimetic apatites, *Acta Biomaterialia.*, **2**, 181-189 (2006).
24. TENG, SHU-HUA et al., Chitosan/nanohydroxyapatite composite membranes via dynamic filtration for guided bone regeneration, *J. Biomed Mater Res.*, **88A**, 569-580 (2008).
25. FANG, Y et al., Development of an electrospun nano-apatite/PCL composite membrane for GTR/GBR application, *Acta Biomaterialia.*, **5**, 3295-3304 (2009).