



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**SINTESIS KOMPOSIT SELULOSA BAKTERI-SITRAT-  
KITOSAN SEBAGAI MATRIKS PEMBENTUKAN  
HIDROKSIAPATIT**

**TESIS**

**FARAH NURLIDAR**

**1006734432**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM MAGISTER ILMU KIMIA  
KEKHUSUSAN NON HAYATI  
DEPOK  
JULI 2012**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**SINTESIS KOMPOSIT SELULOSA BAKTERI-SITRAT-  
KITOSAN SEBAGAI MATRIKS PEMBENTUKAN  
HIDROKSIAPATIT**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar magister kimia**

**FARAH NURLIDAR**

**1006734432**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM MAGISTER ILMU KIMIA  
KEKHUSUSAN NON HAYATI  
DEPOK  
JULI 2012**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

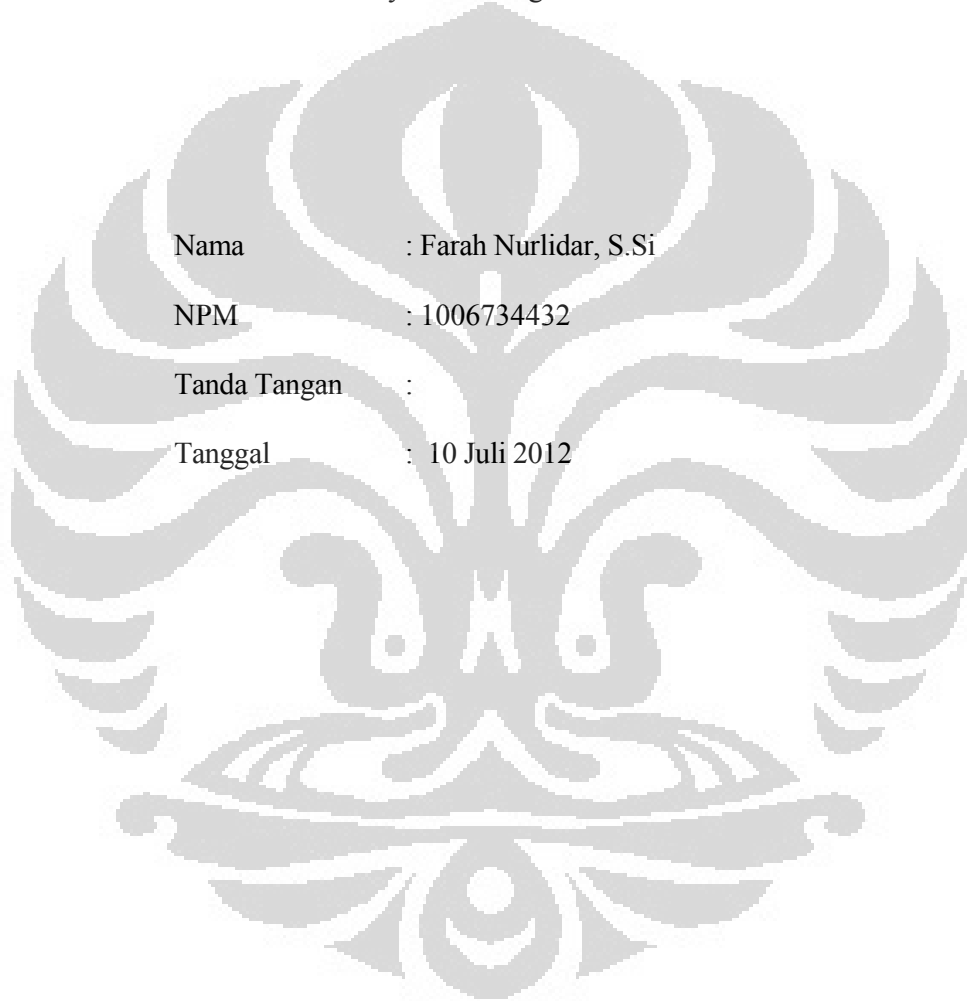
Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Farah Nurlidar, S.Si

NPM : 1006734432

Tanda Tangan :

Tanggal : 10 Juli 2012



## HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh:

Nama : Farah Nurlidar, S.Si  
NPM : 1006734432  
Program Studi : Kimia Non Hayati (Anorganik)  
Judul Tesis : Sintesis Komposit Selulosa Bakteri-Sitrat-Kitosan sebagai Matriks Pembentukan Hidroksiapatit

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Emil Budianto ( ..... )  
Pembimbing : Prof. Ir. Sugiarto ( ..... )  
Penguji : Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc. ( ..... )  
Penguji : Dr. Endang Saepudin ( ..... )  
Penguji : Dr. Ir. Antonius Herry Cahyana ( ..... )  
Penguji : Asep Saefumillah S.Si., M.Si., Ph.D ( ..... )

Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 12 Juli 2012

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan tesis ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai kelulusan Program Magister Ilmu Kimia, Program Magister Departemen Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Saya menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan tesis ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan perkuliahan dan tesis ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Orang tua, suamiku Arie Hartanto dan putra-putriku Fathi Khairullah Yusuf dan Athiah Khairunisa Salsabila tercinta serta keluarga besar saya yang telah memberikan bantuan dukungan material dan moral;
- (2) Bapak Dr. Emil Budianto dan Bapak Prof. Ir. Sugiarto selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini;
- (3) KEMENRISTEK yang telah memberikan beasiswa, PUSDIKLAT dan PATIR-BATAN yang telah memberikan izin untuk program magister ini;
- (4) Seluruh dosen, staf dan karyawan Program Pasca Sarjana Departemen Kimia Universitas Indonesia, terutama Bapak Hadi yang telah banyak membantu administrasi selama penulis menyelesaikan program magister ini.
- (5) Bapak Dr. Darmawan Darwis, Apt dan Ibu Lely Hardiningsih yang telah banyak membantu penulis dalam berdiskusi dan melakukan penelitian
- (6) Bapak Erizal dan bapak Priambodo yang banyak membantu penulis dalam pengukuran FTIR dan XRD.
- (7) Rekan-rekan S2 (pak Asep, bu Ugi, pak Parya, pak Salim, bu Yenita, Uci, mbak Dini, Yona, dkk) dan rekan-rekan bidang proses radiasi (Pak Basril, bu Ilin, bu Nani, mbak Yessy, Uki, Okta, bu Susi, bu Dewi, dkk) dan yang telah begitu banyak membantu penulis dalam banyak hal dan dalam menyelesaikan tesis ini.

Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di Indonesia.

**Penulis**

2012



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Farah Nurlidar  
NPM : 1006734432  
Program Studi : Kimia Non Hayati  
Departemen : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

**Sintesis Komposit Selulosa Bakteri-Sitrat-Kitosan sebagai Matriks Pembentukan Hidroksiapatit**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok  
Pada tanggal : 10 Juli 2012  
Yang menyatakan

(Farah Nurlidar)

## ABSTRAK

Nama : Farah Nurlidar  
Program Studi : Kimia  
Judul : Sintesis Komposit Selulosa Bakteri-Sitrat-Kitosan  
sebagai Matriks Pembentukan Hidroksiapatit

Mineralisasi selulosa bakteri dengan senyawa-senyawa anorganik seperti kalsium fosfat diketahui dapat meningkatkan proliferasi sel osteoblast yang bertanggung jawab terhadap regenerasi tulang. Penelitian yang dilakukan oleh penulis adalah modifikasi selulosa bakteri menggunakan asam sitrat dan kitosan agar dapat digunakan sebagai matriks dalam pembentukan hidroksiapatit. Hasil penelitian menunjukkan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan memiliki kapasitas absorpsi maksimum pada reaksi dengan jumlah asam sitrat 10 mmol; waktu reaksi dalam larutan asam sitrat 4 jam dan waktu reaksi dalam larutan kitosan 1% (b/v) 2 jam. Komposit tersebut memberikan nilai kapasitas absorpsi dalam air DM sebesar 48,83 g/g, kapasitas absorpsi dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  (0,1 M) 26,24 g/g, kehilangan berat dalam air DM 59,80 % dan kehilangan berat dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M -52,48% yang mengindikasikan adanya kalsium klorida yang terikat dalam komposit. Karakterisasi FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) selulosa bakteri-sitrat-kitosan menunjukkan munculnya pita serapan gugus karbonil amida pada bilangan gelombang  $1564,27 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1654,92 \text{ cm}^{-1}$  yang merupakan pita serapan vibrasi tekuk -NH (amida II) dan pita serapan vibrasi ulur gugus karbonil (amida I) menunjukkan terjadinya ikatan silang antara selulosa sitrat dan kitosan. Komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang direndam dalam larutan SBF (*Synthetic Body Fluid*) selama 7 hari mulai menunjukkan terbentuknya hidroksiapatit dengan munculnya puncak khas hidroksiapatit pada sudut  $2\theta = 25,56^\circ$  dan  $26,78^\circ$  pada spektrum XRD (*X-Ray Diffraction*) dan diperkuat oleh adanya puncak Ca dan P pada spektrum EDX (*Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy*) dengan perbandingan Ca/P=1,3. Komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang direndam dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,2 M dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,12 M secara bergantian juga menunjukkan adanya puncak-puncak pada sudut  $2\theta = 26,1^\circ$ ;  $29,4^\circ$  dan  $32,01^\circ$  pada spektrum XRD yang merupakan puncak khas untuk hidroksiapatit dengan perbandingan Ca/P =1,13, berdasarkan hal tersebut hidroksiapatit yang dihasilkan dimungkinkan kalsium defisien HA dengan kristalinitas rendah didukung dengan puncak-puncak yang lebar pada spektrum XRD.

Kata kunci : komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan, asam sitrat, kitosan, larutan SBF, hidroksiapatit  
xv+70 halaman : 41 gambar; 10 tabel  
Daftar Pustaka : 35 (1993-2011)



## ABSTRACT

Name : Farah Nurlidar  
Program Study : Kimia  
Title : Synthesis of Bacterial Cellulose-Citrate-Chitosan as a Matrix of Hydroxyapatite Formation

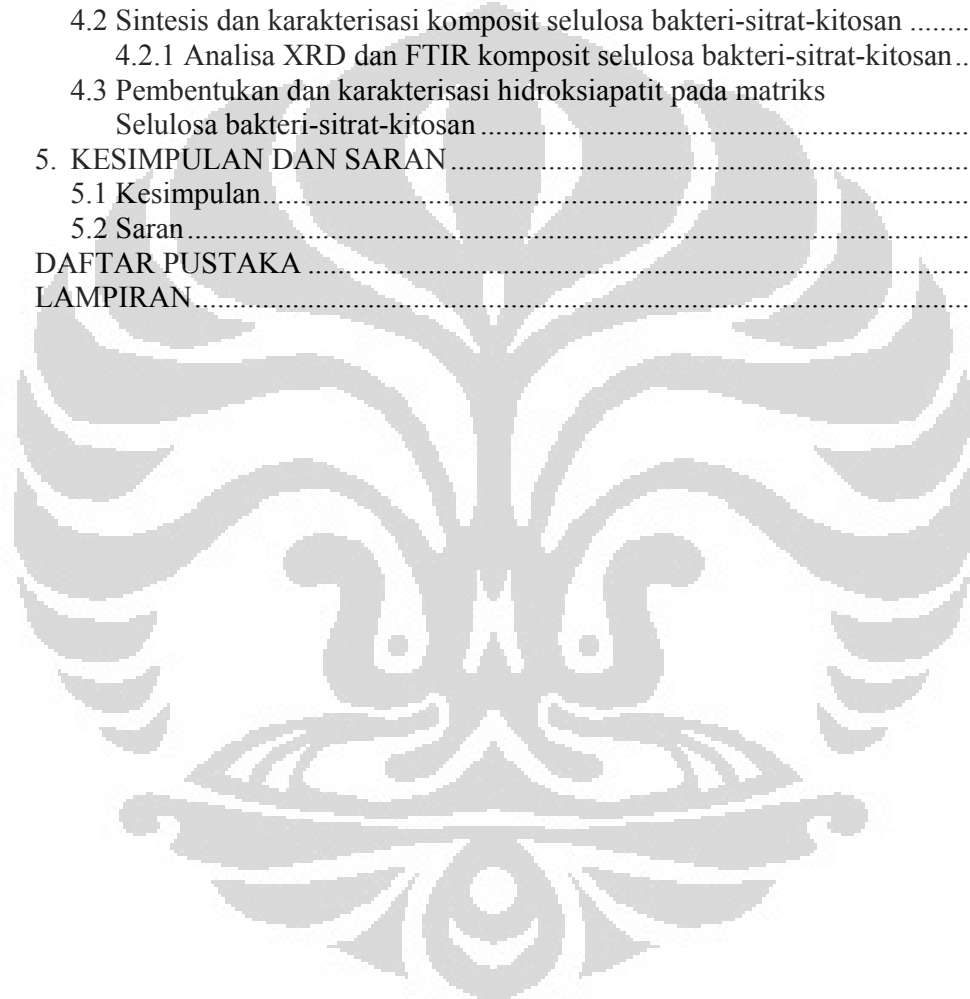
The development of novel biomaterials for periodontal application is one of the most interesting researches for achieve high quality in our lives. Cellulose biosynthesized by bacteria is an attractive biomaterial for bone regeneration due to its biocompatibility and good mechanical properties. However, bacterial cellulose lacks the ability to mineralize, preventing the formation of chemical bonds with bone. Incorporation of inorganic phases such as calcium phosphate into bacterial cellulose matrix may enhance bone regeneration. The aim of this study was to develop bacterial cellulose-citrate-chitosan composite as a matrix of hydroxyapatite formation. The result showed that the incorporation of carboxylic acid group into bacterial cellulose via reaction with citric acid greatly improve the  $\text{CaCl}_2$  solution and water absorption capacity properties. Optimum conditions for the reaction of the bacterial cellulose-citrate-chitosan was performed at amount of citric acid 10 mmol for 4 hours reaction time at 140 °C then followed by reaction in chitosan solution 1% (in acetic acid 0.5% v/v) for 2 hours reaction time at 140 °C. The bacterial cellulose-citrate-chitosan can absorb water up to 48.83 g/g and  $\text{CaCl}_2$  solution (0.1 M) up to 26.24 g/g. FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) characterization showed a peak at 1564.27 and 1654.92  $\text{cm}^{-1}$ , attribute to the characteristic bending band of -NH (amide II) and stretching band of carbonyl groups (amide I) of bacterial cellulose-citrate-chitosan. XRD (*X-Ray Diffraction*) analysis of composites after 7 days soaking in SBF (*Synthetic Body Fluid*) solution showed deposition of hydroxyapatite with in agreement with EDX spectrum data with Ca/P ratio=1.3. XRD pattern composite that soaking in  $\text{CaCl}_2$  and  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  solution also showed hydroxyapatite formation with peak were attributed to hydroxyapatite at  $2\theta = 26.1^\circ$ ;  $29.4^\circ$  dan  $32.01^\circ$ , with in agreement with EDX spectrum data with Ca/P ratio=1,13. These results show that the incorporation of carboxylic group into bacterial cellulose is an effective way for apatite deposition.

Keywords : bacterial cellulose-citrate-chitosan, citric acid, chitosan, SBF solution, hydroxyapatite  
xv+70 pages : 41 pictures; 10 tables  
Bibliography : 35 (1993-2011)

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	vii
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Hipotesa.....	5
1.5 Ruang Lingkup Penelitian .....	5
1.6 Manfaat Penelitian.....	6
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Selulosa Bakteri ( <i>Bacterial Cellulose</i> ).....	7
2.1.1 <i>Acetobacter xylinum</i> .....	7
2.1.2 Penentuan derajat kristalinitas selulosa bakteri.....	9
2.1.3 Aplikasi selulosa bakteri dalam bidang kesehatan .....	10
2.2 Kitosan.....	12
2.2 Hidroksiapatit .....	13
2.2.1 Sintesis hidroksiapatit.....	14
2.4 Biomineralisasi Hidrogel.....	15
2.4.1 Hidrogel.....	15
2.4.2 Biomineralisasi Hidrogel.....	17
3. METODE PENELITIAN .....	20
3.1 Lokasi Penelitian .....	20
3.2 Tahapan Penelitian .....	20
3.3 Prinsip Penelitian.....	20
3.4 Bahan dan Alat Penelitian .....	21
3.4.1 Bahan.....	21
3.4.2 Alat .....	21
3.5 Metode Penelitian.....	23
3.5.1 Pembuatan pelikel selulosa bakteri .....	23
3.5.1.1 Pembuatan starter .....	23
3.5.1.2 Pembuatan pelikel selulosa bakteri .....	23
3.5.1.3 Karakterisasi pelikel selulosa bakteri .....	24
3.5.2 Pembuatan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan .....	24
3.5.2.1 Reaksi antara selulosa bakteri dengan asam sitrat.....	24
3.5.2.2 Reaksi antara selulosa bakteri-sitrat dengan kitosan .....	24

3.5.2.3 Penentuan kapasitas absorpsi .....	25
3.5.2.4 Penentuan kehilangan berat (% <i>weight loss</i> ).....	26
3.5.3 Pembuatan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan/ hidroksiapatit.....	26
3.5.3.1 Perendaman dalam larutan SBF ( <i>Synthetic Body Fluid</i> )....	27
3.5.3.2 Perendaman dalam larutan CaCl <sub>2</sub> 0,2 M dan Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,12 M secara bergantian.....	27
3.5.4 Karakterisasi komposit.....	28
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Sintesis selulosa bakteri.....	29
4.2 Sintesis dan karakterisasi komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan .....	32
4.2.1 Analisa XRD dan FTIR komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan...	40
4.3 Pembentukan dan karakterisasi hidroksiapatit pada matriks Selulosa bakteri-sitrat-kitosan.....	41
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA .....	49
LAMPIRAN.....	53



## DAFTAR TABEL

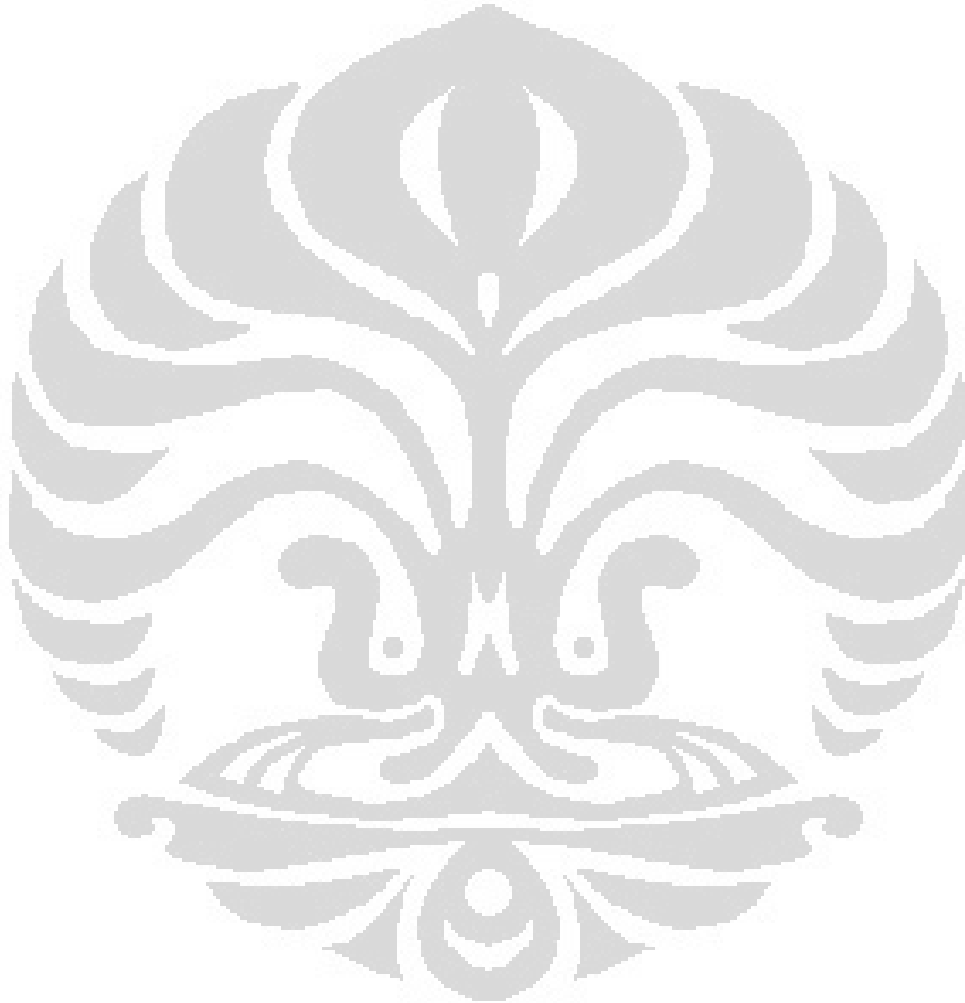
	<b>Halaman</b>
Tabel 2.1	Karakteristik kitin dan kitosan ..... 12
Tabel 2.2	Perbandingan struktur dan komposisi kimia dari HA, enamel, dentin dan tulang ..... 14
Tabel 2.3	Perbandingan konsentrasi ion pada larutan SBF dan plasma manusia ..... 16
Tabel 3.1	Perbandingan jumlah asam sitrat dan $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ..... 25
Tabel 3.2	Variasi waktu reaksi dalam asam sitrat..... 25
Tabel 3.3	Variasi waktu reaksi dalam larutan kitosan ..... 26
Tabel 3.4	Komposisi larutan SBF ( <i>Synthetic Body Fluid</i> )..... 27
Tabel 4.1	Kadar air dari pelikel selulosa bakteri..... 29
Tabel 4.2	Hasil uji komposit pada variasi waktu reaksi dalam asam sitrat.. 37
Tabel 4.3	Hasil uji komposit pada variasi waktu reaksi dalam larutan Kitosan 1% (b/v) ..... 39



## DAFTAR GAMBAR

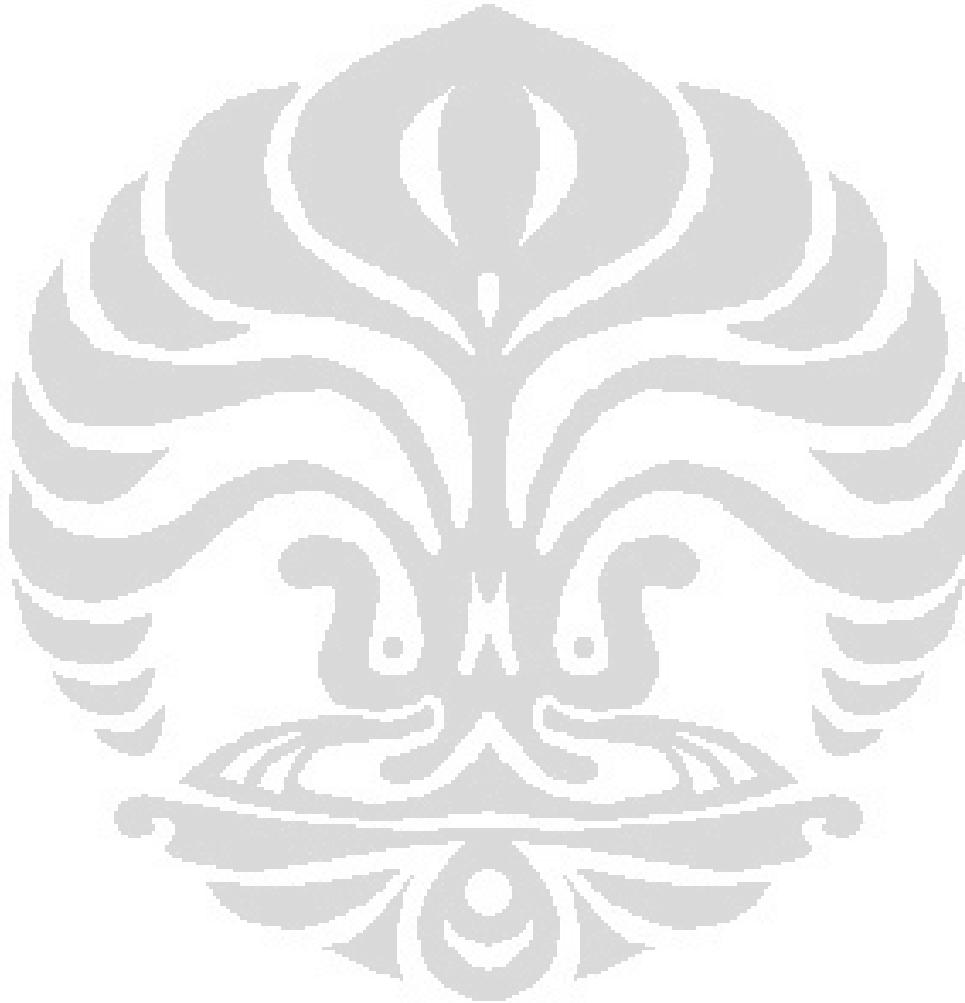
		Halaman
Gambar 2.1	Unit Struktur penyusun polimer selulosa.....	7
Gambar 2.2	Struktur makromolekular (a) selulosa tumbuhan (b) selulosa bakteri.....	8
Gambar 2.3	Ilustrasi penentuan fasa amorf dan fasa kristalin pada penentuan derajat kristalinitas selulosa bakteri dengan metoda Segal (Park, et al., 2010) .....	10
Gambar 2.4	Aplikasi selulosa bakteri sebagai pembalut luka (Czaja, et al., 2007).....	11
Gambar 2.5	Struktur kitin dan kitosan .....	13
Gambar 2.6	Struktur, pola difraksi dan spektra infra merah HA biologi (Dorozhkin, 2009) .....	15
Gambar 2.7	Ilustrasi pembentukan hidroksiapatit pada permukaan hidrogel pHEMA .....	18
Gambar 3.1	Diagram kerja pembuatan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan/hidroksiapatit .....	22
Gambar 3.2	Skematik diagram pembentukan hidroksiapatit dengan metoda perendaman dalam $\text{CaCl}_2$ 0,2 M dan $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 0,12 M secara bergantian .....	28
Gambar 4.1	Pelikel selulosa bakteri yang telah dimurnikan.....	29
Gambar 4.2	Gambar SEM selulosa bakteri.....	30
Gambar 4.3	Spektrum FTIR selulosa bakteri.....	31
Gambar 4.4	Pola difraksi sinar-X selulosa bakteri.....	31
Gambar 4.5	Reaksi antara asam sitrat dengan selulosa.....	33
Gambar 4.6	Spektrum FTIR selulosa bakteri-sitrat .....	33
Gambar 4.7	Selulosa bakteri (a) sebelum, (b) sesudah direaksikan dengan asam sitrat dan kitosan.....	35
Gambar 4.8	Kurva kapasitas absorpsi selulosa bakteri-sitrat-kitosan dalam air DM .....	35
Gambar 4.9	Kurva kapasitas absorpsi selulosa bakteri-sitrat-kitosan dalam Larutan $\text{CaCl}_2$ 0,1 M.....	36
Gambar 4.10	Kurva pertambahan berat, kapasitas absorpsi komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan dalam air DM dan larutan pada $\text{CaCl}_2$ 0,1 M berbagai perbandingan mol asam sitrat dan SHP ...	36
Gambar 4.11	Skema pembentukan hidroksiapatit pada larutan yang direndam pada larutan yang mengandung ion $\text{Ca}^{2+}$ dan $\text{PO}_4^{3-}$ ....	40
Gambar 4.12	Spektrum XRD komposit selulosa bakteri –sitrat-kitosan .....	41
Gambar 4.13	Spektrum FTIR dari (a) selulosa bakteri, (b) Selulosa bakteri – Sitrat, (c) selulosa bakteri sitrat-kitosan, (d) kitosan.....	42
Gambar 4.14	Spektrum XRD komposit selulosa bakteri –sitrat-kitosan yang direndam dalam larutan SBF selama (a) 24 jam (b) 7 hari .....	43

Gambar 4.15	Spektrum EDX komposit selulosa bakteri –sitrat-kitosan yang direndam dalam larutan SBF selama 7 hari.....	43
Gambar 4.16	(a) Spektrum XRD dan (b) Spektrum EDX komposit selulosa bakteri –sitrat-kitosan yang direndam $\text{CaCl}_2$ 0,2 M dan $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 0,12 M secara bergantian .....	45
Gambar 4.17	Gambar SEM komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang direndam dalam larutan $\text{CaCl}_2$ 0,2 M dan $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 0,12 M secara bergantian pada perbesaran (a) 3000 X dan (b) 1000 X ....	45



## DAFTAR LAMPIRAN

		<b>Halaman</b>
Lampiran 1	Data XRD komposit selulosa bakteri sitrat kitosan .....	53
Lampiran 2	Spektrum FTIR komposit selulosa bakteri sitrat kitosan .....	65
Lampiran 3	Spektrum EDX komposit selulosa bakteri sitrat kitosan/Hidroksiapatit .....	68



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal merupakan penyakit yang menyerang struktur pendukung gigi baik jaringan lunak maupun jaringan keras. Penyebab utama penyakit ini adalah penumpukan sisa-sisa makanan pada gigi yang akhirnya menjadi plak pada permukaan/sela-sela gigi dan mengakibatkan kerusakan gigi. Penyakit ini bisa berkembang menjadi periodontitis di mana terjadi kerusakan jaringan pendukung periodontal berupa kerusakan fiber, ligamen periodontal dan tulang. Saat ini, penyakit periodontal diderita oleh hampir 50% dari jumlah populasi dewasa di dunia. Di Indonesia, penyakit periodontal adalah penyakit gigi yang paling banyak dijumpai setelah karies gigi, kedua penyakit ini merupakan penyebab utama terjadinya kehilangan gigi (Wahyukundari, et al., 2009). Berdasarkan hasil riset dasar yang dikeluarkan Departemen Kesehatan RI (RISKESDAS 2007) pada Desember 2008 menunjukkan sebanyak 42,8% penduduk Indonesia menderita penyakit periodontal.

Kerusakan tulang gigi pada penyakit periodontal dapat menyebabkan kekosongan pada tulang dan mengganggu fungsi gigi sehingga mengurangi produktivitas kerja dan kualitas hidup. Pada kasus-kasus periodontal tersebut dibutuhkan graft tulang yang biasanya mengandung bahan-bahan yang dapat merangsang pembentukan tulang baru, regenerasi dan perbaikan gigi secara klinis. Graft tulang tersebut dapat berupa graft yang berasal dari mahluk hidup yaitu tulang manusia (*autograft* dan *allograft*) atau tulang sapi (*xenograft*) dan bahan sintetik/buatan. Penggunaan graft tulang dari mahluk hidup terbukti efektif pada terjadinya regenerasi dan perbaikan tulang secara optimal, akan tetapi graft tulang tersebut belum dapat memenuhi kebutuhan karena jumlahnya yang sangat terbatas dan memungkinkan terjadinya transmisi penyakit berbahaya seperti HIV, hepatitis C dan juga penolakan oleh sistem imun tubuh (Abbas, et al., 2005).

Keterbatasan-keterbatasan penggunaan graft tulang yang berasal dari mahluk hidup tersebut mendorong dilakukannya banyak penelitian mengenai bahan pengganti tulang (*bone substitute*) dari material sintetik yang menyerupai



tulang. Saat ini, kebutuhan bahan pengganti tulang dunia diperkirakan mencapai lebih dari 2 juta per tahun dengan biaya mencapai 15 juta dolar amerika serikat (Huang, et al., 2011; Zimmermann, et al., 2011)

Di Indonesia, ketersediaan graft tulang masih sangat terbatas dan bergantung pada luar negeri. Harganya yang sangat mahal, membuat bahan tersebut hanya dapat dinikmati oleh segelintir orang saja. Oleh karena itu, penelitian mengenai bahan pengganti tulang (*bone substitute*) dari material alami maupun sintetik yang menyerupai tulang sangat penting dilakukan dalam rangka turut serta memberikan solusi dari banyak permasalahan utama kesehatan yang dihadapi masyarakat Indonesia dan sejalan dengan Agenda Riset Nasional (ARN) Kementerian Riset dan Teknologi (KRT) 2010-2014 yang berkaitan dengan kemandirian dalam menjamin ketersediaan obat yang dapat dijangkau oleh masyarakat luas, khususnya pada tersedianya material graft tulang untuk diaplikasikan pada kasus-kasus periodontal.

Senyawa-senyawa yang sering digunakan sebagai graft tulang sintetik biasanya berupa senyawa-senyawa kalsium fosfat dan turunannya seperti hidroksiapatit ( $\text{HA}/\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), dikalsium fosfat ( $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ) dan trikalsium fosfat ( $\text{TCP}/\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ). Senyawa yang paling banyak digunakan adalah hidroksiapatit karena memiliki sifat osteokonduktif (dapat merangsang pertumbuhan tulang), bioaktif dan biokompatibel terhadap jaringan tulang (Rivera-Muñoz, 2011). Akan tetapi, hidroksiapatit memiliki bioresorbabilitas yang rendah sehingga akan menetap pada tulang dalam jangka waktu yang lama. Saat ini, mulai banyak dikembangkan HA biologi (HA yang menyerupai HA pada tulang alami) yang berbeda dengan HA murni dalam hal bioaktifitas, stoikiometri, komposisi, kristalinitas, dan sifat fisika kimianya (Tas, 2000). Pada HA biologi, ion kalsiumnya tersubstitusi sebagian oleh ion lain seperti magnesium dan karbonat sehingga HA biologi sering juga disebut sebagai Cd-HA (*Calcium-deficient HA*). Cd-HA telah teruji memiliki bioaktifitas yang lebih tinggi dan kristalinitas yang lebih rendah sehingga lebih mudah diserap oleh tubuh. Cd-HA biasanya disintesis dengan pembentukan padatan pada larutan yang mengandung ion-ion anorganik pada cairan yang menyerupai cairan tubuh manusia atau disebut juga cairan SBF/*Synthetic Body Fluid* (Nge, et al., 2011).

Pada dasarnya suatu tulang alami merupakan komposit yang terdiri dari 69% material anorganik, 9% air dan 22% matriks organik terutama kolagen (90-96%) (Rivera-Muñoz, 2011). Suatu material graft tulang yang baik diharapkan memiliki kemampuan yang menyerupai pembentukan tulang secara alami dan juga mempercepat penyembuhan luka. Untuk memperoleh sifat-sifat tersebut, saat ini banyak penelitian yang menggabungkan hidroksiapatit dengan polimer alam seperti kolagen, kitosan dan alginat dengan tujuan meningkatkan biokompatibilitas dan kemampuan regenerasi tulang yang baik (Czaja, et al., 2007; Chiaoprakobkij, et al., 2011). Salah satu polimer alam yang berpotensi besar dalam bidang regenerasi tulang adalah selulosa bakteri karena memiliki kemiripan dengan serat kolagen dalam hal biokompatibilitas, kekuatan mekanik yang tinggi dalam keadaan basah dan kering dan kristalinitas yang tinggi (Zimmermann, et al., 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Zimmermann, et al. pada tahun 2011 telah berhasil membuat komposit selulosa bakteri/hidroksiapatit untuk diaplikasikan pada proses penyembuhan tulang, komposit ini dapat meningkatkan aktifitas enzim *Alkaline Phosphatase/ALP* yang berperan pada proses regenerasi tulang dan berpotensi besar untuk diaplikasikan sebagai graft tulang. Akan tetapi, jumlah hidroksiapatit yang teradsorpsi dalam selulosa bakteri tersebut masih sedikit dikarenakan nanoporositas dari selulosa bakteri (Zimmermann, et al., 2011).

Pada penelitian ini, pembentukan hidroksiapatit dilakukan dalam matriks selulosa bakteri dan kitosan melalui proses biomimetik menggunakan larutan SBF (*Synthetic Body Fluid*). Peningkatan interaksi antara senyawa anorganik dengan polimer organik dilakukan dengan menambahkan gugus fungsional yang spesifik pada polimer organik untuk menginduksi pembentukan inti apatit atau dengan meningkatkan jumlah ion kalsium dalam lingkungan polimer organik. Penelitian yang dilakukan oleh Kawashita, 2003, menunjukkan terbentuknya kristal apatit pada permukaan membran poliamida yang direndam dalam larutan kalsium klorida dan dilanjutkan perendaman dalam larutan SBF. Pada penelitian tersebut disimpulkan bahwa gugus  $-COOH$  pada poliamida memiliki peranan penting terhadap pembentukan inti apatit. Penelitian lain yang dilakukan oleh Kawai, et

al., 2004, menunjukkan bahwa gugus sulfonat ( $-\text{SO}_3\text{H}$ ) juga dapat menginduksi pembentukan inti apatit (Kawai, et al., 2004).

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan komposit selulosa bakteri-kitosan dengan menggunakan asam sitrat sebagai agen pengikat silang. Kitosan merupakan senyawa turunan dari kitin (poli( $\beta(1-4)\text{-N-asetil-D-glukosamin}$ )). Kitin dan kitosan telah diketahui bersifat bioaktif dan banyak digunakan dalam produk-produk kesehatan, diantaranya sebagai antibakteri, anti kolesterol, imuno-stimulator, penginduksi regenerasi jaringan dan bahan aktif pada pembalut luka. Penambahan asam sitrat yang kaya akan gugus karboksilat ( $-\text{COOH}$ ) diharapkan dapat menginduksi pembentukan inti apatit pada selulosa bakteri menghasilkan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan/HA.

Pengujian yang akan dilakukan terhadap komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan/HA adalah karakterisasi kimia dan fisika berupa analisa gugus fungsi menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), analisa derajat kristalinitas menggunakan *X-ray Diffraction* (XRD) dan analisa morfologi permukaan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

## 1.2 Perumusan Masalah

Semakin banyaknya penggunaan selulosa bakteri dalam bidang kesehatan terutama dalam bidang periodontal mendorong dilakukannya penelitian tentang pengembangan selulosa bakteri agar dapat diaplikasikan sebagai graft tulang sintetik. Selulosa bakteri memiliki kekurangan yaitu tidak mengandung mineral sehingga tidak dapat berikatan dengan baik dengan jaringan keras seperti tulang dan gigi. Hal tersebut mendorong dilakukannya modifikasi selulosa bakteri agar dapat digunakan sebagai matriks dalam pembentukan senyawa-senyawa kalsium fosfat seperti hidroksiapatit yang berperan penting dalam aplikasinya sebagai graft tulang sintetik.

Berdasarkan permasalahan di atas, pada penelitian ini dilakukan sintesis komposit selulosa bakteri-kitosan dengan menggunakan asam sitrat sebagai agen pembentuk ikatan silang. Pada penelitian ini akan dipelajari bagaimana pengaruh jumlah asam sitrat, waktu reaksi dalam asam sitrat dan waktu reaksi dalam kitosan terhadap hasil sintesis, dilihat dari segi kapasitas absorpsi dalam air dan larutan

kalsium klorida 0,1 M, serta aplikasi komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan tersebut sebagai matriks dalam pembentukan hidroksiapatit.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

- Pembuatan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan dengan asam sitrat sebagai agen pengikat silang.
- Mengetahui pengaruh jumlah asam sitrat dan pengaruh waktu reaksi terhadap pembentukan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan.
- Mengevaluasi kapasitas absorpsi komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan dalam air DM dan larutan kalsium klorida 0,1 M .
- Mengevaluasi terbentuknya senyawa hidroksiapatit dalam matriks selulosa bakteri-sitrat-kitosan.

### 1.4 Hipotesis

Pada penelitian ini diambil hipotesis bahwa penggunaan asam sitrat sebagai agen pengikat silang akan meningkatkan jumlah kitosan yang terikat dalam selulosa bakteri dan juga meningkatkan kapasitas penyerapan ion kalsium sehingga akan meningkatkan jumlah hidroksiapatit yang terbentuk dalam matriks selulosa bakteri-sitrat-kitosan.

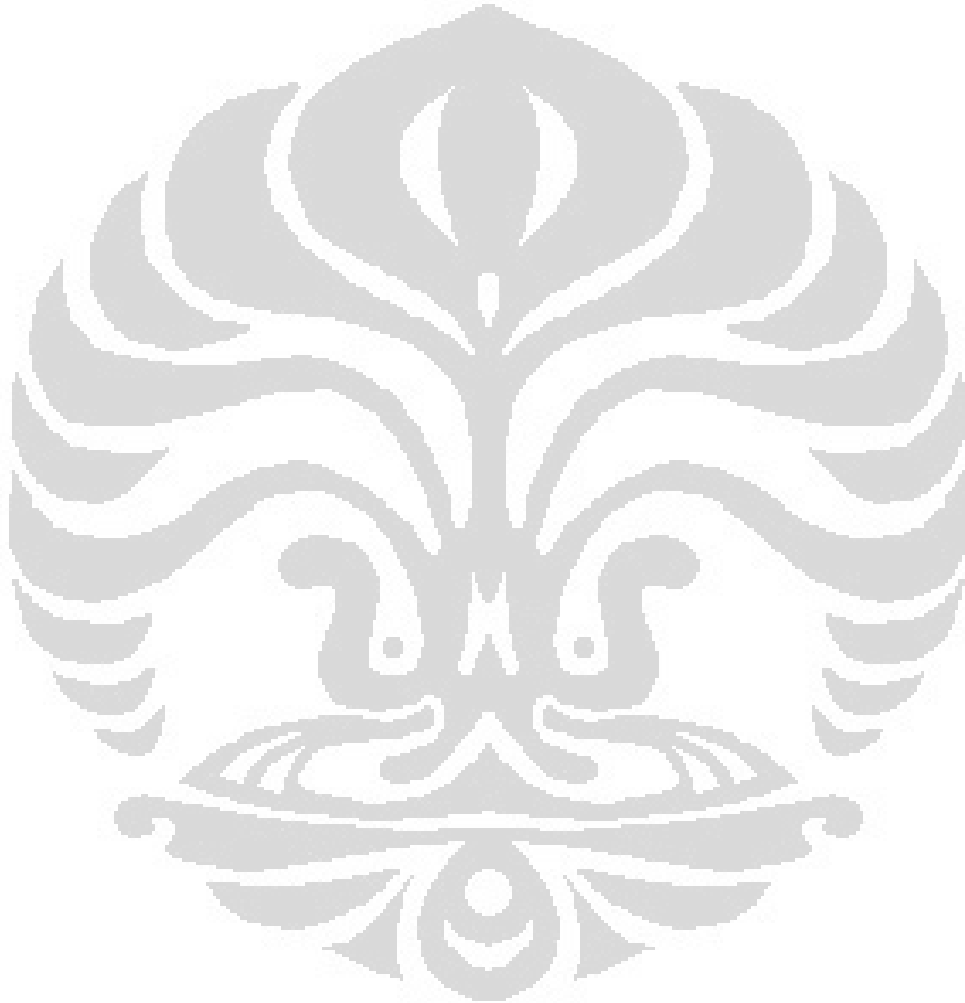
### 1.5 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah mempelajari:

- Variasi jumlah asam sitrat dan waktu reaksi terhadap pembentukan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan dan pengaruhnya terhadap kapasitas penyerapan ion kalsium.
- Pembentukan hidroksiapatit dalam matriks selulosa bakteri-sitrat-kitosan dengan menggunakan 2 metoda yaitu: metoda perendaman dalam larutan SBF dan perendaman dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,2 M dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,12 M secara bergantian.

## 1.6 Manfaat Penelitian

Komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan/hidroksiapatit yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat digunakan sebagai graft tulang pada kasus-kasus periodontal dengan keunggulannya yaitu murah, bersifat osteokonduktif dan biokompatibel.

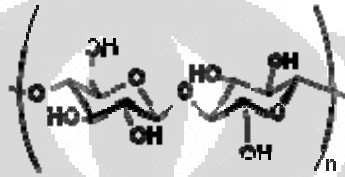


## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Selulosa Bakteri (*Bacterial Cellulose*)

Selulosa (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub> adalah polimer linier yang tersusun dari unit-unit D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan β(1→4) glukosida seperti terlihat pada Gambar 2.1.

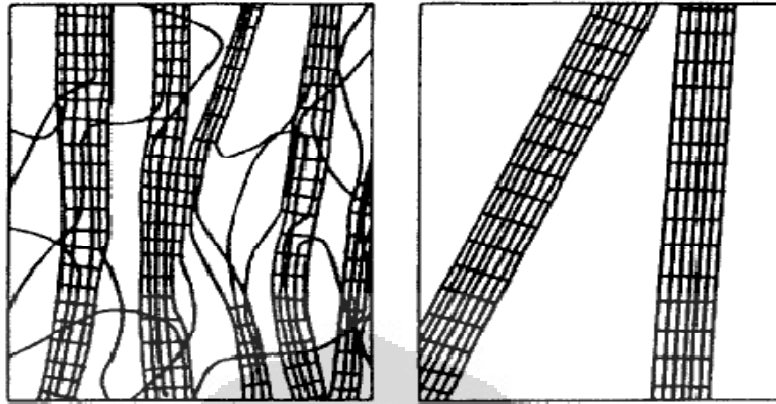


**Gambar 2.1.** Unit struktur penyusun polimer selulosa

Biopolimer selulosa merupakan komponen utama pada dinding sel tumbuhan dan alga. Selain terdapat pada tumbuhan, selulosa juga diekskresikan oleh beberapa jenis bakteri. Selulosa bakteri merupakan produk spesifik dari metabolisme primer yang berfungsi sebagai lapisan pelindung bagi bakteri (Shoda, et al., 2005). Hasil analisa XRD menunjukkan selulosa bakteri memiliki struktur kimia yang identik dengan selulosa tumbuhan tetapi berbeda pada struktur makromolekularnya seperti ditunjukkan pada Gambar 2.2. Karakteristik penting dan unik dari selulosa bakteri adalah kemurniannya, di mana selulosa bakteri tidak mengandung hemiselulosa, pektin dan lignin seperti pada selulosa tumbuhan (Nge, et al., 2011).

##### 2.1.1 *Acetobacter xylinum*

Selulosa bakteri merupakan produk metabolit primer yang diproduksi oleh bakteri penghasil selulosa dari spesies *Aerobacter*, *Achromobacter*, *Azotobacter*, *Alcaligenes* dan *Acetobacter*. Bakteri *Acetobacter xylinum*, atau dikenal juga sebagai bakteri *Gluconacetobacter xylinus* adalah jenis bakteri yang paling banyak digunakan sebagai model pada studi mengenai selulosa (Shoda, et al., 2005).



**Gambar 2.2** Struktur makromolekular (a) selulosa tumbuhan  
(b) selulosa bakteri (Iguchi, et al., 2000)

*A. xylinum* adalah bakteri gram negatif yang bersifat obligat aerob yang biasa terdapat pada buah-buahan dan sayur-sayuran. Bakteri ini menggunakan gula atau karbohidrat dalam buah sebagai sumber utama dalam memproduksi selulosa bakteri. Bakteri ini dapat memproduksi lapisan biofilm yang disebut selulosa bakteri yang berfungsi sebagai pelindung dari musuh-musuhnya, radiasi ultraviolet, udara kering dan ion logam. Pada saat yang bersamaan selulosa bakteri dapat mengakses nutrisi melalui difusi dan menjaga lingkungan tetap anaerob (Ross, et al., 1991; Iguchi, et al., 2000).

Pada tahun 1954, Hestrin and Schramm berhasil membuat medium pertumbuhan bakteri *A. xylinum* untuk menghasilkan selulosa bakteri, yang selanjutnya dikenal dengan medium HS (*Hestrin and Schramm*). Medium ini memiliki komposisi: 2% D-glukosa, 0,5% pepton, 0,5% *yeast extract*, 0,27% dinatrium fosfat, 0,115% asam sitrat dan starter yang berisi biakan bakteri *A. xylinum*. Dalam medium ini, glukosa berfungsi sebagai sumber karbon, pepton sebagai sumber nitrogen, *yeast extract* sebagai sumber vitamin, asam sitrat dan dinatrium fosfat berfungsi sebagai sistem buffer untuk medium HS.

Di Indonesia, selulosa bakteri banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan atau yang dikenal dengan *Nata de coco*. *Nata de coco* adalah selulosa bakteri yang dibuat dengan membiakkan bakteri *A. xylinum* dalam medium pertumbuhan yang terbuat dari air kelapa dan kemudian diberi gula sebagai sumber karbon, ammonium sulfat sebagai sumber nitrogen dan asam asetat untuk mengatur

keasaman medium. Air kelapa dapat digunakan sebagai medium pertumbuhan bakteri *A. xylinum* karena kandungan zat gizinya yang kaya dan relatif lengkap, diantaranya karbohidrat (sukrosa, glukosa, fruktosa dan sorbitol), mineral (K, Na, Mg, P, Cl, Fe dan Cu), protein (asam-asam amino esensial) dan vitamin (Vitamin B dan C) (Wahyudi, 2003).

Selulosa bakteri yang disintesis oleh *A. xylinum* secara molekular identik dengan selulosa yang disintesis oleh tumbuhan. Akan tetapi selulosa tumbuhan mengandung hemiselulosa, lignin, pektin dan senyawa-senyawa lain, sedangkan selulosa bakteri memiliki kemurnian sangat tinggi dengan kandungan air yang tinggi, mencapai 99% dan dapat dikategorikan sebagai hidrogel (Ross, et al., 1991; Iguchi, et al., 2000). Selulosa bakteri memiliki nanoporositas dengan diameter 70-80 nm, derajat polimerisasi yang tinggi yaitu antara 2000-6000, memiliki kristalinitas yang tinggi (60-80%) dan kekuatan mekanik yang tinggi (Jonas, et al., 1998). Selain itu, pelikel selulosa bakteri menunjukkan modulus elastisitas yang tinggi dan kemudahan dibentuk dalam berbagai bentuk dan ukuran. Keunikan ini menjadikan selulosa bakteri sangat potensial untuk digunakan sebagai material implant dalam bidang kedokteran (Czaja, et al., 2007).

### 2.1.2 Penentuan derajat kristalinitas selulosa bakteri

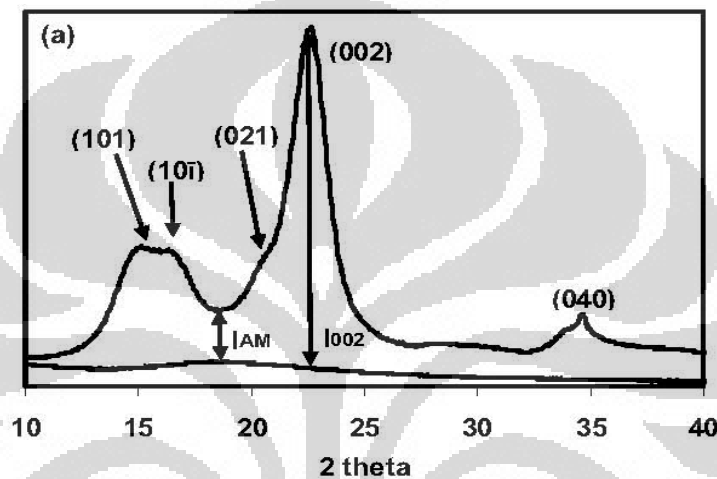
Derajat kristalinitas selulosa dapat ditentukan dengan beberapa metoda seperti XRD, NMR, FTIR dan spektroskopi Raman. XRD dan NMR adalah metoda yang paling banyak digunakan dalam penentuan derajat kristalinitas selulosa.

Penentuan derajat kristalinitas menggunakan XRD dapat dilakukan berdasarkan metoda yang dikembangkan oleh Segal dengan memperkirakan jumlah fasa kristalin pada fasa 002 dan fasa amorf ( $A_m$ ) pada selulosa, fasa amorf pada selulosa berada pada sudut  $2\theta$  sekitar  $18,3^\circ$ , sudut ini merupakan sudut minimum antara 002 dan 110. Indeks kristalinitas dihitung berdasarkan perbandingan antara tinggi puncak 002 ( $I_{002}$ ) dan tinggi puncak minimum antara 002 dan 110 ( $I_{A_m}$ ). Derajat kristalinitas dihitung dengan menggunakan persamaan (2.1):



$$\text{Derajat kristalinitas}(\%) = \left(1 - \frac{I_{Am}}{I_{200}}\right) \times 100\% \quad (2.1)$$

Dalam hal ini,  $I_{Am}$  adalah intensitas puncak minimum fasa amorf yaitu sekitar sudut  $2\theta=18^\circ$ , sedangkan  $I_{002}$  adalah intensitas puncak pada fasa 002 yaitu sekitar sudut  $2\theta=22,7^\circ$ , ilustrasi penentuan fasa amorf dan fasa kristalin pada penentuan derajat kristalinitas selulosa bakteri diberikan pada Gambar 2.3.



**Gambar 2.3** Ilustrasi penentuan fasa amorph dan fasa kristalin pada penentuan derajat kristalinitas selulosa bakteri dengan metoda Segal (Park, et al., 2010)

### 2.1.3 Aplikasi selulosa bakteri dalam bidang kesehatan

Karakteristik dan nanostruktur yang unik serta sifat afinitas biologi yang tinggi dari selulosa bakteri menjadikannya sangat potensial untuk diaplikasikan dalam bidang kesehatan terutama bidang biomedis dan rekayasa jaringan (Shoda, et al., 2005; Czaja, et al., 2007). Membran selulosa bakteri telah berhasil digunakan sebagai pembalut luka untuk kulit yang rusak berat, implant gigi, membran dialisis dan membran pada regenerasi jaringan. Porositas dan kandungan air yang tinggi pada selulosa bakteri menjadikannya sangat baik untuk diaplikasikan sebagai pembalut luka yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka dan melindungi luka dari infeksi sekunder seperti terlihat pada Gambar 2.4. Selain itu, pita-pita mikrofibril selulosa bakteri menyerupai struktur matriks ekstraselular asli, menunjukkan bahwa selulosa bakteri dapat berfungsi

sebagai perancah/*scaffold* untuk konstruksi/ rekayasa jaringan (Jonas, et al., 1998; Nge, et al., 2011). Selulosa bakteri juga dapat digunakan sebagai penghalang fisik pada proses regenerasi tulang. Penghalang fisik sangat diperlukan dalam proses regenerasi jaringan tulang untuk mencegah pertumbuhan sel fibroblas ke dalam dan menyediakan ruang yang cukup untuk memungkinkan sel tulang tumbuh dan berfungsi dengan baik (Macedo, et al., 2004; Novaes Jr., et al., 1993).



**Gambar 2.4** Aplikasi selulosa bakteri sebagai pembalut luka (Czaja, et al., 2007)

Salah satu produk biomaterial komersial yang berbahan dasar selulosa bakteri adalah membran Gengiflex<sup>®</sup>, yang diproduksi oleh perusahaan BioFill (BioFill Produtos Bioetecnologicos, Curitiba, PR Brazil). Membran ini terdiri dari dua lapisan: (a) lapisan internal berupa selulosa bakteri murni, dan (b) lapisan eksternal berupa selulosa bakteri yang dimodifikasi secara kimia. Produk ini bersifat elastis, kuat, dan bio-kompatibel. Membran ini digunakan sebagai pembalut luka pada kasus luka bakar dan penyakit kulit kronik. Pengobatan dengan menggunakan membran ini memiliki kelebihan yaitu pelekatan yang baik, sebagai penghalang/*barrier* yang efektif untuk mencegah terjadinya infeksi, mengurangi rasa sakit, penyembuhan cepat, retensi cairan yang baik (air dan elektrolit), biaya murah, dan waktu penyembuhan yang lebih cepat dibandingkan pengobatan secara normal. Penelitian lain yang dilakukan oleh Novaes Jr., et al., 1993, menunjukkan bahwa membran Gengiflex yang ditanam bersama dengan hidroksiapatit dapat berfungsi sebagai perancah/*scaffold* berpori yang memungkinkan sel-sel tulang bermigrasi dan meningkatkan regenerasi kerusakan tulang.

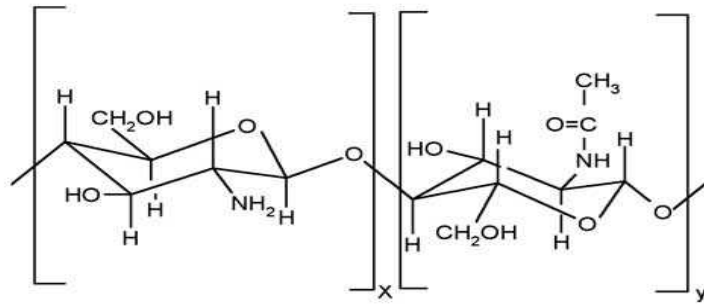
## 2.2 Kitosan

Kitosan merupakan polisakarida linier yang tersusun dari 2 monomer, N-asetilglukosamin (GlcNAc) dan D-glukosamin (GlcN) yang dihubungkan oleh ikatan  $\beta$ -[1-4]. Kitosan pada dasarnya merupakan biopolimer alami yang terdapat pada beberapa jenis jamur. Selain itu, kitosan juga dapat disintesis melalui proses N-deasetilasi kitin pada temperatur dan pH tinggi. Kitin merupakan polisakarida yang memiliki kelimpahan terbanyak di alam dan terdapat pada kulit hewan krustasea seperti udang dan kepiting, serangga dan beberapa jamur. Kitin dan kitosan telah diketahui bersifat bioaktif dan banyak digunakan dalam produk-produk kesehatan, akan tetapi kitin memiliki potensi aplikasi yang kurang luas dikarenakan kelarutannya yang rendah dalam pelarut air dan organik, sedangkan kitosan memiliki kelarutan yang lebih besar, karakteristik kitin dan kitosan dapat di lihat pada Tabel 2.1. Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan seperti tampak pada Gambar 2.5 dianggap berhasil jika produk kitosannya memiliki derajat deasetilasi lebih dari 50%. Derajat deasetilasi dan berat molekul dari kitosan memiliki pengaruh besar terhadap karakteristik kimia dan fisiknya (Bodnar, et al., 2005; Pavinatto, et al., 2010).

**Tabel 2.1** Karakteristik kitin dan kitosan (Pillai, et al., 2009)

Sifat	Kitin	Kitosan
Berat Molekul	$(1-1.03) \times 10^6 - 2.5 \times 10^6$	$10^5 - 5 \times 10^3$
Derajat Deasetilasi (%)	~10	60-90
Viskositas 1% larutan dalam 1% as. Asetat	-	200-2000

Kitosan merupakan satu-satunya polisakarida yang memiliki muatan positif. Kitosan larut dalam larutan asam asetat encer, asam format dan lain-lain pada pH < 6,5. Pada saat larut, gugus amino akan terprotonasi membentuk  $\text{NH}_3^+$ , sehingga senyawa yang bermuatan negatif seperti DNA, lipid dan kebanyakan protein dapat berikatan dengan kitosan membentuk pasangan ion (Pavinatto, et al., 2010).



**Gambar 2.5** Struktur kitin dan kitosan, jika  $x \geq 50\%$  = kitosan, jika  $y \geq 50\%$  = kitin (Pillai, et al., 2009)

Sifat penting lain yang dimiliki kitosan adalah biodegradabilitas yang tinggi, biokompatibel terhadap jaringan tubuh dan bersifat antibakteri, sehingga kitosan seringkali juga disebut sebagai polimer hijau. Sifat-sifat tersebut menyebabkan kitosan memiliki banyak aplikasi penting dalam bidang kesehatan, diantaranya sebagai implant, penginduksi regenerasi jaringan dan bahan aktif pada pembalut luka. Karakteristik lain dari kitosan adalah dapat digunakan sebagai matriks untuk immobilisasi enzim (Pavinatto, et al., 2010).

Gugus amin dari kitosan juga dapat digunakan untuk ikatan silang dengan polimer lain dengan menggunakan berbagai agen pengikat silang seperti glutaraldehid, dan formaldehid, akan tetapi agen pengikat silang tersebut bersifat toksik dan tidak ramah lingkungan (Schiffman, et al., 2007). Untuk mengatasi hal tersebut, banyak peneliti mulai menggunakan agen pengikat silang yang ramah lingkungan seperti asam-asam polikarboksilat. Ikatan silang yang terjadi antara kitosan dan asam polikarboksilat ini berupa interaksi elektrostatik (Shu, et al., 2001).

### 2.3 Hidroksiapatit

Hidroksiapatit  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$  merupakan senyawa yang memiliki kemiripan secara fisika dan kimia dengan mineral yang terdapat pada tulang dan gigi manusia. Tabel 2.2 memberikan gambaran kemiripan struktur dan komposisi kimia antara hidroksiapatit/HA, enamel, dentin, dan tulang. Hidroksiapatit memiliki sifat biokompatibilitas, bioaktifitas dan osteokonduktivitas yang tinggi sehingga telah banyak digunakan dalam berbagai aplikasi biomedis diantaranya

sebagai bahan pengisi tulang pada kasus kerusakan gigi dan matriks pembawa pada sistem penghantaran obat/*drug delivery system*. Hidroksiapatit bersama dengan tetrakalsium fosfat ( $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$ ), *Amorphous calcium Phosphate* dan trikalsium fosfat ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) merupakan senyawa yang termasuk ke dalam golongan kalsium-fosfat. Secara teoritis, hidroksiapatit memiliki kandungan (dalam % berat) kalsium 39,68 ; fosfor 18,45 dengan perbandingan Ca/P 1,67 (Kawai, et al., 2004).

**Tabel 2.2** Perbandingan struktur dan komposisi kimia dari HA, enamel, dentin dan tulang (Fernandes, et al., 1999)

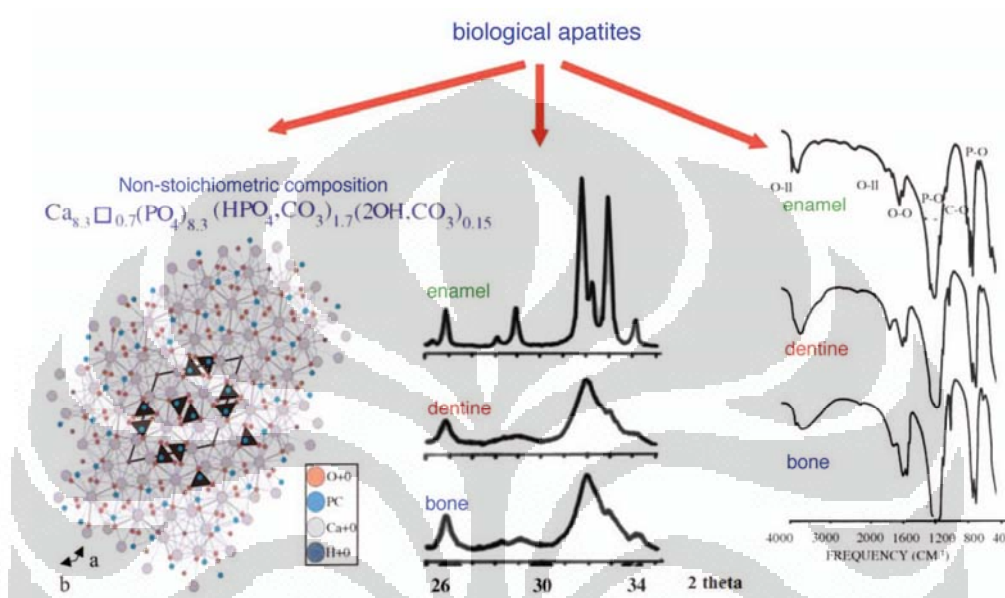
Komposisi	Enamel	Dentin	Tulang	HA
Kalsium	36,5	35,1	34,8	39,6
Fosfor	17,1	16,9	15,2	18,5
Rasio Ca/P	1,63	1,61	1,71	1,67
Total anorganik (%)	97	70	65	100
Total organik (%)	1,5	20	25	--
Air (%)	1,5	10	10	--
Parameter kisi				
<i>a</i> -axis (Å)	9,441	9,421	9,41	9,430
<i>c</i> -axis (Å)	6,880	6,887	6,89	6.891
Indeks kristalinitas (HA=100)	70-75	33-37	33-37	100

Stoikiometri/rasio Ca/P pada hidroksiapatit sangat bergantung pada proses pembuatannya. Nilai ini berkaitan erat dengan keasaman dan kelarutan hidroksiapatit, semakin rendah rasio Ca/P maka keasaman akan semakin tinggi dan kelarutan meningkat. Hidroksiapatit dengan rasio Ca/P < 1 memiliki kelarutan yang tinggi, sedangkan hidroksiapatit dengan kristalinitas tertinggi (rasio Ca/P 1,67) memiliki kelarutan terendah dan sukar diabsorpsi oleh cairan tubuh (Dorozhkin, 2007; Zhanga, et al., 2003).

### 2.2.1 Sintesis Hidroksiapatit

Penelitian-penelitian mengenai proses pembuatan nanopartikel hidroksiapatit telah banyak dilakukan seperti dengan metoda presipitasi, sol-gel, hidrotermal dan teknik mikroemulsi. Kebanyakan penelitian yang telah dilakukan tersebut menghasilkan hidroksiapatit dengan kristalinitas tinggi dan stoikiometri

yang ideal yaitu 1,67, sedangkan hidroksiapatit dengan kristalinitas tinggi memiliki bioaktifitas yang lebih rendah daripada HA biologi. Pada kristal HA biologi, ion kalsium atau ion fosfatnya tersubstitusi sebagian oleh ion lain seperti ion magnesium dan karbonat menghasilkan HA dengan kristalinitas yang lebih rendah seperti ditunjukkan oleh Gambar 2.6 (Dorozhkin, 2011).



**Gambar 2.6** Struktur, pola difraksi dan spectra infra merah HA biologi (Dorozhkin, 2011)

Saat ini, mulai banyak dilakukan penelitian-penelitian mengenai sintesis hidroksiapatit menggunakan larutan sintetik yang menyerupai cairan tubuh (*Synthetic Body Fluid/ SBF*), larutan ini memiliki konsentrasi ion anorganik yang mirip dengan plasma pada manusia. Hidroksiapatit yang diperoleh dengan metode ini memiliki kristalinitas yang lebih rendah dan bioaktifitas yang lebih besar daripada HA murni (Tampieri, et al., 2011). Perbandingan komposisi kimia larutan SBF dan plasma manusia dapat dilihat pada Tabel 2.3 (Tas, 2000).

## 2.4 Biomineralisasi Hidrogel

### 2.4.1 Hidrogel

Selulosa bakteri dalam keadaan basah (pelikel selulosa bakteri) dengan kandungan air sekitar 99% dapat dikategorikan sebagai hidrogel (Ross, et al., 1991; Iguchi, et al., 2000). Hidrogel dapat didefinisikan sebagai suatu polimer

hidrofilik yang memiliki jaringan tiga dimensi, dapat menyerap dan menyimpan air dalam jumlah yang sangat besar.

**Tabel 2.3** Perbandingan konsentrasi ion pada larutan SBF dan plasma manusia (Tas, 2000)

Ion	Konsentrasi (mM)		
	Kokubo et al.	A. Cuneyt Tas	Plasma Manusia
Na <sup>+</sup>	142,0	142,0	142,0
Cl <sup>-</sup>	147,8	125,0	103,0
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	4,2	27,0	27,0
K <sup>+</sup>	5,0	5,0	5,0
Mg <sup>2+</sup>	1,5	1,5	1,5
Ca <sup>2+</sup>	2,5	2,5	2,5
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1,0	1,0	1,0
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,5	0,5	0,5

Hidrogel secara umum dapat dikategorikan menjadi dua kategori, yaitu: gel permanen/kimia: yaitu gel yang memiliki ikatan kovalen di mana kemampuan penyerapan airnya sangat bergantung pada interaksi antara polimer-air dan kepadatan ikatan silangnya. Kategori kedua adalah gel fisika/reversibel: yaitu gel yang didalamnya terjadi interaksi elektrostatis, ikatan ionik, hidrogen ataupun interaksi hidrofobik. Pada gel fisika, interaksi yang terjadi bersifat reversibel dan dapat dipengaruhi oleh perubahan kondisi fisika dan pemberian tekanan (Zhang, et al., 2011).

Karakteristik penting dari hidrogel adalah hidrofilisitas, kemampuan menyimpan air, biokompatibilitas dan biodegradabilitasnya. Karakteristik tersebut membuat hidrogel memiliki banyak aplikasi potensial hampir disemua bidang kehidupan seperti pangan, lingkungan dan kesehatan. Aplikasi hidrogel dalam bidang kesehatan diantaranya untuk sistem penghantaran obat (*drug delivery system*), rekayasa jaringan, regenerasi tulang, lensa kontak, dan lain sebagainya (Zhang, et al., 2011).

#### 2.4.2 Biomineralisasi Hidrogel

Pada dasarnya hidrogel tidak mengandung mineral dan tidak dapat berikatan baik dengan jaringan keras seperti tulang dan gigi, sehingga tidak dapat berfungsi dengan baik dalam aplikasinya sebagai material untuk regenerasi tulang dan gigi.

Biomineralisasi merupakan salah satu cara untuk mensintesis senyawa anorganik seperti hidroksiapatit secara in situ dalam suatu matriks tertentu seperti matriks polimer hidrogel. Mineralisasi polimer hidrogel sangat penting untuk meningkatkan sifat osteokonduktif (merangsang pertumbuhan tulang) dan biokompatibilitas dalam aplikasinya sebagai bahan pengganti/graft tulang (Song, et al., 2003; Gkioni, et al., 2010; Tampieri, et al., 2011).

Beberapa penelitian membuktikan bahwa proses biomineralisasi/pembentukan tulang secara alami di dalam tubuh mahluk hidup dimulai dengan pembentukan kalsium apatit yang bersifat amorf dan selanjutnya akan membentuk kristal yang lebih stabil dengan bertambahnya kristalinitas kalsium apatit. Selama proses perubahan kristalinitas ini, protein ekstraseluler yang bersifat asam yang terikat pada kolagen memiliki peranan penting sebagai tempat untuk pengikatan ion kalsium dalam pembentukan inti kristal apatit (Song, et al., 2003).

Beberapa metoda dapat dilakukan untuk mineralisasi hidrogel dan memperbaiki sifat mekaniknya, yaitu: perendaman dalam larutan yang mengandung ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$  dan mineralisasi secara enzimatik.

(a) Perendaman dalam larutan yang mengandung ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$

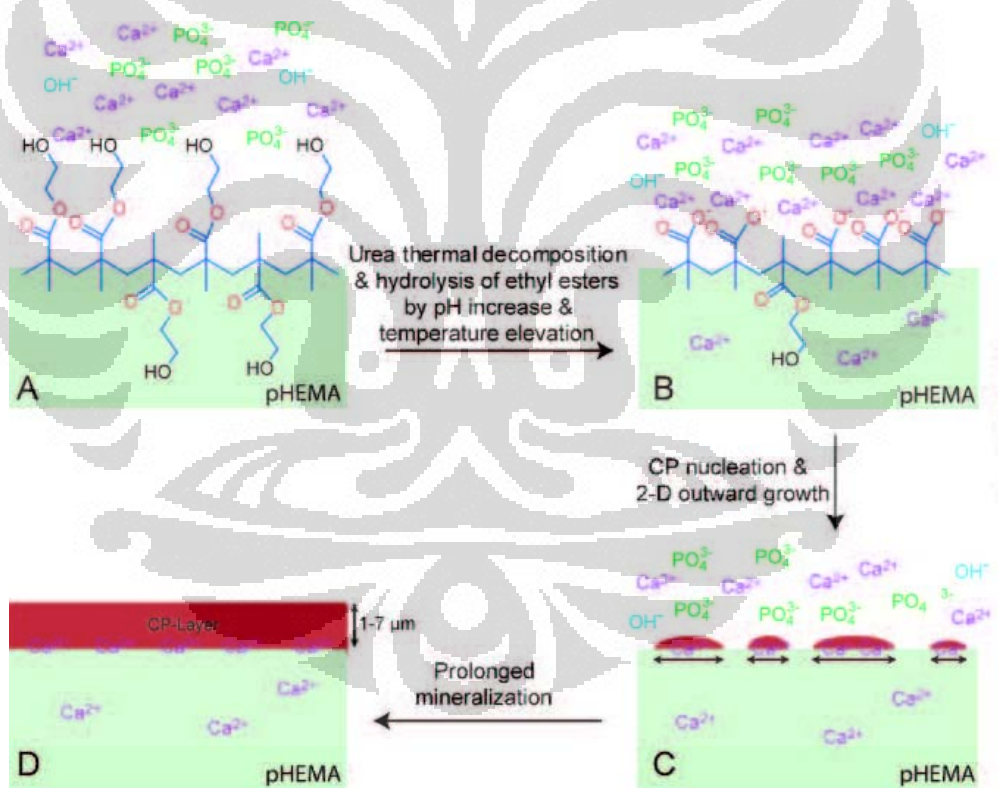
Proses biomineralisasi dengan metoda ini dapat dilakukan dengan perendaman dalam larutan SBF, proses ini membutuhkan waktu yang cukup lama yaitu sekitar 7-14 hari, karena pertumbuhan kristal apatit yang lambat. Penelitian yang dilakukan pada membran kolagen yang direndam dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  kemudian dilanjutkan perendaman dalam larutan SBF menunjukkan terjadinya pembentukan hidroksiapatit (Goes, et al., 2007).

Cara lainnya adalah perendaman dalam larutan yang mengandung ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$  secara bergantian. Penelitian yang dilakukan pada membran kitosan yang direndam dalam larutan ion  $\text{PO}_4^{3-}$  kemudian diikuti perendaman dalam



larutan ion  $\text{Ca}^{2+}$  secara bergantian menunjukkan terjadinya deposisi hidroksiapatit pada permukaan membran (Watanabe, et al., 2008; Strange, et al., 2011).

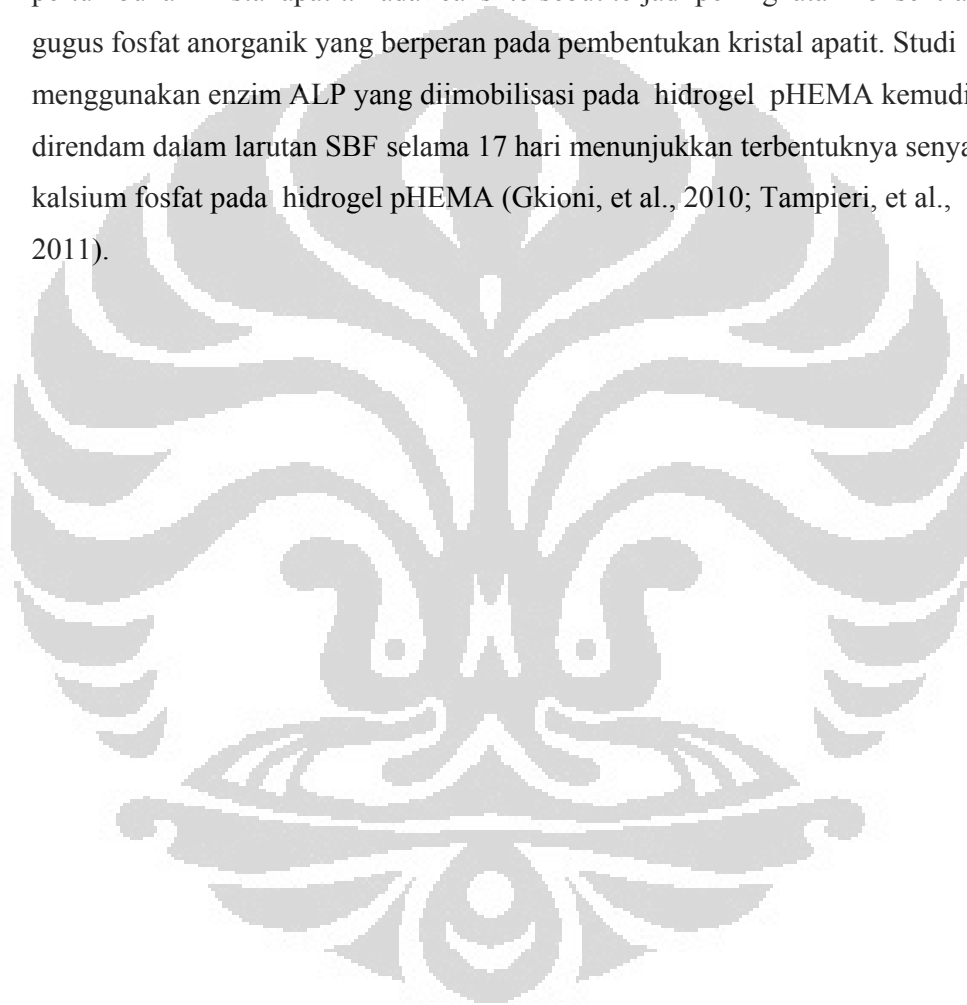
Penelitian lain yang dilakukan Song, et al., 2003, pada hidrogel pHEMA yang direndam dalam larutan yang mengandung ion kalsium, ion fosfat (pH 2,5-3) dan urea (2 M) kemudian dipanaskan pada temperatur 90-95°C selama 2 jam. Selama proses pemanasan, urea akan terdekomposisi dan pH larutan akan bertambah secara perlahan mencapai pH ~8. Pada pH ini, kelarutan kalsium fosfat akan berkurang dan mulai terbentuk kristal kalsium fosfat pada permukaan hidrogel pHEMA. Proses pembentukan kalsium fosfat pada hidrogel pHEMA diilustrasikan oleh Gambar 2.7 (Song, et al., 2003).



**Gambar 2.7** Ilustrasi pembentukan hidroksiapatit pada permukaan hidrogel pHEMA (Song, et al., 2003).

(b) Mineralisasi secara enzimatik

Proses biomineralisasi menggunakan metoda ini dilakukan dengan perendaman dalam larutan yang mengandung enzim *Alkaline Phosphatase/ALP*. Enzim ALP berperan penting sebagai model pada studi mengenai biomineralisasi tulang. Enzim ini mengkatalisa reaksi hidrolisis senyawa organik fosfoester dan menurunkan konsentrasi senyawa pirofosfat yang berperan sebagai inhibitor pada pertumbuhan kristal apatit. Pada reaksi tersebut terjadi peningkatan konsentrasi gugus fosfat anorganik yang berperan pada pembentukan kristal apatit. Studi menggunakan enzim ALP yang diimobilisasi pada hidrogel pHEMA kemudian direndam dalam larutan SBF selama 17 hari menunjukkan terbentuknya senyawa kalsium fosfat pada hidrogel pHEMA (Gkioni, et al., 2010; Tampieri, et al., 2011).



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Lokasi Penelitian**

Penelitian dilakukan di Pusat Teknologi Aplikasi Isotop dan Radiasi (PATIR) – Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN) dan di Departemen Kimia, FMIPA – Universitas Indonesia. Pelaksanaan penelitian dilaksanakan pada tahun ke-2 masa perkuliahan (pertengahan tahun 2011) dan selesai pada pertengahan tahun 2012.

#### **3.2 Tahapan Penelitian**

Penelitian dilakukan dalam 2 tahap, yaitu:

- a. Sintesis dan karakterisasi komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan dengan beberapa tahapan optimasi:
  - Optimasi perbandingan jumlah asam sitrat dan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$
  - Optimasi waktu reaksi dalam asam sitrat
  - Optimasi waktu reaksi dalam larutan kitosan
- b. Pembentukan hidroksiapatit dalam matriks selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang dilakukan dengan dua metoda yaitu dengan perendaman dalam larutan SBF (*Synthetic Body Fluid*) dan perendaman dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  secara bergantian

#### **3.3 Prinsip Penelitian**

Pembuatan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan/hidroksiapatit dilakukan dalam beberapa tahap yaitu pembuatan pelikel selulosa bakteri, pembuatan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan dan pembentukan hidroksiapatit dalam matriks selulosa bakteri-sitrat-kitosan dengan dua metode yaitu perendaman dalam larutan SBF dan dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  secara bergantian.

Secara umum, pembuatan membran selulosa bakteri dilakukan dengan cara menginkubasi medium air kelapa yang mengandung bakteri *Acetobacter xylinum*, sumber karbon dan sumber nitrogen pada suhu  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  selama 5-7 hari sehingga

menghasilkan pelikel selulosa bakteri. Pelikel selulosa bakteri yang diperoleh kemudian dimurnikan menggunakan air demineralisasi dan larutan NaOH. Tahap kedua adalah pembuatan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan, dilanjutkan dengan perendaman komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan dalam larutan kalsium klorida. Tahap ketiga adalah perendaman komposit yang telah diperlakukan pada tahap kedua dengan dua metoda yaitu perendaman dalam larutan SBF dan perendaman dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  secara bergantian untuk membentuk komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan/hidroksiapatit.

Komposit yang diperoleh selanjutnya diuji karakteristiknya yang meliputi uji kristalinitas menggunakan XRD (*X-Ray Diffraction*), analisa gugus fungsi menggunakan FTIR (*Fourier Transform-Infra Red*) dan analisa morfologi permukaan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*). Secara garis besar, proses yang dilakukan dalam pembuatan komposit selulosa bakteri-hidroksiapatit diberikan oleh Gambar 3.1.

### 3.4 Bahan dan alat Penelitian

#### 3.4.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

Biakan bakteri *Acetobacter xylinum*, air kelapa, amonium sulfat (Merck), asam asetat glasial (Merck), sukrosa, aqua destilasi, aqua bidestilasi, natrium hidroksida (Merck), natrium klorida ( $\text{NaCl}$ ) (Merck), kalium klorida ( $\text{KCl}$ ) (Merck), natrium hidrogen karbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) (Merck), magnesium klorida heksahidrat ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck), natrium sulfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) (Merck), kalsium klorida dihidrat ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck), di-natrium hidrogen fosfat dihidrat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck), Tris ( $(\text{CH}_2\text{OH})_3\text{CNH}_2$ ) (Merck), HCl (Merck), kitosan (BM 12000-13000, DD 70-75%) produksi PATIR-BATAN.

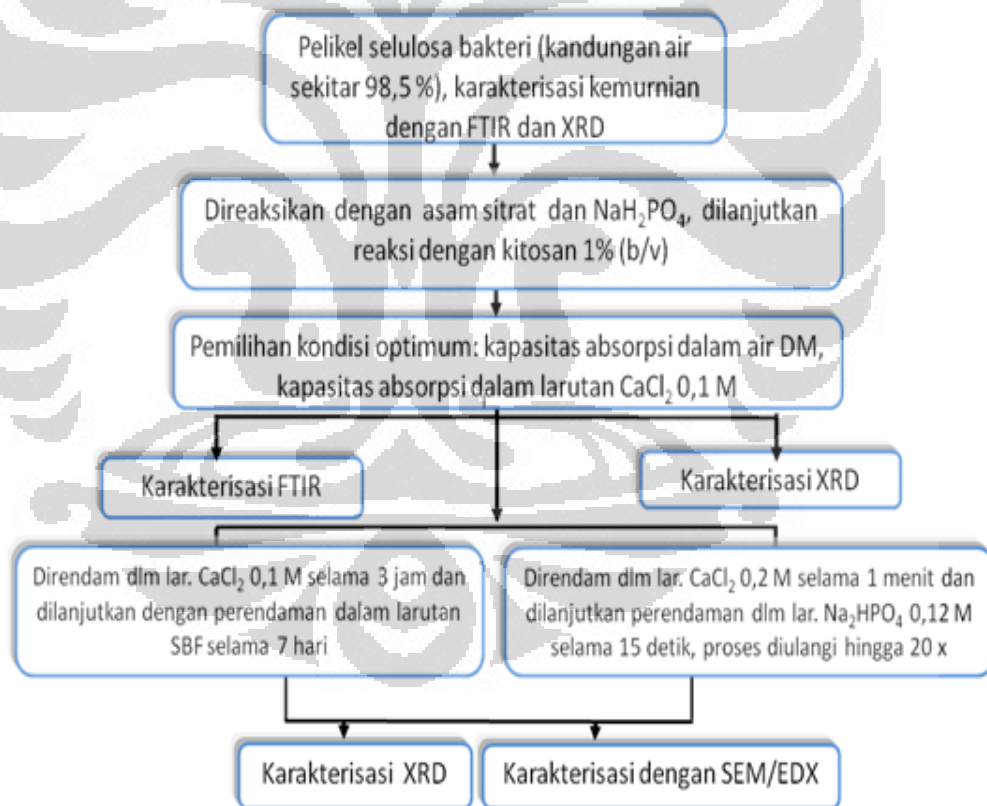
#### 3.4.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu:

- Difraktometer sinar-X (XRD) SHIMADZU XRD-7000 dengan radiasi  $\text{Cu K}\alpha$  ( $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ) yang dioperasikan pada arus 30 mA, tegangan

40 KV, yang ada di Universitas Islam Negeri, Ciputat-Tangerang Selatan.

- Spektrofotometer Infra Merah Shimadzu IR Prestige-21 yang dilengkapi dengan sel *Attenuated Total Reflectance* (ATR) dan menggunakan software IR solution 1.40, yang ada di PATIR-BATAN, Jakarta Selatan.
- SEM – EDX LEO 420i, England, yang ada di Departemen Metalurgi, Universitas Indonesia, Depok, Jawa Barat.
- Instrumentasi lainnya seperti: pH meter, termometer, Oven, Neraca analitik serta peralatan gelas laboratorium lainnya seperti: pipet volum, gelas kimia, batang pengaduk, mikropipet dan labu erlenmeyer.



**Gambar 3.1** Diagram kerja pembuatan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan/hidroksiapatit

### 3.5 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental (laboratorium) yang terdiri dari beberapa tahap, yaitu:

#### 3.5.1 Pembuatan pelikel selulosa bakteri

##### 3.5.1.1 Pembuatan starter

Bibit dari hasil pembiakan kultur murni bakteri *Acetobacter xylinum*, dikembangkan sesuai kebutuhan pelikel bakteri selulosa yang akan diproduksi.

##### Prosedur :

Sebanyak 400 mL air kelapa yang telah disaring dengan kain penyaring, ditambah dengan 20 g sukrosa (gula pasir) dan 2 g ammonium sulfat kemudian diaduk sampai homogen dan dilakukan penambahan asam asetat glasial (p.a) sampai pH 4. Larutan tersebut dipanaskan sampai mendidih kemudian didinginkan. Sebanyak 80 mL biakan *Acetobacter xylinum* ditambahkan ke dalam larutan medium steril yang sudah dingin dan diaduk hingga homogen. Larutan dipindahkan ke dalam botol steril dan diinkubasi pada suhu  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  selama 5-7 hari. Starter yang baik dapat dilihat dari ketebalan pelikel yaitu berkisar  $\pm 1$  cm, selanjutnya digunakan untuk pembuatan pelikel selulosa bakteri.

##### 3.5.1.2 Pembuatan pelikel selulosa bakteri

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam pembuatan pelikel selulosa bakteri adalah air kelapa, sumber karbon dan sumber nitrogen, dan *starter* (cairan berisi biakan bakteri *Acetobacter xylinum*).

##### Prosedur :

Air kelapa disaring untuk menghilangkan sisa kotoran. Sebanyak 150 ml air kelapa dimasukkan dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 7,5 g gula pasir, 7,5 g ammonium sulfat, larutan kemudian diaduk sampai homogen dan dilakukan penambahan asam asetat glasial (p.a) sampai pH 4. Medium selanjutnya dipanaskan hingga mendidih. Medium yang telah steril didinginkan, kemudian ditambah 40 mL starter *Acetobacter xylinum*, kemudian dipindahkan ke dalam wadah yang telah steril secara aseptis. Campuran selanjutnya di inkubasi dalam inkubator selama 5-7 hari pada suhu  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Pemanenan pelikel selulosa bakteri dilakukan pada saat ketebalan pelikel mencapai  $\pm 1$  cm. Pelikel bakteri yang dihasilkan selanjutnya dimurnikan dengan menggunakan larutan natrium hidroksida dan air demineralisasi, dengan rincian sebagai berikut: Penghilangan pelikel dari sisa asam dan gula dengan perendaman pada larutan NaOH 0,1 M pada suhu 60-65°C selama 4 jam. Pelikel selanjutnya dicuci dengan air demineralisasi hingga pH netral. Pelikel yang telah murni selanjutnya di simpan dalam air demineralisasi pada suhu  $\pm 10$  °C.

#### 3.5.1.3 Karakterisasi pelikel selulosa bakteri

Karakterisasi yang dilakukan untuk menganalisa kemurnian selulosa bakteri diantaranya adalah: kadar air (%), analisa gugus fungsi menggunakan FTIR dan analisa derajat kristalinitas menggunakan XRD.

#### 3.5.2 Pembuatan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan

Pelikel bakteri selulosa yang dihasilkan direaksikan menggunakan asam sitrat dengan variasi perbandingan jumlah asam sitrat dan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, waktu reaksi dalam larutan asam sitrat dan dalam larutan kitosan.

##### 3.5.2.1 Reaksi antara selulosa bakteri dengan asam sitrat

Sejumlah 18 g pelikel selulosa bakteri direaksikan dengan 20 mL larutan asam sitrat dan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pada suhu oven pemanas 140°C selama 3 jam dengan jumlah perbandingan mol asam sitrat dan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> seperti terlihat pada Tabel 3.1. Selanjutnya, pelikel selulosa bakteri-sitrat dicuci dengan air DM sebanyak 3 x 50 mL untuk menghilangkan sisa-sisa asam sitrat.

##### 3.5.2.2 Reaksi antara selulosa bakteri – sitrat dengan kitosan

Pelikel dari tahap sebelumnya (3.5.2.1) kemudian direaksikan kembali dengan larutan kitosan 1 % (b/v) dalam asam asetat 0,5% (v/v) pada suhu 140°C selama 1 jam dan reaksi diatur pada pH 4 dengan menggunakan larutan natrium asetat 1 M. Hasil reaksi dicuci dengan air DM sebanyak 3 x 50 mL. Pelikel selulosa bakteri-sitrat-kitosan selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan oven blower pada suhu kamar.

**Tabel 3.1** Perbandingan jumlah mol asam sitrat dan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 

Nama sampel	Perbandingan mmol as. Sitrat: $\text{NaH}_2\text{PO}_4$	Waktu reaksi dalam asam Sitrat (jam)	Waktu reaksi dalam larutan kitosan (jam)
SB	Kontrol	3	1
SB05031	5:0	3	1
SB10031	10:0	3	1
SB15031	15:0	3	1
SB05031	5:5	3	1
SB10531	10:5	3	1
SB15531	15:5	3	1

**Tabel 3.2** Variasi waktu reaksi dalam asam sitrat

Nama sampel	Perbandingan mmol as. Sitrat: $\text{NaH}_2\text{PO}_4$	Waktu reaksi dalam asam Sitrat (jam)	Waktu reaksi dalam larutan kitosan (jam)
SB10021	10:0	2	1
SB10031	10:0	3	1
SB10041	10:0	4	1
SB10051	10:0	5	1
SB10521	10:5	2	1
SB10531	10:5	3	1
SB10541	10:5	4	1
SB10551	10:5	5	1

Hasil optimasi dari Tabel 3.2 dilanjutkan dengan optimasi reaksi dalam larutan kitosan pada berbagai waktu reaksi, yaitu 1, 2, 3,4 dan 5 jam pada waktu reaksi asam sitrat tetap seperti dapat dilihat pada Tabel 3.3.

### 3.5.2.3 Penentuan kapasitas absorpsi

Kapasitas absorpsi dilakukan dengan merendam komposit di dalam air DM dan larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M selama waktu tertentu kemudian diambil dan air yang menempel pada permukaan komposit dikeringkan menggunakan kertas saring. Kapasitas absorpsi (g/g) dihitung dengan menggunakan persamaan 3.1, yaitu:



$$\text{Kapasitas absorpsi (\%)} = \left( \frac{w_s - w_0}{w_0} \right) \quad (3.1)$$

Keterangan:  $w_s$  = berat sampel setelah menyerap air selama t jam (g)  
 $w_0$  = berat awal sampel (g)

**Tabel 3.3** Variasi waktu reaksi dalam larutan kitosan

Nama sampel	Perbandingan mmol as. Sitrat: $\text{NaH}_2\text{PO}_4$	Waktu reaksi dalam asam Sitrat (jam)	Waktu reaksi dalam larutan kitosan (jam)
SB10041	10:0	4	1
SB10042	10:0	4	2
SB10043	10:0	4	3
SB10044	10:0	4	4
SB10531	10:5	3	1
SB10542	10:5	3	2
SB10533	10:5	3	3
SB10534	10:5	3	4

#### 3.5.2.4 Penentuan kehilangan berat (% *weight loss*)

Pada umumnya, kandungan hidrogel dalam suatu material dapat diperkirakan dengan mengukur bagian yang tak larut dalam sampel setelah perendaman dalam air DM selama 48 jam (Nagasawa et al., 2004). Kehilangan berat (%) dihitung dengan persamaan 3.2

$$\text{Kehilangan berat (\%)} = \left( \frac{w_k}{w_0} \right) \quad (3.2)$$

Keterangan:  $w_k$  = berat sampel kering setelah direndam selama 48 jam (g)  
 $w_0$  = berat awal sampel (g)

#### 3.5.3 Pembuatan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan/hidroksiapatit

Tahap selanjutnya adalah pembuatan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan/hidroksiapatit secara biomimetik dengan menggunakan 2 metoda yaitu:

### 3.5.3.1 Perendaman dalam larutan SBF

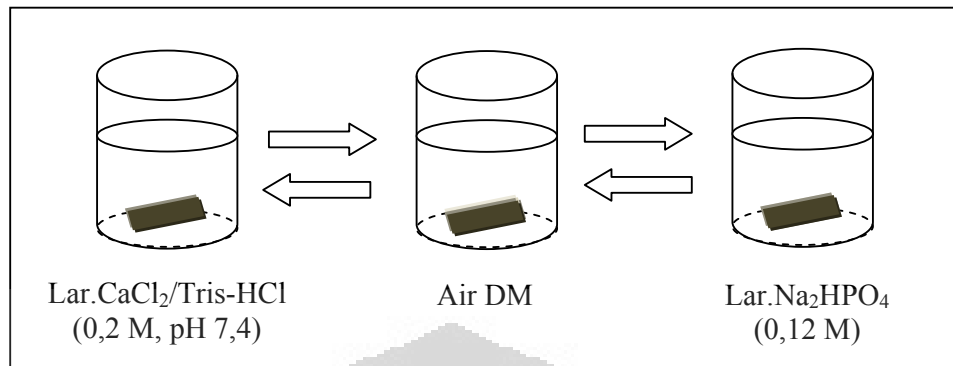
Komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan hasil optimasi di atas selanjutnya direndam dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M selama 3 jam dan dilanjutkan dengan perendaman dalam larutan SBF selama 7 hari dengan penggantian larutan SBF setiap 24 jam (Zimmermann, et al., 2011). Larutan SBF dibuat dengan komposisi seperti disajikan pada Tabel 3.4 (Tas, 2000).

**Tabel 3.4** Komposisi larutan SBF (*Synthetic Body Fluid*) (Tas, 2000)

Urutan	Bahan kimia	Jumlah (g/L)
1	NaCl	6,547
2	NaHCO <sub>3</sub>	2,268
3	KCl	0,373
4	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0,178
5	MgCl <sub>2</sub> . 6 H <sub>2</sub> O	0,305
6	CaCl <sub>2</sub> . 2 H <sub>2</sub> O	0,368
7	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,071
8	(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub>	6,057

### 3.5.3.2 Perendaman dalam larutan $\text{CaCl}_2$ 0,2 M dan $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 0,12 M secara bergantian

Komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan hasil optimasi dimasukkan ke dalam 200 mL larutan  $\text{CaCl}_2$  0,2 M selama 1 menit, kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam 200 mL air DM selama 15 detik dan dilanjutkan dengan perendaman  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,12 M selama 15 detik, kemudian dimasukkan kembali ke dalam 200 mL air DM selama 15 detik yang selanjutnya disebut sebagai 1 siklus reaksi, perlakuan tersebut dilakukan hingga 20 siklus reaksi (Watanabe, et al., 2008; Strange, et al., 2011). Diagram skematik pembentukan hidroksiapatit tersebut terdapat pada Gambar 3.2.



**Gambar 3.2** Diagram skematik pembentukan hidroksiapatit dengan metoda perendaman dalam larutan CaCl<sub>2</sub> 0,2 M dan Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,12 M secara bergantian.

#### 3.5.4 Karakterisasi komposit

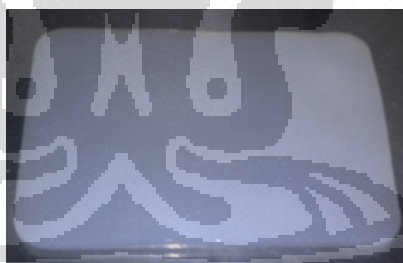
Komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan dan pembentukan hidroksiapatit pada komposit dikarakterisasi dengan menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*), XRD (*X-ray diffraction*), analisa morfologi permukaan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*) dan perbandingan jumlah kalsium fosfat (Ca/P) menggunakan EDX (*Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy*).

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Sintesis Selulosa Bakteri

Pembuatan pelikel selulosa bakteri dilakukan dengan menumbuhkan bakteri *Acetobacter xylinum* dalam medium pertumbuhan air kelapa yang mengandung gula, ammonium sulfat dan asam asetat. Pelikel Selulosa bakteri dipanen setelah diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari. Pelikel selulosa bakteri yang dihasilkan kemudian dicuci dengan air dilanjutkan dengan pencucian menggunakan larutan NaOH 0,1 M pada suhu 60 °C selama 4 jam kemudian dilanjutkan pencucian dengan air sampai pH netral. Pencucian dengan air di awal proses dilakukan untuk menghilangkan sisa asam dan gula, sedangkan pencucian dengan NaOH dilakukan untuk menghilangkan sisa sel-sel bakteri. Pelikel selulosa bakteri yang telah dimurnikan dapat dilihat pada Gambar 4.1. Selulosa bakteri yang dihasilkan selanjutnya dikeringkan dan dikarakterisasi kadar air, gugus fungsinya menggunakan FTIR dan kristalinitasnya dengan XRD.



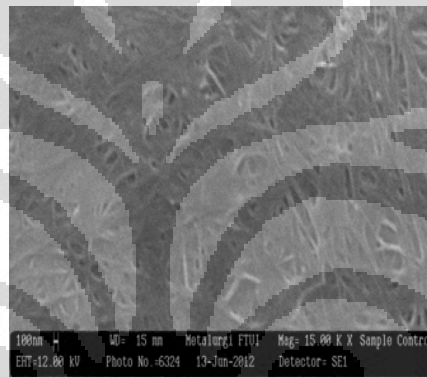
**Gambar 4.1** Pelikel selulosa bakteri yang telah dimurnikan

Analisa kandungan air pelikel selulosa bakteri menunjukkan bahwa selulosa bakteri memiliki kandungan air yang sangat tinggi yaitu 98,5219%, sehingga dapat dikategorikan sebagai hidrogel. Hidrogel didefinisikan sebagai suatu polimer hidrofilik yang memiliki jaringan tiga dimensi dan dapat menyimpan air dalam jumlah yang sangat besar (Iguchi, et al., 2000). Akan tetapi, jika selulosa bakteri ini dikeringkan, kemampuan penyerapan airnya jauh menurun menjadi sekitar 2 g/g, hal ini dikarenakan gugus-gugus hidrofilik dalam selulosa bakteri

saling berikatan hidrogen sehingga struktur 3 dimensinya menjadi sangat rapat seperti ditunjukkan oleh gambar SEM pada Gambar 4.2.

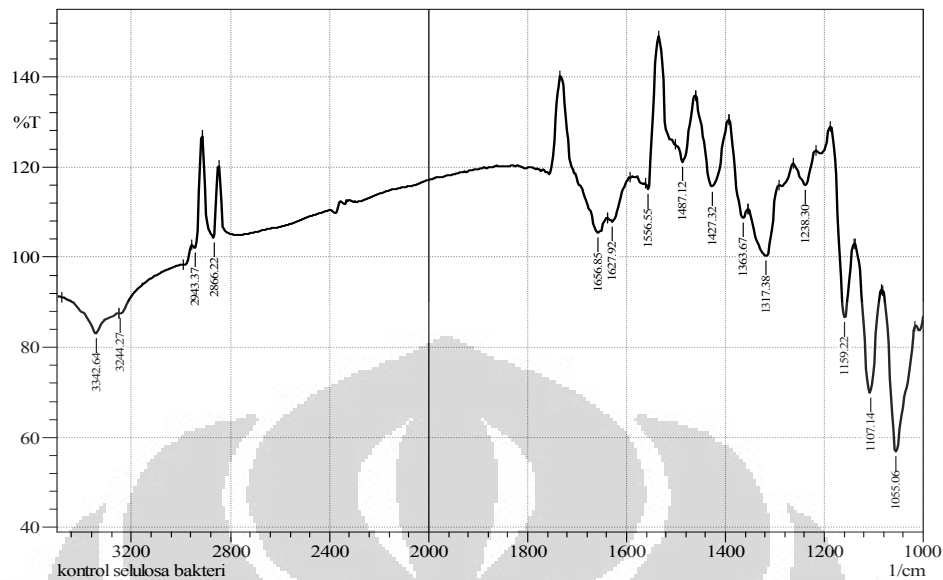
**Tabel 4.1** Kadar air pelikel selulosa bakteri

Sampel	Berat basah (g)	Berat kering (g)	Kadar air (%)
1	18,1560	0,2601	98,5674
2	18,0545	0,2708	98,5004
3	17,9560	0,2697	98,4980
<b>Rata-rata</b>			<b>98,5219 ± 0,0394</b>



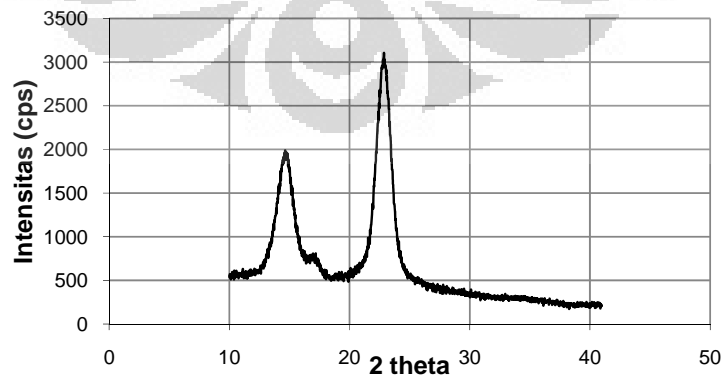
**Gambar 4.2** Gambar SEM selulosa bakteri

Karakterisasi FTIR selulosa bakteri seperti tampak pada Gambar 4.3 menunjukkan serapan-serapan khas dari selulosa bakteri yaitu pada panjang gelombang  $3.342,64 \text{ cm}^{-1}$  yang merupakan pita serapan vibrasi ulur  $\nu(\text{O-H})$  pada selulosa, serapan pada bilangan gelombang ini menunjukkan terjadinya ikatan hidrogen intermolekuler dan intramolekuler pada selulosa bakteri. Ikatan hidrogen intramolekuler untuk  $2\text{-OH} \cdots \text{O-6}$  and  $5\text{-OH} \cdots \text{O-3}$  dan ikatan intermolekuler untuk  $6\text{-O} \cdots \text{HO-3}$  pada selulosa akan tampak pada bilangan gelombang  $3455\text{--}3410$ ,  $3375\text{--}3340$  and  $3310\text{--}3230\text{cm}^{-1}$  (Huang, et al., 2011). Karakteristik lainnya adalah munculnya serapan pada panjang gelombang  $2.943$  dan  $2.866 \text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya pita vibrasi ulur asimetri gugus  $\nu_{\text{as}}(\text{C-H})$  jenuh dan  $\nu_{\text{s}}(\text{C-H})$  jenuh.



**Gambar 4.3** Spektra FTIR selulosa bakteri

Karakterisasi XRD digunakan untuk menentukan derajat kristalinitas selulosa bakteri. Spektrum XRD seperti terlihat pada Gambar 4.4 menunjukkan terdapat 3 puncak dengan intensitas tertinggi yaitu pada sudut  $2\theta=14,461^\circ$ ;  $16,846^\circ$  dan  $22,695^\circ$ . Puncak tertinggi berada pada daerah  $2\theta=22,695^\circ$  yang merupakan puncak khas dari selulosa bakteri pada fasa 002 dan puncak pada sudut  $2\theta=14,461^\circ$  merupakan puncak khas dari selulosa bakteri pada fasa 110 (Huang, et al., 2011). Berdasarkan hasil perhitungan dengan metoda Segal menggunakan persamaan 2.1, selulosa bakteri yang dihasilkan pada penelitian ini memiliki derajat kristalinitas tinggi, yaitu 85,3995%. Pelikel selulosa bakteri ini kemudian digunakan untuk sintesis pada tahap selanjutnya.



**Gambar 4.4** Pola Difraksi Sinar-X selulosa bakteri

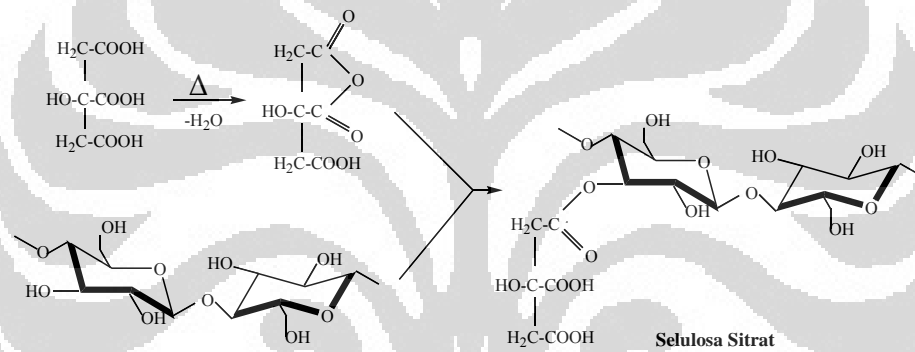
#### 4.2 Sintesis Komposit Selulosa Bakteri-Sitrat-Kitosan

Komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan dibuat dengan menggunakan asam sitrat sebagai agen pengikat silang. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa asam polikarboksilat seperti asam sitrat dapat digunakan sebagai agen pengikat silang yang lebih baik, aman bagi tubuh dan relatif murah dibandingkan agen pengikat silang lainnya seperti formaldehida dan glutaraldehida (Shu, et al., 2001; Schiffman, et al., 2007). Pada penelitian ini, reaksi pembentukan komposit selulosa bakteri-sitrat kitosan dioptimasi dengan mempelajari pengaruh perbandingan jumlah asam sitrat dan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , pengaruh waktu reaksi dalam asam sitrat dan pengaruh waktu reaksi dalam larutan kitosan terhadap kapasitas penyerapan air DM dan larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M. Pengujian kapasitas absorpsi dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  dilakukan untuk mengetahui besarnya kapasitas penyerapan ion  $\text{Ca}^{2+}$  dari komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan berkaitan dengan aplikasinya sebagai matriks untuk pembentukan hidroksiapatit.

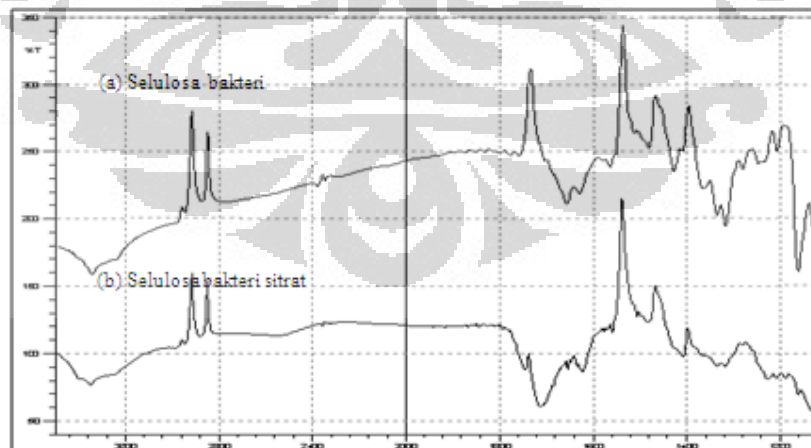
Asam sitrat merupakan senyawa yang memiliki 3 gugus karboksilat (senyawa polikarboksilat) dengan nilai  $\text{pK}_1=3.14$ ;  $\text{pK}_{1,2}=4.77$  dan  $\text{pK}_{1,2,3}=6.39$ . Reaksi antara selulosa bakteri dengan asam sitrat dilakukan pada pH rendah sekitar pH 2. Pada pH ini, ionisasi gugus karboksilat dari asam sitrat sangat rendah (Shu, et al., 2001).

Reaksi antara selulosa bakteri dengan asam karboksilat dapat terjadi melalui reaksi antara selulosa dengan asam sitrat (dalam bentuk karboksilatnya) dan reaksi antara selulosa dengan anhidrida sitrat membentuk selulosa-sitrat. Pada awal reaksi (jumlah pelarut air masih tinggi), yang terjadi adalah reaksi antara selulosa dengan asam sitrat. Dengan bertambahnya waktu reaksi dan pada suhu tinggi (jumlah pelarut air sangat sedikit), dimungkinkan terjadi perubahan asam sitrat menjadi anhidrida sitrat yang lebih reaktif. Reaksi antara anhidrida asam sitrat dengan selulosa bakteri ditunjukkan oleh Gambar 4.5. Pada reaksi tersebut biasanya juga dilakukan penambahan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  untuk mempercepat perubahan asam sitrat menjadi sitrat anhidrida. Anhidrida sitrat yang terbentuk akan langsung bereaksi dengan gugus hidroksi pada selulosa melalui reaksi esterifikasi membentuk selulosa-sitrat (Salam, et al., 2010; Salam, et al., 2011). Pada

temperatur tinggi, waktu reaksi yang lama dan jumlah air yang semakin berkurang reaksi esterifikasi antara asam sitrat dan selulosa dapat terus berlanjut menghasilkan selulosa sitrat dengan kerapatan yang lebih tinggi. Selulosa bakteri-sitrat yang terbentuk pada reaksi ini kemudian dicuci untuk menghilangkan sisa-sisa asam sitrat dan dilanjutkan reaksi dengan kitosan. Karakterisasi selulosa bakteri sitrat menggunakan FTIR dengan metoda ATR (*Attenuated Total Reflectance*) yang ditunjukkan oleh Gambar 4.6 menunjukkan terbentuknya ester selulosa bakteri-sitrat dengan munculnya pita serapan pada panjang gelombang  $1713,83 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1764,69 \text{ cm}^{-1}$  yang merupakan pita vibrasi ulur gugus karbonil karboksilat dari asam sitrat yang terikat pada selulosa dan pita vibrasi ulur gugus karbonil ester selulosa bakteri-sitrat.



**Gambar 4.5** Reaksi antara asam sitrat dengan selulosa bakteri



**Gambar 4.6** Spektra FTIR (a) selulosa bakteri dan (b) selulosa bakteri-sitrat



Sintesis komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan dilakukan pada beberapa perbandingan jumlah asam sitrat dan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  seperti tertera pada Tabel 3.1. Pembuatan komposit dilakukan dengan mereaksikan sekitar 18 gram pelikel selulosa bakteri dengan asam sitrat dan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  pada perbandingan mol tertentu kemudian dilanjutkan dengan reaksi dengan larutan kitosan 1% (b/v) dalam asam asetat 0,5% (b/v), reaksi dilakukan dalam oven pada suhu sekitar  $140^\circ\text{C}$ .

Reaksi antara selulosa sitrat dan kitosan dilakukan pada pH 4. Pada kondisi ini asam sitrat hanya sebagian berada dalam keadaan ionnya, Shu, et al., 2003, menyebutkan bahwa pada pH kurang dari 4,1, ionisasi gugus karboksilat dari asam sitrat sangat rendah dengan derajat ionisasi kurang dari 0,3 (1 molekul sitrat hanya memiliki muatan negatif sebesar 0,3). Sedangkan kitosan ( $pK_a \sim 6,3$ ) sebagian besar terprotonasi membentuk ion  $-\text{NH}_3^+$ , sehingga reaksi antara selulosa sitrat dan kitosan akan berlangsung dengan 2 cara yaitu interaksi elektrosatik (interaksi antara dua senyawa dengan muatan yang berlawanan) antara gugus  $-\text{COO}^-$  dari selulosa sitrat dan gugus  $-\text{NH}_3^+$  dari kitosan membentuk kompleks polielektrolit dan interaksi kimia antara gugus  $-\text{NH}_2$  pada kitosan dan gugus  $-\text{COOH}$  dari selulosa sitrat membentuk ikatan amida (Shu, et al., 2001; Salam, et al., 2010).

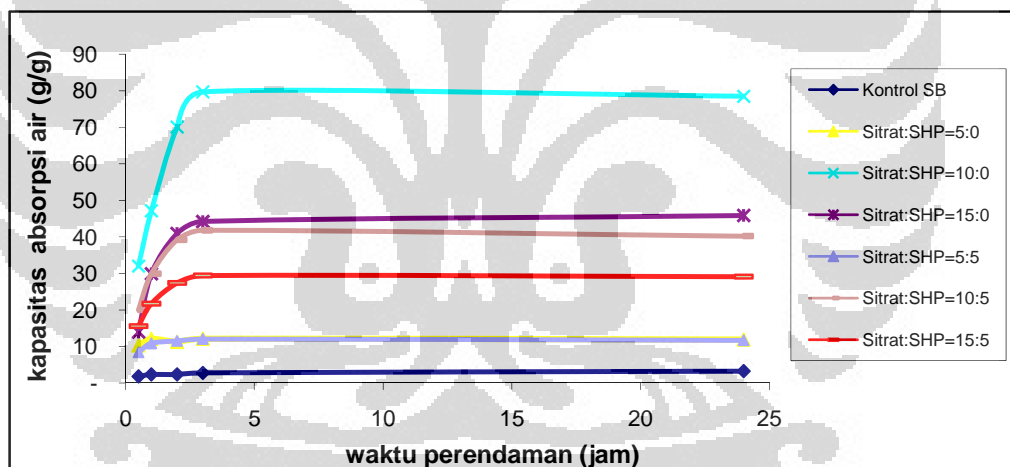
Variasi jumlah asam sitrat dilakukan untuk mengoptimasi jumlah asam sitrat yang terikat pada selulosa bakteri dan meningkatkan kapasitas absorpsi dari selulosa bakteri. Berdasarkan data pengamatan pada variasi jumlah mol asam sitrat dan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , semakin banyak jumlah asam sitrat yang ditambahkan maka berat selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang dihasilkan juga semakin besar dan pertambahan berat yang lebih besar terlihat pada reaksi yang ditambahkan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  sebagai katalis.  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  akan mempercepat perubahan asam sitrat menjadi anhidrida sitrat akibatnya semakin banyak jumlah ester selulosa sitrat yang terbentuk (Salam, et al., 2010).

Komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang dihasilkan seperti terlihat pada Gambar 4.7 (b) diuji kinetika kapasitas absorpsinya dalam air DM dan larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M untuk menentukan waktu serap optimum seperti ditunjukkan oleh Gambar 4.8 dan 4.9. Hasil percobaan menunjukkan waktu serap optimum

komposit adalah 3 jam dan selama selang waktu 3-24 jam komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan tidak menunjukkan kenaikan absorpsi yang berarti. Hal ini menunjukkan absorpsi air oleh komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan sudah jenuh. Waktu optimum ini digunakan untuk penentuan kapasitas absorpsi pada percobaan-percobaan selanjutnya.

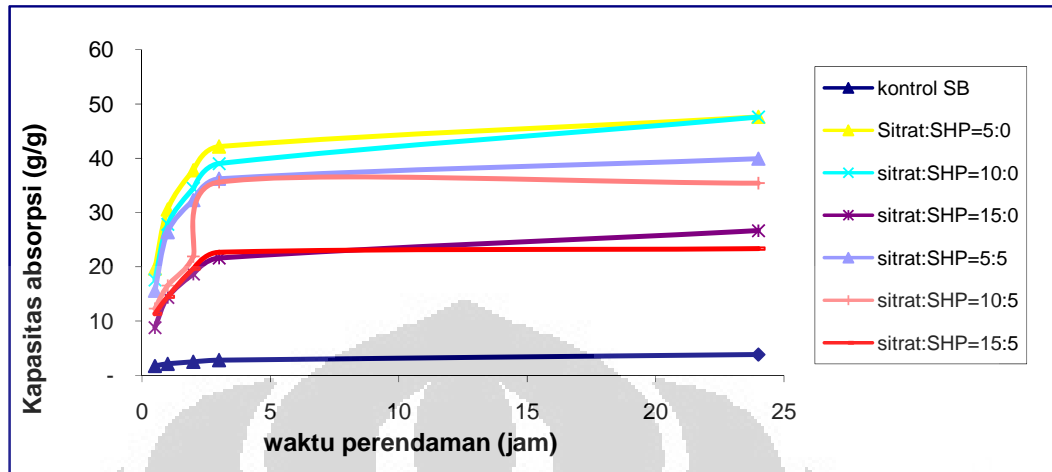


**Gambar 4.7** Selulosa bakteri (a) sebelum dan (b) sesudah direaksikan dengan asam sitrat dan kitosan

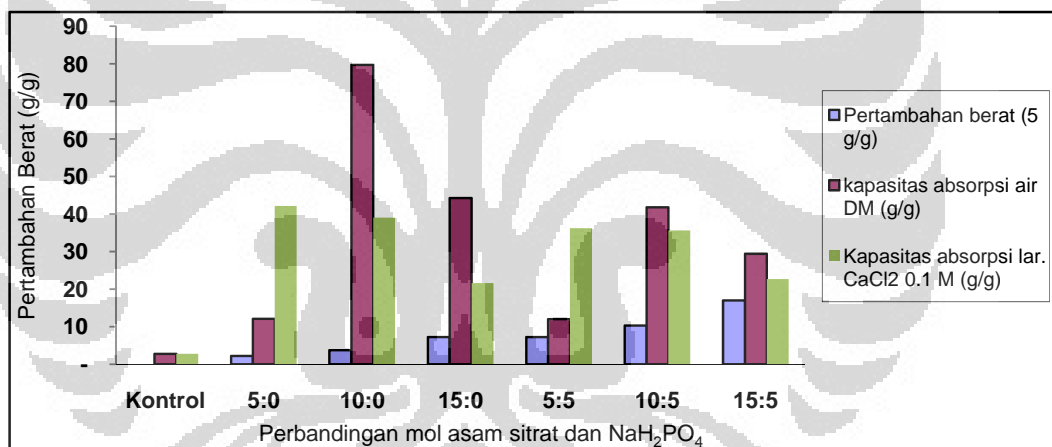


**Gambar 4.8** Kurva kapasitas absorpsi selulosa bakteri-sitrat-kitosan dalam air DM

Gambar 4.10 menunjukkan kurva pertambahan berat, kapasitas absorpsi dalam air DM dan larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M. Dari kurva dapat dilihat bahwa semakin banyak jumlah sitrat yang ditambahkan maka berat komposit mengalami kenaikan. Pada reaksi yang tidak mengandung  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , kenaikan berat komposit yang diperoleh mencapai 74,99% (pada jumlah asam sitrat 15 mmol). Sedangkan pada reaksi yang mengandung  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  kenaikan berat komposit mencapai 339,5% (pada jumlah asam sitrat 15 mmol).



**Gambar 4.9** Kurva kapasitas absorpsi selulosa bakteri-sitrat-kitosan dalam larutan CaCl<sub>2</sub> 0,1 M



**Gambar 4.10** Kurva pertambahan berat, kapasitas absorpsi selulosa bakteri-sitrat-kitosan dalam air DM dan Larutan CaCl<sub>2</sub> 0,1 M pada berbagai perbandingan mol asam sitrat dan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

Nilai kapasitas penyerapan air tertinggi komposit selulosa-bakteri-sitrat-kitosan ada pada reaksi dengan jumlah asam sitrat 10 mmol yaitu sebesar 79,68 g/g, sedangkan kapasitas penyerapan maksimum dalam larutan kalsium klorida 0,1 M diberikan oleh reaksi dengan jumlah asam sitrat 5 mmol yaitu sebesar 42,17 g/g. Reaksi antara asam sitrat dan selulosa bakteri merupakan reaksi esterifikasi, semakin banyak jumlah asam sitrat yang direaksikan maka kesetimbangan reaksi akan bergeser ke arah produk yaitu ester selulosa sitrat, sehingga akan semakin

banyak pula kitosan yang dapat bereaksi dengan selulosa sitrat. Besarnya kapasitas penyerapan air dari komposit dikarenakan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang terbentuk kaya akan kandungan gugus  $-\text{COOH}$  dan  $-\text{OH}$  yang bersifat hidrofilik, selain itu struktur 3 dimensi dari selulosa bakteri memungkinkan air untuk mengisi struktur tersebut. Mekanisme absorpsi air dan ion  $\text{Ca}^{2+}$  dapat terjadi melalui pembentukan ikatan hidrogen antara gugus karboksilat ( $-\text{COOH}$ ) dengan air dan pembentukan kompleks antara gugus karboksilat ( $-\text{COOH}$ ) dengan ion  $\text{Ca}^{2+}$ .

Berdasarkan hasil tersebut disimpulkan bahwa kapasitas absorpsi maksimum ada pada reaksi dengan jumlah asam sitrat 10 mmol (sampel SB10031) dan pada jumlah asam sitrat 10 mmol/ $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  5 mmol (sampel SB10531). Jumlah asam sitrat tersebut kemudian digunakan untuk penentuan waktu reaksi optimum dalam asam sitrat.

Hasil uji komposit pada variasi waktu reaksi dalam asam sitrat berupa pertambahan berat, kapasitas absorpsi dan kehilangan berat (%) dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2** Hasil uji komposit pada variasi waktu reaksi dalam asam sitrat

Sampel	t sitrat (jam)	t kitosan (jam)	Penambahan berat (g/g)	kapasitas absorpsi 3 jam (g/g)		Kehilangan berat (%)
				air DM	lar. $\text{CaCl}_2$ 0,1 M	
SB10021	2	1	1.736	35.276	23.906	75.752
SB10031	3	1	1.950	60.045	43.212	63.610
SB10041	4	1	2.139	68.274	48.560	48.675
SB10051	5	1	2.580	33.754	32.167	75.210
SB10521	2	1	4.409	22.882	10.680	84.240
SB10531	3	1	6.234	27.787	22.877	79.507
SB10541	4	1	7.946	33.844	17.153	76.733
SB10551	5	1	7.159	24.661	16.350	76.688

Hasil percobaan menunjukkan bahwa dengan bertambahnya waktu reaksi dalam larutan asam sitrat terjadi pertambahan berat komposit yang cukup

signifikan, akan tetapi setelah diuji kehilangan beratnya komposit yang dihasilkan mengalami kehilangan berat yang cukup besar, yaitu mencapai 75,75% untuk sampel SB10021 dan 84,24% untuk sampel SB10521. Kehilangan berat diuji menggunakan metoda Nagasawa, 2004, yaitu berdasarkan jumlah fraksi tak larut setelah komposit direndam dalam air DM selama 48 jam pada suhu kamar. Uji ini digunakan untuk mengkuantifikasi jumlah hidrogel/fraksi gel yang terdapat pada komposit. Besarnya nilai fraksi gel dapat digunakan untuk menentukan derajat ikatan silang yang terjadi dalam suatu polimer. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kapasitas absorpsi maksimum sebesar 68,27% didapat pada saat jumlah kehilangan berat terkecil (48,68%) atau jumlah derajat ikatan silang terbesar ( $100 - 48,68 = 51,32\%$ ). Hal ini karena waktu reaksi dalam larutan kitosan sangat cepat, yaitu hanya 1 jam, sehingga ada kemungkinan tidak semua kitosan yang berada pada komposit bereaksi/membentuk ikatan silang dengan selulosa sitrat tetapi hanya melapisi permukaan selulosa bakteri-sitrat. Hasil penentuan waktu optimum dalam larutan asam sitrat didapatkan, kapasitas absorpsi maksimum terjadi pada waktu reaksi dalam larutan asam sitrat selama 4 jam. Dalam waktu ini jumlah pelarut air dalam reaksi sudah banyak berkurang oleh pemanasan dan memungkinkan terbentuknya anhidrida sitrat yang lebih reaktif, sehingga semakin banyak jumlah sitrat yang terikat pada selulosa dan begitu juga akan semakin banyak kitosan yang bereaksi dengan selulosa sitrat. Waktu reaksi optimum dalam larutan asam sitrat ini kemudian digunakan untuk penentuan waktu reaksi optimum dalam larutan kitosan.

Hasil uji komposit pada variasi waktu kitosan berupa pertambahan berat, kapasitas absorpsi dan kehilangan berat (%) dapat dilihat pada Tabel 4.3. Kapasitas absorpsi maksimum dalam air DM diberikan oleh komposit SB10041, dengan bertambahnya waktu reaksi kapasitas absorpsinya akan menurun. Hal ini karena dengan bertambahnya waktu reaksi dalam larutan kitosan maka semakin banyak gugus karboksilat dari selulosa sitrat yang bereaksi dengan kitosan, berkurangnya jumlah gugus karboksilat ini akan sebanding dengan penurunan kapasitas absorpsinya.

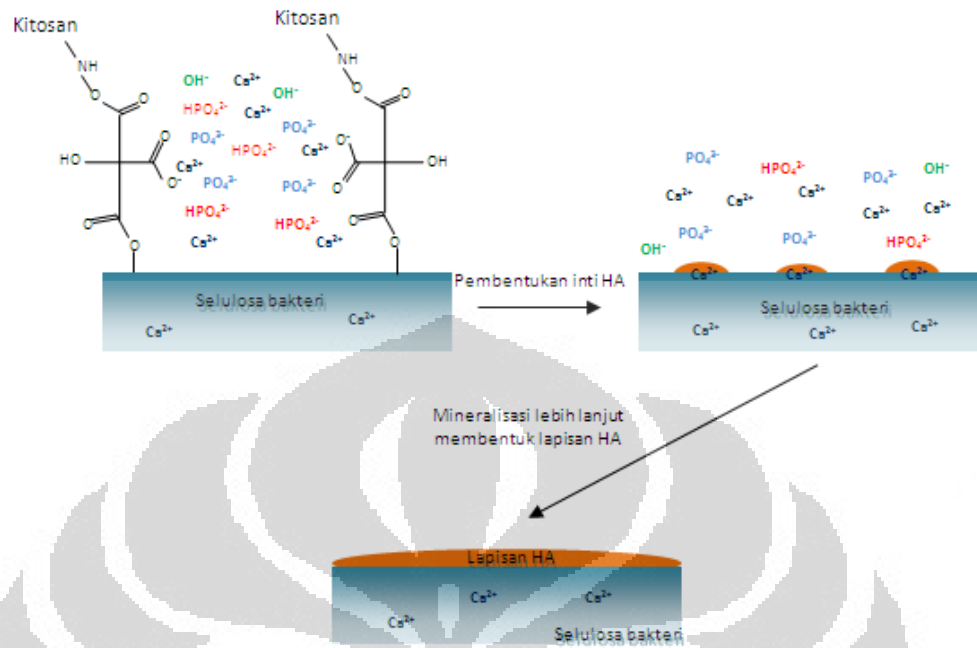
Pengujian kehilangan berat komposit setelah direndam dalam larutan kalsium klorida menunjukkan kehilangan berat terendah ada pada komposit

SB10042 dengan nilai  $-52,48\%$ . Pertambahan berat ini mengindikasikan adanya ion kalsium yang terikat pada komposit atau berada dalam struktur 3 dimensinya.

**Tabel 4.3** Hasil uji komposit pada variasi waktu reaksi dalam larutan kitosan 1% (b/v) dalam larutan asam asetat 0,5% (b/v)

Sampel	Penambahan berat (g/g)	kapasitas absorpsi 3 jam (g/g)		Derajat kristalinitas (%)	Kehilangan berat (%)	
		air DM	lar. CaCl <sub>2</sub> 0,1 M		air DM	Lar. CaCl <sub>2</sub> 0.1 M
SB10041	2.110	78.53	34.358	86.78	58.53	-27.93
SB10042	2.441	48.83	26.243	66.49	59.80	-52.48
SB10043	3.694	41.48	25.484	70.61	46.23	-31.22
SB10044	3.677	36.89	22.211	68.05	65.83	-27.90
SB10531	2.922	28.58	26.210	69.59	69.81	-14.12
SB10532	2.979	39.81	25.729	62.13	45.45	1.99
SB10533	5.234	17.38	19.051	60.78	68.64	13.26
SB10534	8.145	20.11	14.395	56.81	78.71	30.88

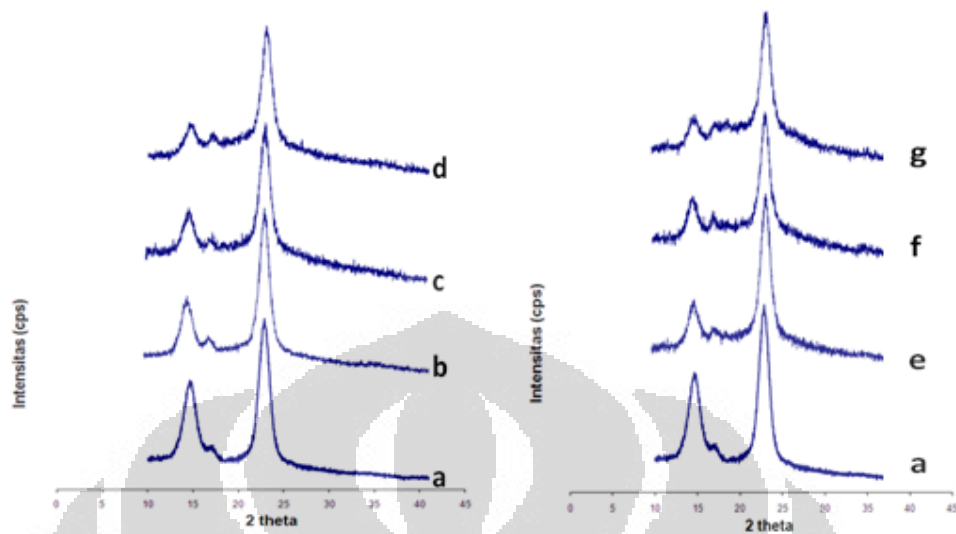
Pengikatan ion kalsium oleh komposit dapat terjadi melalui pembentukan kompleks. Komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan banyak mengandung gugus karboksilat ( $-\text{COOH}$ ) dan hidroksida  $-\text{OH}$  yang dapat berperan sebagai pengkhelet ion logam seperti ion kalsium. Penelitian yang dilakukan oleh Kawashita, 2003 menunjukkan bahwa gugus karboksilat ( $-\text{COOH}$ ) dapat mengikat ion kalsium membentuk kompleks  $-\text{COOCa}^+$  atau  $(-\text{COO})_2\text{Ca}$ . Selain itu, Kawai, et al, 2004, menyebutkan bahwa lingkungan yang kaya ion kalsium berperan penting dalam proses pembentukan inti apatit. Berdasarkan hal tersebut komposit SB10042 dipilih untuk digunakan sebagai matriks untuk pembentukan hidroksiapatit. Skema pembentukan hidroksiapatit pada komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang direndam pada larutan yang mengandung ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$  diberikan oleh Gambar 4.11.



**Gambar 4.11** Skema pembentukan hidroksiapatit pada komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang direndam pada larutan yang mengandung ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$

#### 4.2.1 Analisa XRD dan FTIR komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan

Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan diberikan oleh Gambar 4.12, dari gambar tersebut dapat dilihat penurunan puncak XRD secara signifikan pada sudut  $2\theta$  sekitar  $14,5^\circ$  yang merupakan puncak khas selulosa bakteri pada fasa 101. Hal ini menunjukkan turunnya kristalinitas dari selulosa bakteri setelah direaksikan dengan asam sitrat dan kitosan. Penurunan ini meningkat dengan bertambahnya waktu reaksi dalam larutan kitosan, menunjukkan semakin banyak kitosan yang terikat pada selulosa bakteri. Penurunan derajat kristalinitas komposit dapat dilihat pada Tabel 4.3.



**Gambar 4.12** Pola difraksi XRD komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan (a) SB10041, (b) SB10042, (c) SB10043, (d) SB10044, (e) SB10531, (f) SB10532, (g) SB10533

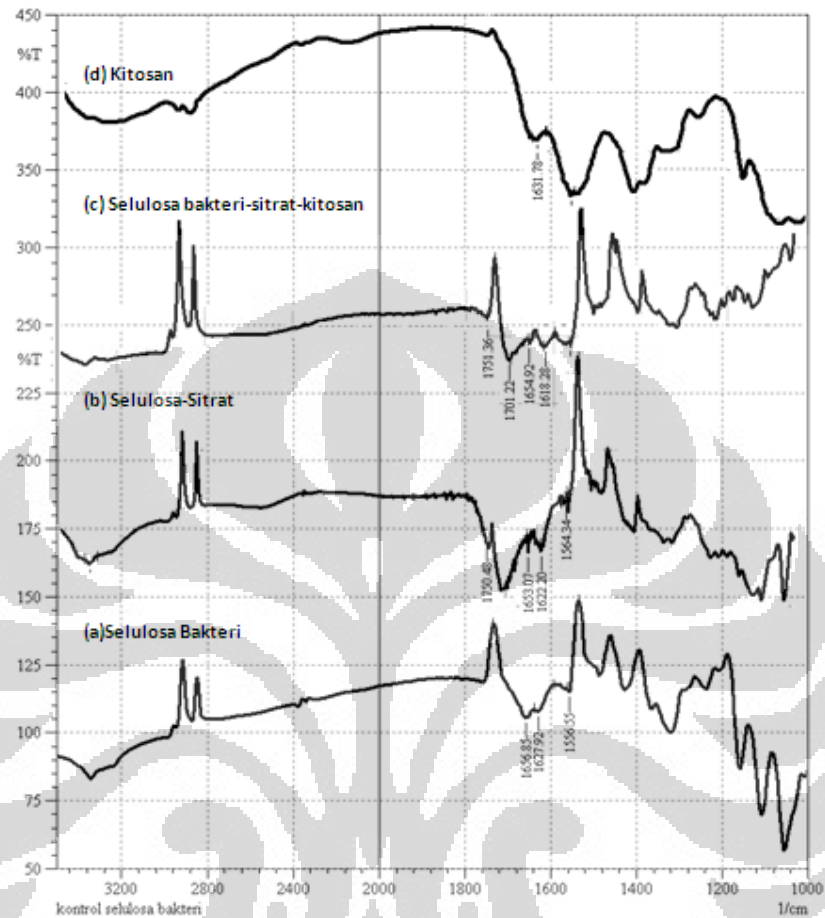
Hasil spektra FTIR kitosan pada Gambar 4.13 menunjukkan pita serapan pada bilangan gelombang 1552,70 dan 1631,78  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan pita serapan vibrasi tekuk  $\text{-NH}$  (amida II) dan pita serapan vibrasi ulur gugus karbonil (amida D) pada kitosan. Puncak-puncak tersebut juga muncul pada spektra FTIR komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan, yaitu munculnya pita vibrasi ulur gugus karbonil amida pada bilangan gelombang 1564,27 dan 1654,92  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan terjadinya ikatan silang antara selulosa bakteri- sitrat dan kitosan. Selain itu, munculnya pita serapan pada bilangan gelombang 1707  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan pita vibrasi ulur gugus karbonil karboksilat dari selulosa bakteri-sitrat.

### 4.3 Pembentukan Hidroksiapatit pada Matriks Selulosa Bakteri

#### 4.3.1 Perendaman dalam larutan SBF

Hasil analisa XRD komposit yang direndam dalam larutan SBF selama 24 jam belum menunjukkan terbentuknya hidroksiapatit ataupun turunannya, melainkan menunjukkan adanya puncak dari garam NaCl yang sangat tajam seperti terlihat pada Gambar 4.14 (a).



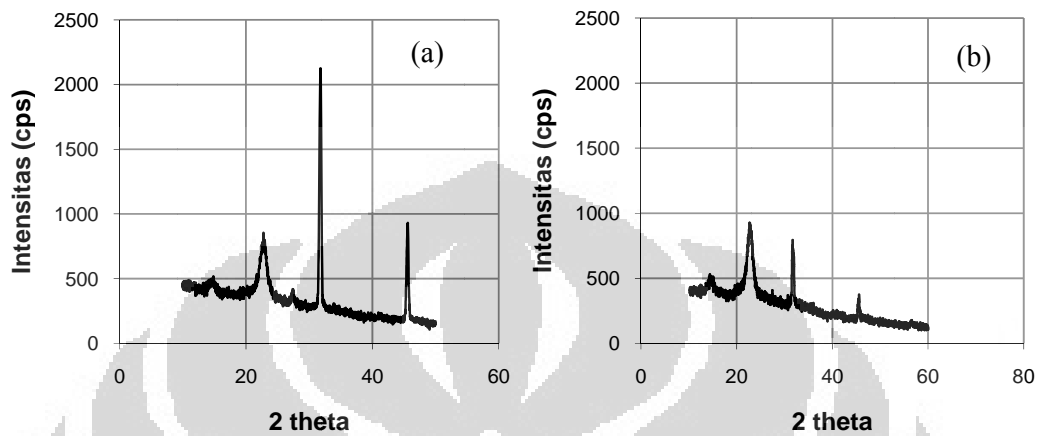


**Gambar 4.13** Spektre FTIR dari (a) selulosa bakteri, (b) Selulosa bakteri-sitrat, (c) komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan, (d) kitosan

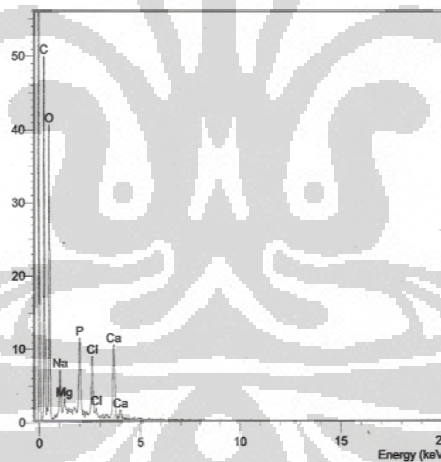
Identifikasi puncak-puncak pada spektrum XRD yang muncul pada sudut  $2\theta = 31,74^\circ$  dengan intensitas 100% dan puncak pada  $2\theta = 45,54^\circ$  dengan intensitas 22,7% merupakan puncak khas dari garam NaCl. Hal ini karena kandungan tertinggi dari larutan SBF adalah NaCl yang mencapai 40% sehingga gugus-gugus aktif pada komposit akan terlebih dahulu berikatan dengan ion  $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}^-$  dari larutan SBF.

Spektrum XRD (Gambar 14 (b)) komposit yang direndam dalam larutan SBF selama 7 hari juga memberikan puncak-puncak NaCl walaupun dengan intensitas yang jauh lebih kecil dibanding perendaman selama 24 jam, selain itu pada spektrum XRD juga mulai menunjukkan puncak-puncak khas hidroksiapatit

pada sudut  $2\theta = 25,56^\circ$  dan  $26,78^\circ$ , hal ini didukung oleh hasil analisa EDX yang menunjukkan adanya puncak Na, Cl, Ca dan P pada spektrum, seperti ditunjukkan oleh Gambar 4.15.



**Gambar 4.14** Spektrum XRD komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang direndam dalam larutan SBF selama (a) 24 jam dan (b) 7 hari



**Gambar 4.15** Spektrum EDX komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang direndam dalam larutan SBF selama 7 hari

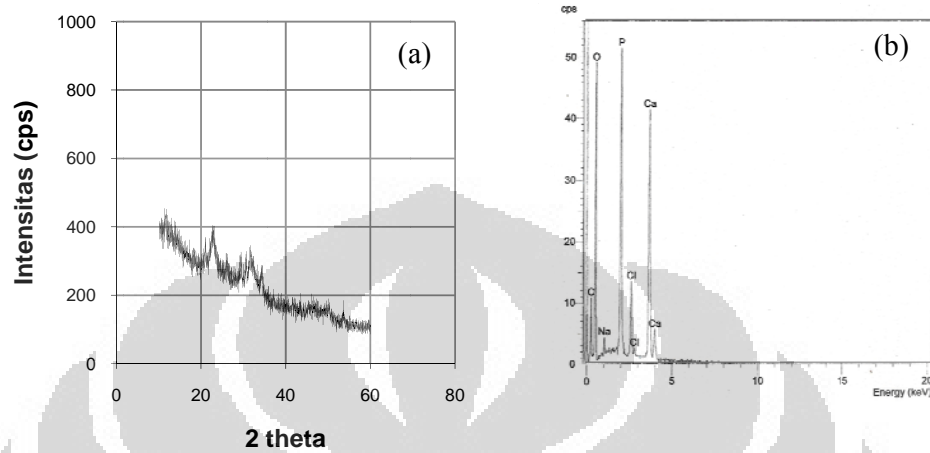
Pembentukan hidroksiapatit dengan metoda perendaman dalam larutan SBF sangat dipengaruhi oleh perendaman komposit dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M. Perendaman komposit dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M akan menyebabkan lingkungan komposit kaya ion kalsium dan menginduksi pembentukan inti apatit. Ion  $\text{Ca}^{2+}$  dari larutan dapat berikatan dengan gugus karboksilat ( $-\text{COOH}$ ) membentuk

kompleks  $-\text{COOCa}^+$  atau  $(-\text{COO})_2\text{Ca}$  (Kawai, et al., 2004). Selain itu struktur 3 dimensi dari selulosa bakteri memungkinkan ion  $\text{Ca}^{2+}$  mengisi struktur tersebut. Pada tahap selanjutnya kompleks tersebut akan mengikat ion fosfat dari larutan SBF membentuk inti apatit seperti digambarkan pada Gambar 4.11. Pada awalnya, kristal hidroksiapatit yang terbentuk bersifat amorf. Dengan bertambahnya waktu perendaman, kristalinitas hidroksiapatit akan meningkat dengan rasio Ca/P yang lebih besar dan mendekati HA kristalin dengan perbandingan Ca/P=1,67. Hasil analisa EDX komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang direndam selama 7 hari dalam larutan SBF memberikan perbandingan Ca/P=1,25. Hal ini menunjukkan hidroksiapatit yang terbentuk bersifat amorf atau lebih dikenal dengan HA biologi yang memiliki komposisi non-stoikiometri  $[\text{Ca}_{8,3}\text{M}_{0,7}(\text{HPO}_4\cdot\text{CO}_3)_{1,7}(\text{PO}_4)_{8,3}(\text{2OH}\cdot\text{CO}_3)_{0,15}]$ . Pada kristal HA biologi, ion kalsium tersubstitusi sebagian oleh ion lain dalam larutan SBF seperti  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  dan  $\text{Sr}^{2+}$ ;  $\text{PO}_4^{3-}$  dan  $\text{HPO}_4^{2-}$  tersubstitusi sebagian oleh  $\text{CO}_3^-$  dan ion hidroksidanya ( $\text{OH}^-$ ) tersubstitusi sebagian oleh  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$  dan  $\text{CO}_3^-$ , menghasilkan HA dengan kristalinitas yang lebih rendah (Dorozhkin, 2011).

#### 4.3. 2 Perendaman dalam larutan $\text{CaCl}_2$ 0,2 M dan $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 0,12 M secara bergantian

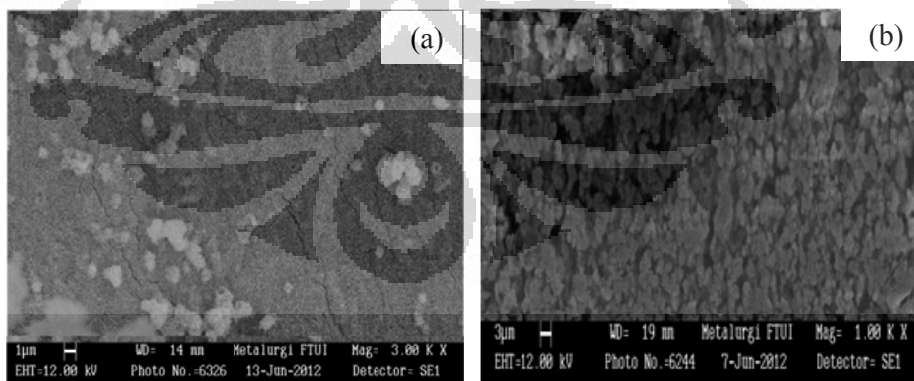
Proses perendaman secara bergantian suatu polimer organik pada larutan kalsium klorida dan larutan dinatrium hidrogen fosfat merupakan salah satu alternatif pembentukan hidroksiapatit pada polimer organik (Strange, et al., 2011; Watanabe, et al., 2008). Hasil analisa XRD (Gambar 4.15 (a)) komposit yang diproses dengan metoda ini menunjukkan terbentuknya hidroksiapatit dengan munculnya puncak-puncak khas hidroksiapatit pada sudut  $2\theta = 26,1^\circ$  (002);  $29,4^\circ$  (102) dan  $32,01^\circ$  (211), puncak yang lebar pada spektrum ini menunjukkan derajat kristalinitas yang rendah dari hidroksiapatit, hal ini diperkuat dengan hasil analisa EDX yang menunjukkan puncak Ca dan P pada spektrum EDX (Gambar 4.16 (b)) dengan perbandingan Ca/P=1,13. Hidroksiapatit yang terbentuk dengan metoda ini memiliki kristalinitas yang lebih rendah daripada metoda perendaman dalam larutan SBF. Hal ini karena proses pembentukan hidroksiapatit dengan metoda ini berlangsung cepat, sedangkan proses pembentukan hidroksiapatit dengan metoda

perendaman dalam larutan SBF berlangsung sangat lambat sehingga pembentukan inti berjalan lambat dan akan menghasilkan hidroksiapatit dengan kristalinitas yang lebih tinggi (Strange, et al., 2011).



**Gambar 4.16** (a) Spektrum XRD dan (b) Spektrum EDX komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang direndam dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,2 M dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,12M secara bergantian

Hasil analisa morfologi permukaan menggunakan SEM yang diberikan oleh Gambar 4.17 menunjukkan terbentuknya lapisan hidroksiapatit pada permukaan komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang diproses dengan metoda perendaman dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,2 M dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,12M secara bergantian.



**Gambar 4.17** Gambar SEM komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang direndam dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,2 M dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,12M secara bergantian pada perbesaran (a) 3000 X (permukaan komposit terdposisi sebagian oleh hidroksiapatit), (b) 1000 X (Hidroksiapatit menutupi seluruh permukaan komposit)

Pada Gambar 4.17 (b) terlihat hidroksiapatit terdepositasi memenuhi permukaan selulosa bakteri. Sedangkan, komposit yang diproses dengan metoda perendaman dalam larutan SBF, hidroksiapatit tidak terbentuk pada permukaan komposit melainkan ada di dalam struktur 3 dimensi komposit.

Pembentukan hidroksiapatit dengan metoda ini diawali dengan pembentukan OCP (oktakalsium fosfat [ $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ]). OCP merupakan senyawa intermediet yang tidak stabil dan akan bertransisi menjadi senyawa kalsium fosfat yang lebih stabil seperti kalsium defisien HA [ $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$  ( $0 < x < 1$ )]. Intensitas puncak Ca dan P pada spektrum EDX menunjukkan bahwa jumlah hidroksiapatit yang terbentuk dengan metoda perendaman dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,2 M dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,12M secara bergantian lebih banyak daripada dengan metoda perendaman dalam larutan SBF. Hal ini karena jumlah ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{PO}_4^{3-}$  dalam larutan yang digunakan pada metoda 2 lebih besar daripada dalam larutan SBF.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut:

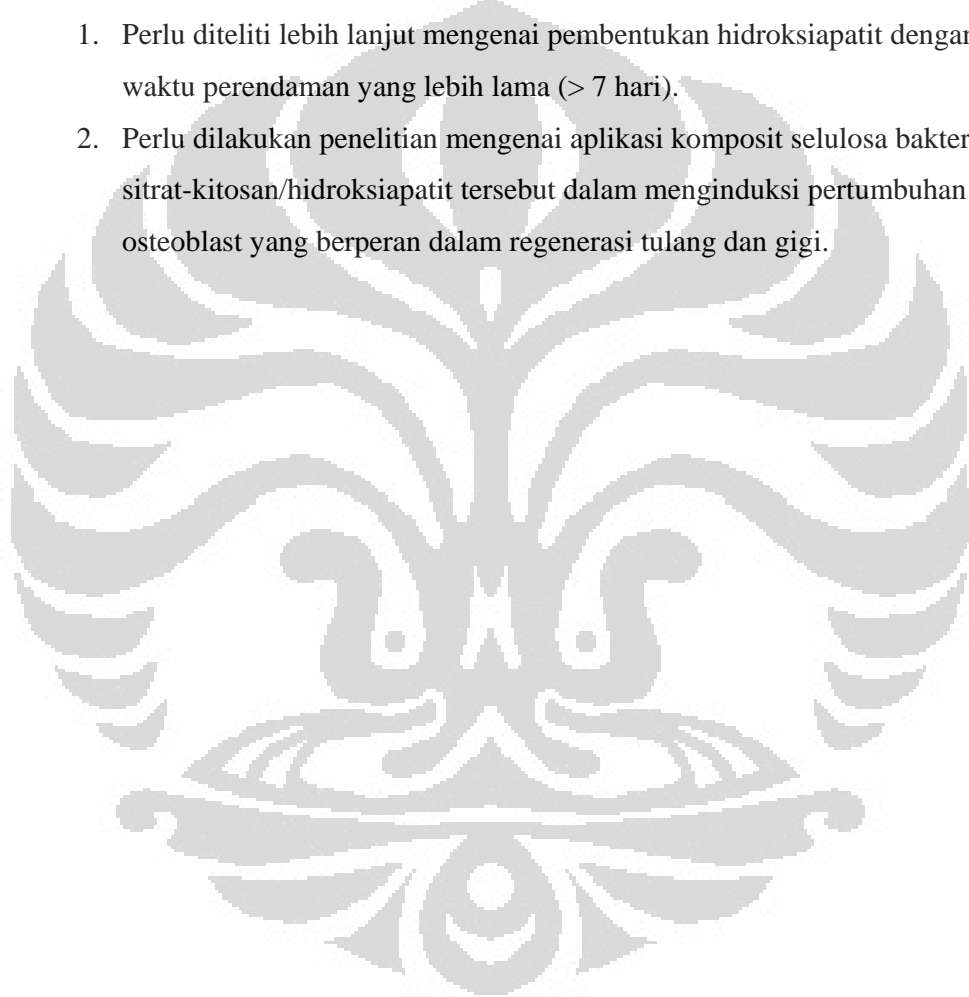
1. Komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan dapat disintesis pada kondisi optimum sebagai berikut: jumlah asam sitrat 10 mmol, waktu reaksi dalam asam sitrat 4 jam dan waktu reaksi dalam larutan kitosan 1% (b/v) 2 jam.
2. Karakterisasi FTIR selulosa bakteri-sitrat-kitosan menunjukkan adanya pita vibrasi ulur gugus karbonil amida pada bilangan gelombang 1564,27 dan 1654,92  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan terjadinya ikatan silang antara selulosa bakteri- sitrat dan kitosan. Selain itu, munculnya pita serapan pada bilangan gelombang 1707  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan pita vibrasi ulur gugus karbonil karboksilat dari selulosa bakteri- sitrat.
3. Komposit tersebut memberikan nilai kapasitas absorpsi air DM sebesar 48,83 g/g, kapasitas absorpsi dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M 26,24 g/g, persen kehilangan berat dalam air DM 59,80 % dan persen kehilangan berat dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M -52,48% yang mengindikasikan adanya ion kalsium yang terikat pada komposit. Berdasarkan hal tersebut komposit ini dipilih untuk digunakan sebagai matriks pada pembentukan hidroksiapatit.
4. Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang direndam dalam larutan SBF selama 7 hari mulai menunjukkan terbentuknya hidroksiapatit dengan munculnya puncak khas hidroksiapatit pada sudut  $2\theta=25,56^\circ$  dan  $26,78^\circ$  pada spektrum XRD dan diperkuat oleh adanya puncak Ca dan P dalam spektrum EDX dengan perbandingan Ca/P=1,25
5. Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan yang direndam dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,2 M dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,12 M secara bergantian menunjukkan adanya puncak-puncak pada sudut  $2\theta=26,1^\circ$  (002);  $29,4^\circ$  (102) dan  $32,01^\circ$  (211) pada spektrum XRD yang merupakan puncak khas untuk hidroksiapatit. Hasil analisa EDX menunjukkan hidroksiapatit yang

terbentuk memiliki perbandingan  $\text{Ca/P} = 1,13$ , berdasarkan hal tersebut hidroksiapatit yang dihasilkan dimungkinkan kalsium defisien HA dengan kristalinitas rendah didukung dengan puncak-puncak yang lebar pada spektrum XRD.

## 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang dapat dikemukakan adalah:

1. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai pembentukan hidroksiapatit dengan waktu perendaman yang lebih lama ( $> 7$  hari).
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai aplikasi komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan/hidroksiapatit tersebut dalam menginduksi pertumbuhan sel osteoblast yang berperan dalam regenerasi tulang dan gigi.



## DAFTAR PUSTAKA

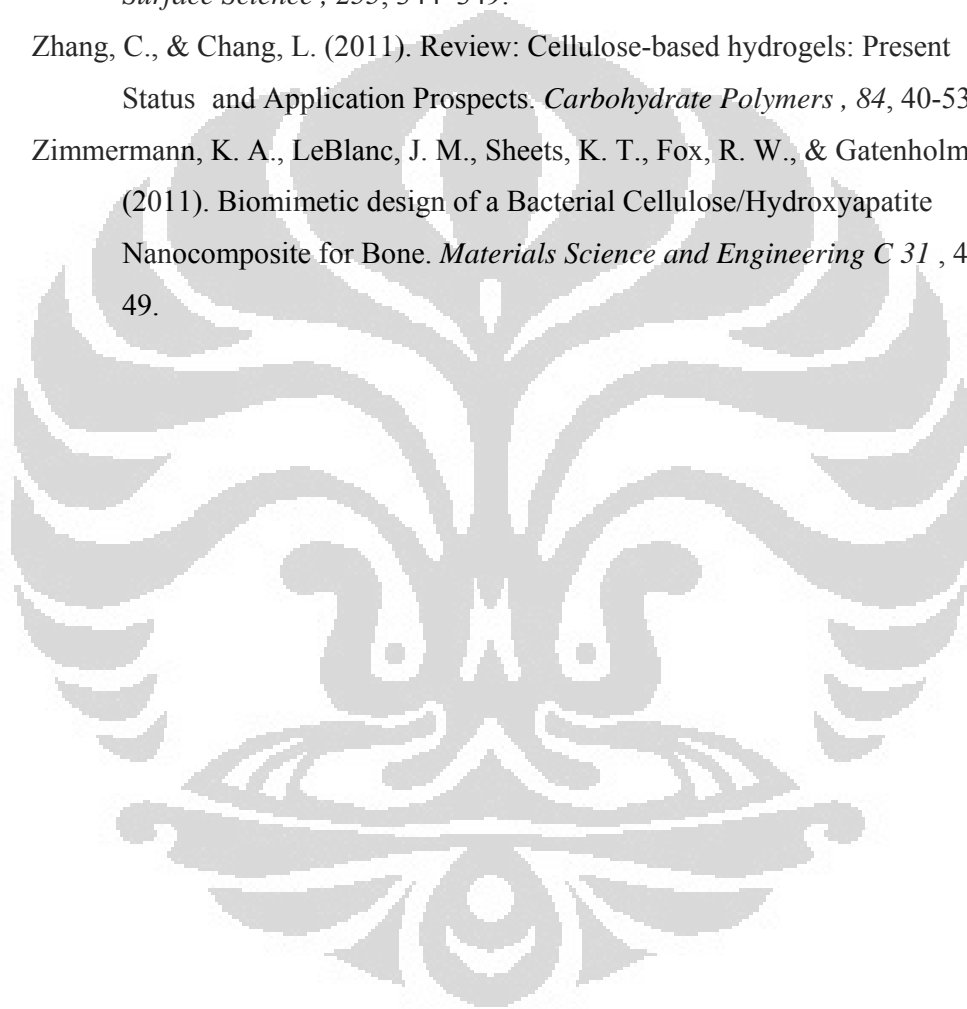
- Abbas, B., Pandansari, P., Anas, F., & Hilmy, N. (2005). Kegunaan Jaringan Biologi Steril Radiasi (Alograf & Xenograf) untuk Pemakaian Klinis. *Journal of Health Sciences Fatmawati* .
- Bodnar, M., Hartmann, J. F., & Borbe, J. (2005). Preparation and Characterization of Chitosan-Based. *Biomacromolecules* , 6, 2521-2527.
- Chiaoprakobkij, N., Sanchavanakit, N., Subbalekha, K., Pavasant, P., & Phisalaphong, M. (2011). Characterization and biocompatibility of bacterial cellulose/alginate composite sponges with human keratinocytes and gingival fibroblasts. *Carbohydrate Polymers* , 85, 548–553.
- Czaja, W. K., Young, D. J., & Kawec, M. (2007). Reviews: The Future Prospects of Microbial Cellulose in Biomedical Applications. *Biomacromolecules Vol. 8, No. 1* .
- Fajarsyah, R. (2010). Toksisitas *invitro* MTT test membran selulosa mikrobial. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Fernandes, E., M.P., G., & F.J., G. (1999). Calcium phosphate bone cements for clinical applications - Part I: Solution chemistry. *J. Mater. Sci. - Mater. Med.* , 10 (3), 169-176.
- Gkioni, K., Leeuwenburgh, S. C., Douglas, T. E., Mikos, A. G., & Jansen, J. A. (2010). Mineralization of Hydrogels for Bone Regeneration. *Tissue Engineering: Part B* , 16, Number 6.
- Goes, J., Figueiro, S., & Oliveira, A. (2007). Apatite Coating on Anionic and Native Collagen Films by an Alternate Soaking Process. *Acta Biomaterialia* , 3, 773–778.
- Huang, H. C., Chen, L. C., Lin, S. B., & Chen, H. H. (2011). Nano-biomaterials Application: In situ Modification of Bacterial Cellulose Structure by adding HPMC during Fermentation. *Carbohydrate Polymers* 83 , 979–987.
- Iguchi, M., Yamanaka, S., & Budhiono, A. (2000). Bacterial Cellulose—a Masterpiece of Nature's Arts. *Journal of Materials Science* , 35, No. 2, 261-270.



- Jonas, R., & F., Farah L. (1998). Production and Application of Microbial Cellulose. *Polym. Degrad. Stabil.* , 59, 101–106.
- Kawai, T., Ohtsuki, C., Kamita, M., Miyazaki, T., Tanihara, M., Sakaguchi, Y. (2004). Coating of an Apatite Layer on Polyamide Films Containing Sulfonic Groups by a Biomimetic Process. *Biomaterials* , 25, 4529–4534.
- Khusniya, T. (2009). *Efek Dosis dan Laju Dosis Radiasi Terhadap Karakteristik Membran Selulosa Bakteri Sebagai Membran GBR (Guided Bone Regeneration)*. Jakarta: Ilmu Kefarmasian, Universitas Pancasila.
- Macedo, N. L., Matuda, F. D., Macedo, L. G., Monteiro, A. S., Valera, M. C., & Carvalho, Y. R. (2004). Evaluation of Two Membranes in Guided Bone Tissue Regeneration: Histological Study in Rabbits. *Brazilian Journal Oral Science* , 3(8), 395 - 400.
- Magdalena Zaborowska, A. B. (2010). Microporous Bacterial Cellulose as a Potential Scaffold for Bone Regeneration. *Acta Biomaterialia* 6 , 2540–2547.
- Nge, T. T., Sugiyama, J., & Bulone, V. (2011). *Biomedical Engineering – Frontiers and Challenges: Chapter 18: Bacterial Cellulose-Based Biomimetic Composites*. (R. Fazel-Rezai, Ed.) Rijeka, Croatia: InTech.
- Novaes Jr., A. B., Novaes, A. B., Grisi, M. F., Soares, U. N., & Gabarra, F. (1993). Gengiflex an Alkali-Cellulose Membrane for GTR: Histologic Observations. *Brazilian Dental Journal* , 4(2), 65-71.
- Park, S., Baker, J. O., Himmel, M. E., Parilla, P. A., & Johnson, D. K. (2010). Cellulose Crystallinity Index: Measurement Techniques and Their Impact on Interpreting Cellulase Performance. *Biotechnology for Biofuels* 2010, 3:10, 1-10.
- Pavinatto, F. J., Caseli, L., & Oliveira, O. N. (2010). Chitosan in Nanostructured Thin Films. *Biomacromolecules* , 11, 1897–1908.
- Pillai, C., Paul, W., & Sharma, C. P. (2009). Chitin and Chitosan Polymers: Chemistry, Solubility and Fiber Formation. *Progress in Polymer Science* , 34, 641–678.

- Rivera-Muñoz, E. M. (2011). *Biomedical Engineering – Frontiers and Challenges: Chapter 4: Hydroxyapatite-Based Materials: Synthesis and Characterization*. (R. Fazel-Rezai, Ed.) Rijeka, Croatia: InTech.
- Ross, Mayer, & Benziman. (1991). Cellulose Biosynthesis and Function in Bacteria. *Microbiological Reviews*, 55 (1), 35-38.
- Salam, A., Pawlak, J. J., Venditti, R. A., & El-tahawy, K. (2010). Synthesis and Characterization of Starch Citrate-Chitosan Foam with Superior Water and Saline Absorbance Properties. *Biomacromolecules*, 11, 1453-1459.
- Schiffman, J. D., & Schauer, C. L. (2007). Cross-Linking Chitosan Nanofibers. *Biomacromolecules*, 8, 594-601.
- Shoda, M., & Sugano, Y. (2005). Recent Advances in Bacterial Cellulose Production. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 10, 1-8.
- Shu, X. Z., Zhu, K. J., & Song, W. (2001). Novel pH-Sensitive Citrate Cross-linked Chitosan Film for Drug Controlled Release. *International Journal of Pharmaceutics*, 212, 19-28.
- Song, J., Saiz, E., & Bertozz, C. R. (2003). A New Approach to Mineralization of Biocompatible Hydrogel Scaffolds: An Efficient Process toward 3-Dimensional Bonelike Composite. *J. American Chemical Society*, 125, 1236-1243.
- Strange, D. G., & Oyen, M. L. (2011). Biomimetic Bone-Like Composites Fabricated through an Automated Alternate Soaking Process. *Acta Biomaterialia*, 7, 3586–3594.
- Tampieri, A., Sprio, S., Sandri, M., & Valentini, F. (2011). Mimicking natural Bio-mineralization processes: A New Tool for Osteochondral Scaffold Development. *Trends in Biotechnology*, October 2011, Vol. 29, No. 10.
- Tas, A. C. (2000). Synthesis of Biomimetic Ca-Hydroxyapatite Powders at 37 °C in Simulated Body Fluid. *Biomaterials*, 21, 1429–1438.
- Wahyudi. (2003). *Memproduksi Nata de Coco*. Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan Direktorat Jendral Pendidikan Dasar dan Menengah Departemen Pendidikan Nasional.

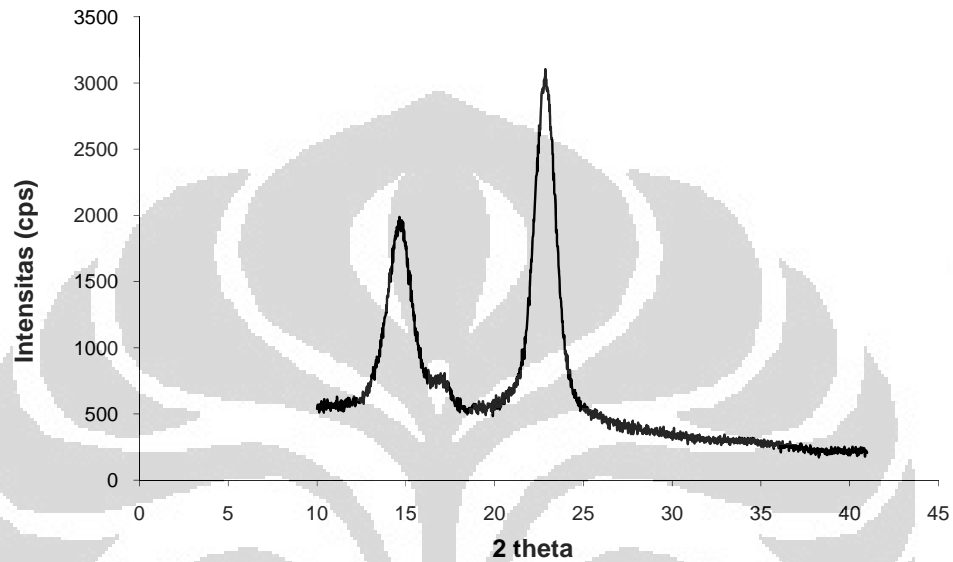
- Wahyukundari, & Aris, M. (2009). *www.pdgi-online.com*. Retrieved september 21, 2011, from Jurnal Ilmiah PDGI: [http://www.pdgi-online.com/v2/index.php?option=com\\_content&task=view&id=782](http://www.pdgi-online.com/v2/index.php?option=com_content&task=view&id=782)
- Watanabe, J., & Akashi, M. (2008). Integration Approach for Developing a High-Performance Biointerface: Sequential Formation of Hydroxyapatite and Calcium Carbonate by an Improved Alternate Soaking Process. *Applied Surface Science*, 255, 344–349.
- Zhang, C., & Chang, L. (2011). Review: Cellulose-based hydrogels: Present Status and Application Prospects. *Carbohydrate Polymers*, 84, 40-53.
- Zimmermann, K. A., LeBlanc, J. M., Sheets, K. T., Fox, R. W., & Gatenholm, P. (2011). Biomimetic design of a Bacterial Cellulose/Hydroxyapatite Nanocomposite for Bone. *Materials Science and Engineering C 31*, 43-49.



## Lampiran 1

### Hasil Analisa XRD

#### (a) Hasil Analisa XRD Kontrol selulosa bakteri

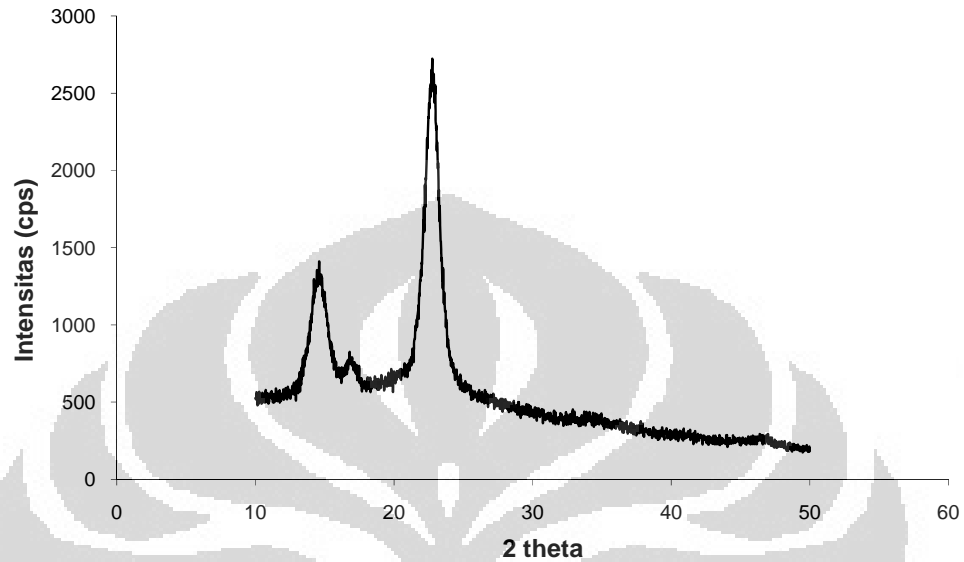


```
*** Basic Data Process ***
Group      : 0513
Data       : Kontrol

# Strongest 3 peaks
no. peak  2Theta      d      I/I1  FWHM      Intensity  Integrated Int
no.       (deg)        (A)    (deg)  (Counts)  (Counts)
1         5         22.8178  3.89415  100  1.44430   1702   135920
2         2         14.6265  6.05135   56  1.62960   951    61170
3         3         16.8800  5.24822   10  1.37720   162    15310

# Peak Data List
peak      2Theta      d      I/I1  FWHM      Intensity  Integrated Int
no.       (deg)        (A)    (deg)  (Counts)  (Counts)
1         11.9600     7.39384   3     6.32000   55     30536
2         14.6265     6.05135   56    1.62960   951    61170
3         16.8800     5.24822   10    1.37720   162    15310
4         20.5400     4.32056   5     1.20000   77     10847
5         22.8178     3.89415  100    1.44430  1702   135920
```

## (b) Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan SB10041



## \*\*\* Basic Data Process \*\*\*

Group : 0513  
Data : 1

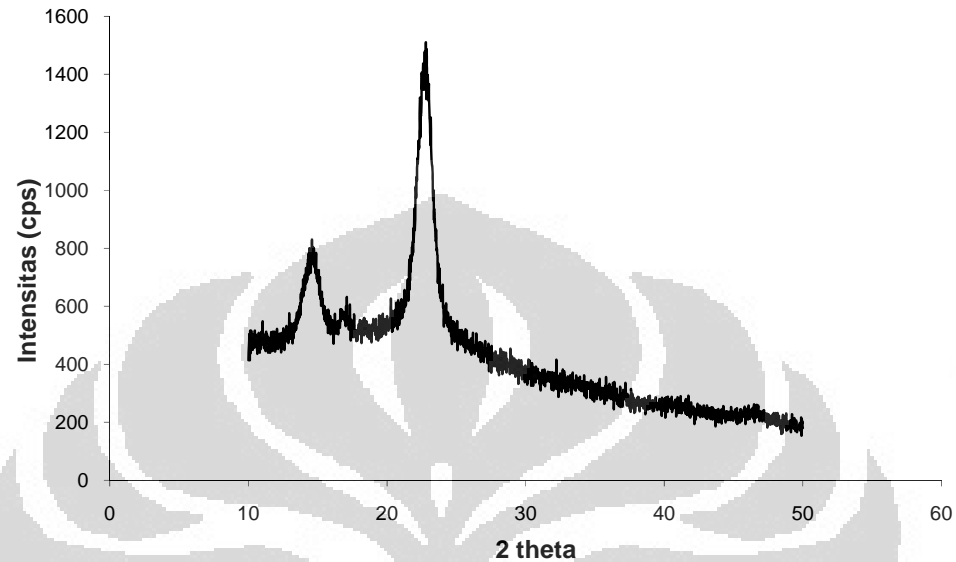
## # Strongest 3 peaks

no.	peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
1	4	22.7144	3.91164	100	1.27400	1375	92261
2	1	14.5712	6.07419	37	1.44750	515	42231
3	2	16.8400	5.26059	10	1.10660	132	9272

## # Peak Data List

peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
1	14.5712	6.07419	37	1.44750	515	42231
2	16.8400	5.26059	10	1.10660	132	9272
3	20.3600	4.35835	6	1.54000	77	12709
4	22.7144	3.91164	100	1.27400	1375	92261
5	25.0600	3.55058	4	1.13340	57	9193

## (c) Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan SB10042



```

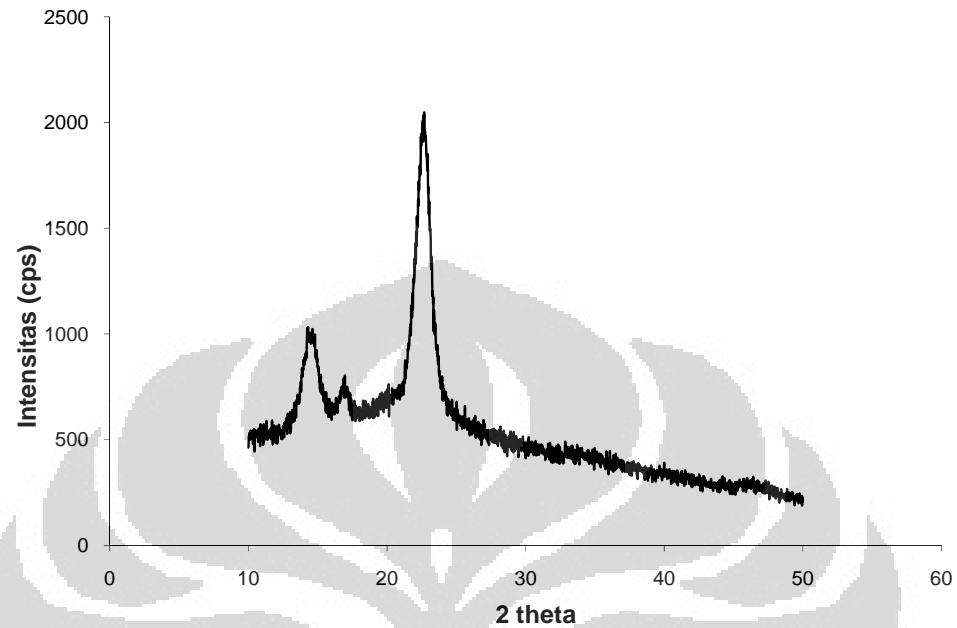
*** Basic Data Process ***
Group      : 0513
Data       : 2

# Strongest 3 peaks
no. peak  2Theta      d      I/I1    FWHM      Intensity  Integrated Int
no.      (deg)         (A)                    (deg)      (Counts)   (Counts)
1  11      22.7013      3.91387  100     1.34270    643       52770
2  6       14.5225      6.09445   31     1.44500    201       15016
3  7       16.8900      5.24513   9      1.06000    57        3256

# Peak Data List
peak      2Theta      d      I/I1    FWHM      Intensity  Integrated Int
no.      (deg)         (A)                    (deg)      (Counts)   (Counts)
1         8.5600      10.32150  3      1.52000    19        1806
2         9.5400      9.26330  5      0.00000    29         0
3        10.2000      8.66535  5      0.00000    32         0
4        10.9200      8.09557  5      1.16000    30       2286
5        12.8600      6.87834  5      0.60000    29       1371
6        14.5225      6.09445  31     1.44500    201      15016
7        16.8900      5.24513  9      1.06000    57       3256
8        18.2800      4.84931  4      0.92000    27       1114
9        19.6400      4.51647  5      1.88000    33       2931
10       20.6000      4.30811  8      0.00000    51         0
11       22.7013      3.91387  100    1.34270    643      52770
12       25.2600      3.52291  5      0.00000    33         0
13       26.1400      3.40628  3      1.94000    21       2255
14       46.4800      1.95219  3      1.00000    20       1828

```

## (d) Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan SB10043



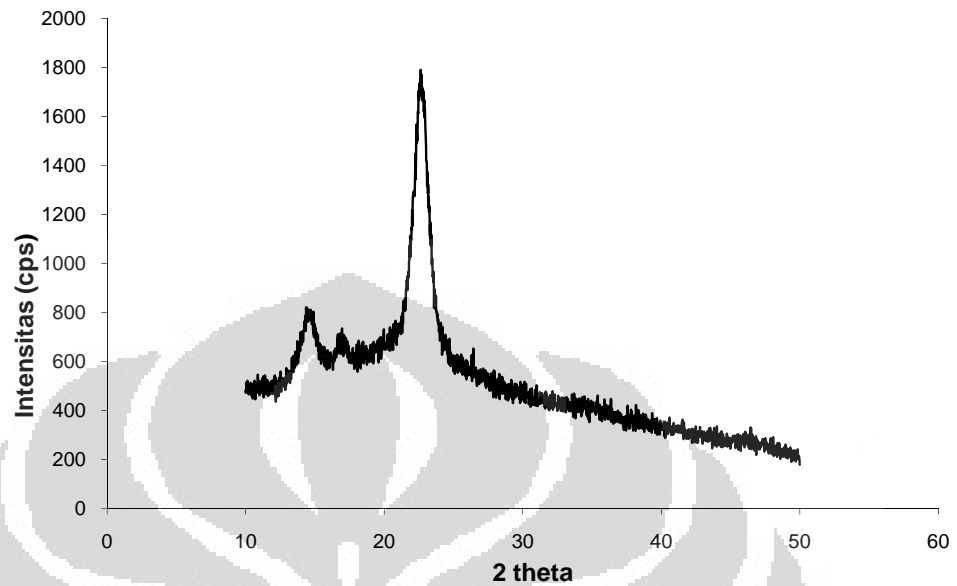
\*\*\* Basic Data Process \*\*\*

Group : 0513  
Data : 3

# Strongest 3 peaks							
no.	peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
1	9	22.5873	3.93336	100	1.30180	940	75052
2	4	14.4683	6.11716	32	1.37670	304	20886
3	5	16.8166	5.26786	12	1.15330	113	8509

# Peak Data List							
peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)	
1	9.4800	9.32180	4	2.28000	35	2506	
2	10.4400	8.45668	3	2.48800	28	2523	
3	13.0800	6.76314	5	0.76000	44	2555	
4	14.4683	6.11716	32	1.37670	304	20886	
5	16.8166	5.26786	12	1.15330	113	8509	
6	18.5600	4.77678	4	0.00000	42	0	
7	19.7800	4.48482	8	1.32000	72	5912	
8	20.5400	4.32056	10	0.00000	92	0	
9	22.5873	3.93336	100	1.30180	940	75052	
10	24.9200	3.57020	5	0.00000	50	0	
11	25.5400	3.48492	4	1.64000	37	3646	

## (e) Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan SB10044



## \*\*\* Basic Data Process \*\*\*

Group : 0513  
Data : 4

## # Strongest 3 peaks

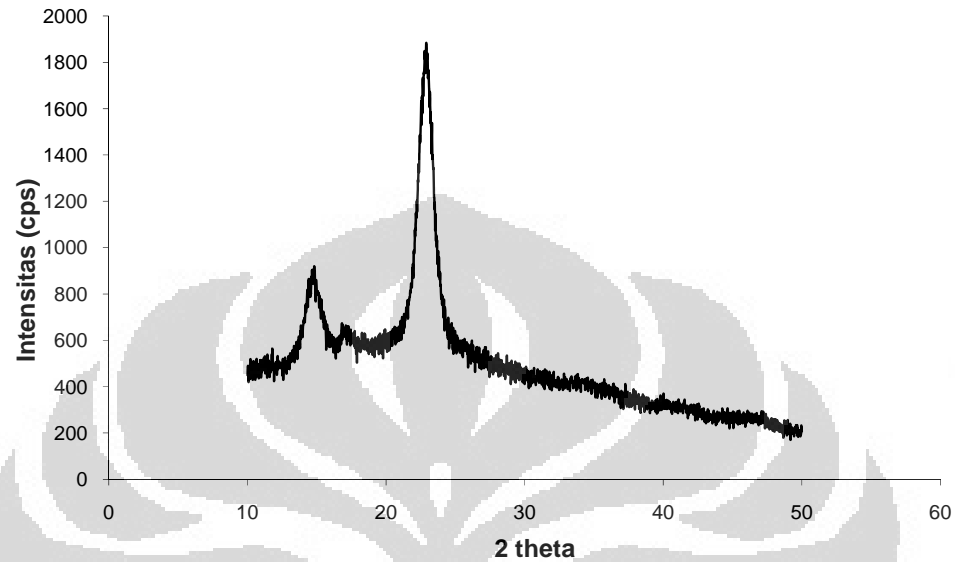
no. peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)	
1	7	22.6423	3.92393	100	1.32120	787	61639
2	3	14.5080	6.10051	22	1.33600	176	13484
3	4	16.9325	5.23206	11	1.14500	89	6671

## # Peak Data List

peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
1	9.3600	9.44104	3	1.36000	25	1432
2	10.0200	8.82061	3	1.52000	24	1864
3	14.5080	6.10051	22	1.33600	176	13484
4	16.9325	5.23206	11	1.14500	89	6671
5	18.3400	4.83358	6	0.00000	45	0
6	19.6400	4.51647	8	0.00000	63	0
7	22.6423	3.92393	100	1.32120	787	61639
8	24.4400	3.63922	10	1.04000	79	6930
9	25.2600	3.52291	5	0.00000	43	0
10	26.2000	3.39861	4	1.20000	34	3396



## (f) Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan SB10531



\*\*\* Basic Data Process \*\*\*

Group : 0513  
Data : 6

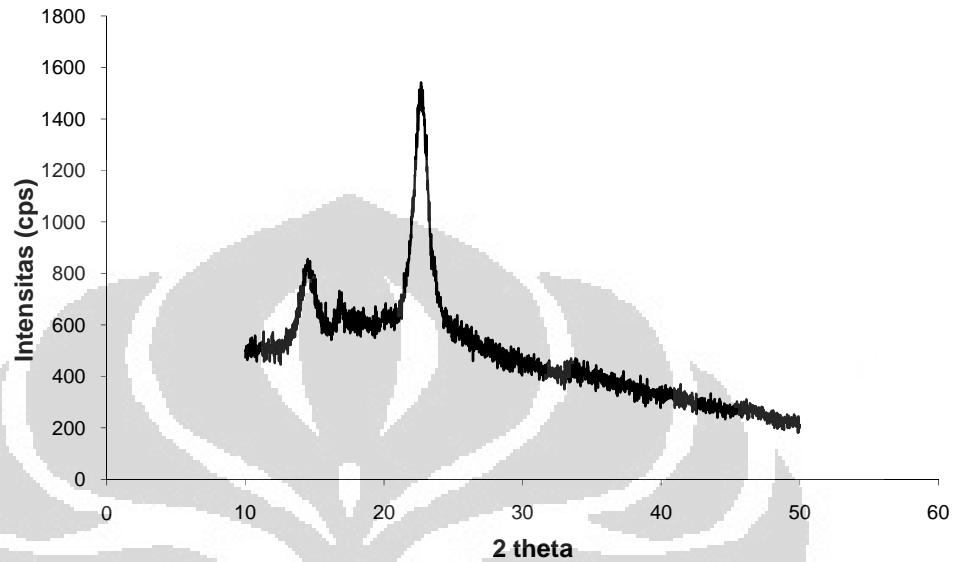
# Strongest 3 peaks

no.	peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
1	8	22.8531	3.88821	100	1.32040	858	67555
2	4	14.7350	6.00703	28	1.40000	242	17176
3	5	17.0966	5.18221	9	1.19330	78	5611

# Peak Data List

peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
1	8.9400	9.88361	3	0.88000	26	1947
2	11.1900	7.90083	3	0.98000	29	2204
3	13.2600	6.67173	3	0.60000	30	1444
4	14.7350	6.00703	28	1.40000	242	17176
5	17.0966	5.18221	9	1.19330	78	5611
6	18.3400	4.83358	4	0.00000	36	0
7	19.8800	4.46249	4	0.00000	37	0
8	22.8531	3.88821	100	1.32040	858	67555
9	25.9200	3.43469	5	1.52000	40	7134

## (g) Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan SB10532



## \*\*\* Basic Data Process \*\*\*

Group : 0513  
Data : 7

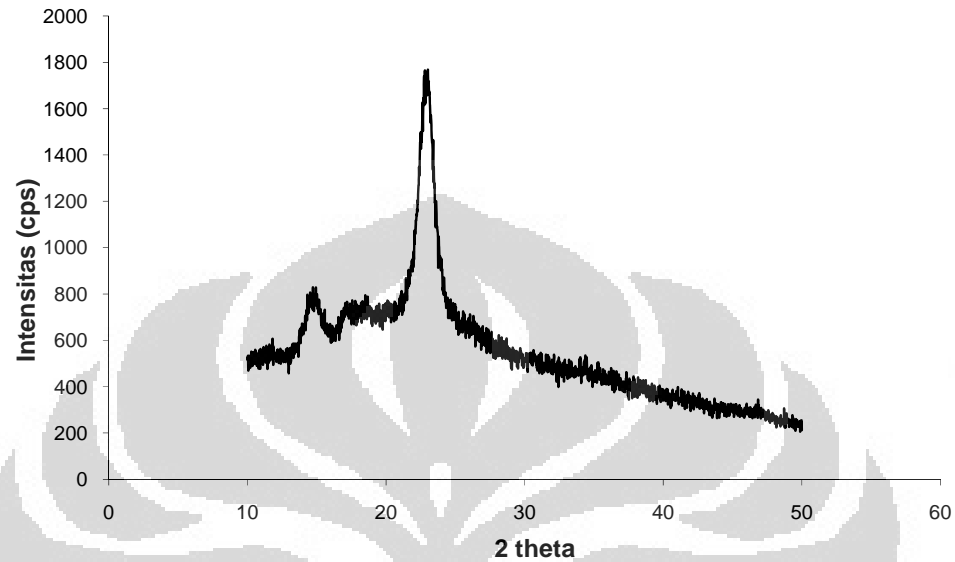
## # Strongest 3 peaks

no. peak	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)	
1	10	22.6446	3.92354	100	1.25730	635	47824
2	6	14.5300	6.09132	31	1.32000	199	14715
3	7	16.8750	5.24976	13	0.93000	84	6240

## # Peak Data List

peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
1	8.4400	10.46798	3	0.66000	21	1244
2	8.9400	9.88361	4	0.00000	25	0
3	9.6400	9.16744	5	0.00000	34	0
4	10.2800	8.59809	5	1.74000	32	2282
5	11.9200	7.41856	3	0.76000	21	989
6	14.5300	6.09132	31	1.32000	199	14715
7	16.8750	5.24976	13	0.93000	84	6240
8	18.3800	4.82315	8	0.00000	48	0
9	20.2000	4.39251	8	0.00000	53	0
10	22.6446	3.92354	100	1.25730	635	47824
11	25.3800	3.50653	7	1.56000	45	6095
12	26.5400	3.35584	3	0.93340	21	1569
13	34.0300	2.63241	3	1.34000	21	2341

## (h) Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri-sitrat-kitosan SB10533



```

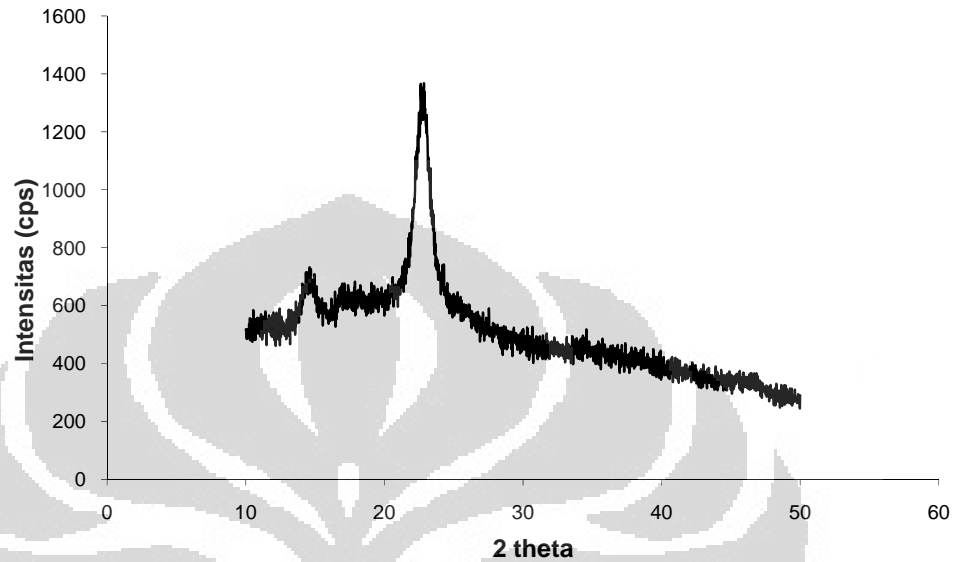
*** Basic Data Process ***
Group      : 0513
Data      : 8

# Strongest 3 peaks
no. peak  2Theta      d      I/I1  FWHM      Intensity  Integrated Int
          (deg)    (Å)      20    (deg)    (Counts)  (Counts)
1         8      22.9025   3.87994 100    1.37310   742      65059
2         4      14.7293   6.00934  20    1.39470   146      11152
3         5      17.1200   5.17518  13    0.97340   94       8095

# Peak Data List
peak      2Theta      d      I/I1  FWHM      Intensity  Integrated Int
no.      (deg)    (Å)      20    (deg)    (Counts)  (Counts)
1         9.0800    9.73153   4     2.58000   31       3380
2        10.2000   8.66535   5     0.00000   35        0
3        11.2000   7.89380   4     1.90660   30       3026
4        14.7293   6.00934   20    1.39470   146      11152
5        17.1200   5.17518   13    0.97340   94       8095
6        18.4600   4.80243   13    0.00000   93        0
7        20.2600   4.37964   11    0.00000   78        0
8        22.9025   3.87994   100   1.37310   742      65059
9        24.9000   3.57303   10    0.00000   77        0
10       26.2200   3.39607   7     0.00000   51        0
11       26.8600   3.31658   4     1.16000   32       2625

```

## (i) Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri kitosan SB10534



## \*\*\* Basic Data Process \*\*\*

Group : 0513  
Data : 9

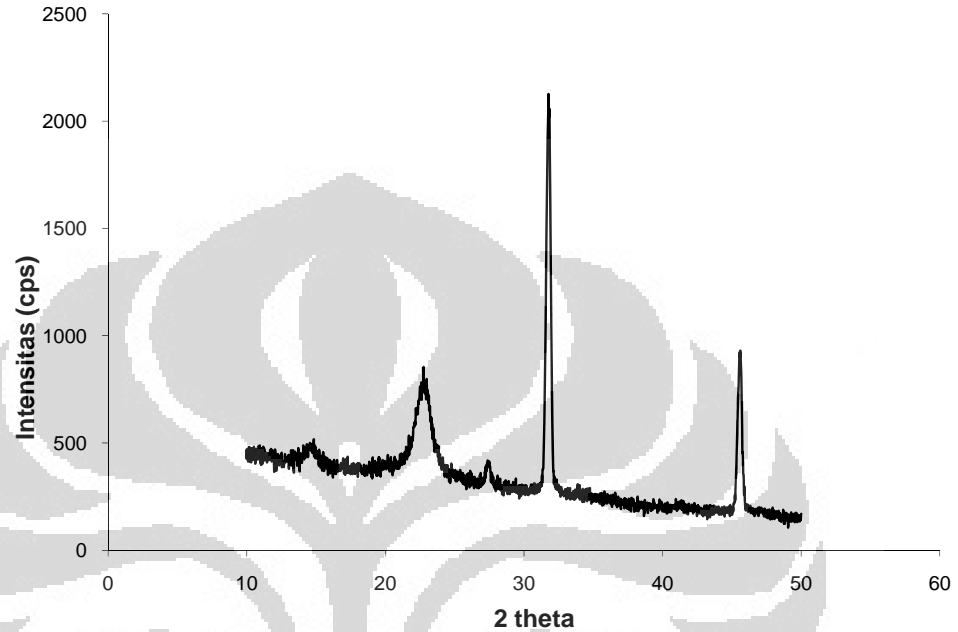
## # Strongest 3 peaks

no. peak	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)	
1	12	22.7461	3.90626	100	1.34110	511	36459
2	6	14.5650	6.07676	21	1.17000	109	7925
3	13	24.2000	3.67477	19	1.04000	96	7073

## # Peak Data List

peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
1	7.5600	11.68438	3	0.40000	15	500
2	8.5000	10.39422	7	1.00000	34	2279
3	9.4000	9.40095	8	0.00000	41	0
4	10.6800	8.27695	7	2.52000	38	4798
5	12.6200	7.00860	3	0.00000	17	0
6	14.5650	6.07676	21	1.17000	109	7925
7	17.0400	5.19930	12	1.10660	59	4647
8	18.1000	4.89713	10	0.00000	52	0
9	19.1400	4.63331	8	0.00000	40	0
10	19.7800	4.48482	9	0.00000	44	0
11	20.6600	4.29574	11	0.00000	56	0
12	22.7461	3.90626	100	1.34110	511	36459
13	24.2000	3.67477	19	1.04000	96	7073
14	25.1400	3.53946	10	0.00000	51	0
15	25.8000	3.45039	9	1.50000	44	3335
16	27.7800	3.20880	3	0.68000	15	982
17	34.4600	2.60054	4	0.64000	18	924
18	45.6600	1.98532	3	0.48000	15	520
19	46.5150	1.95080	4	1.07000	19	989

- (j) Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri kitosan SB10042/ hidroksiapatit dengan metoda perendaman dalam larutan SBF selama 24 jam



\*\*\* Basic Data Process \*\*\*

Group : 0526  
Data : 10-0\_1Hr

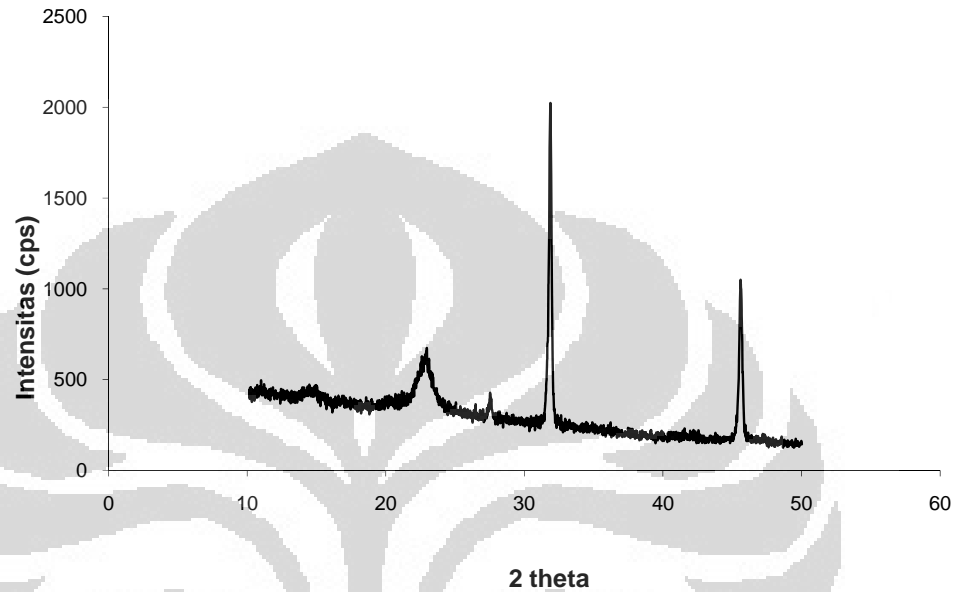
# Strongest 3 peaks

no.	peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
1	6	31.7431	2.81664	100	0.37870	1213	24752
2	7	45.5360	1.99044	43	0.34800	522	9859
3	3	22.7400	3.90730	22	1.20000	262	10803

# Peak Data List

peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I1	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
1	14.6000	6.06227	4	0.88000	51	3098
2	21.4800	4.13356	3	0.32000	36	1315
3	22.7400	3.90730	22	1.20000	262	10803
4	23.7200	3.74804	6	0.34220	73	1877
5	27.4026	3.25213	6	0.38130	73	1704
6	31.7431	2.81664	100	0.37870	1213	24752
7	45.5360	1.99044	43	0.34800	522	9859

- (k) Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri kitosan SB10532/ hidroksiapatit dengan metoda perendaman dalam larutan SBF selama 24 jam



```

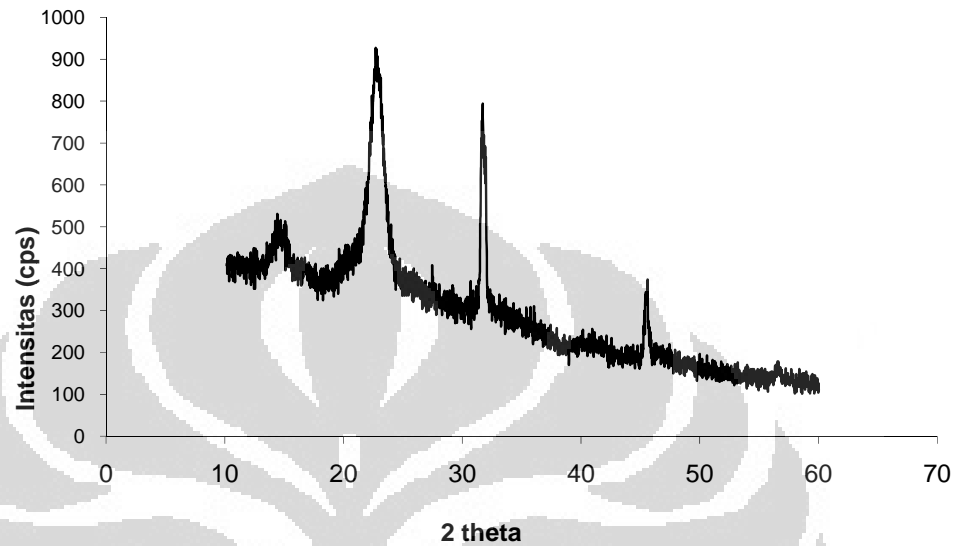
*** Basic Data Process ***
Group      : 0526
Data       : 10-5_1Hr

# Strongest 3 peaks
no. peak   2Theta      d          I/I1      FWHM      Intensity   Integrated Int
no.        (deg)          (Å)                (deg)      (Counts)   (Counts)
1          5          31.8432     2.80802   100       0.20910    1214      14220
2          6          45.5769     1.98874   55        0.21680    665       8633
3          3          22.9000     3.88036   14        0.68000    171       4000

# Peak Data List
peak      2Theta      d          I/I1      FWHM      Intensity   Integrated Int
no.       (deg)          (Å)                (deg)      (Counts)   (Counts)
1         14.4640     6.11896    3         0.39200    36         960
2         14.8709     5.95244    3         0.39530    40         1137
3         22.9000     3.88036    14        0.68000    171        4000
4         27.5222     3.23827    7         0.19860    86         1115
5         31.8432     2.80802    100       0.20910    1214      14220
6         45.5769     1.98874    55        0.21680    665       8633

```

- (l) Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri kitosan SB10042/hidroksiapatit dengan metoda perendaman dalam larutan SBF selama 7 hari



```

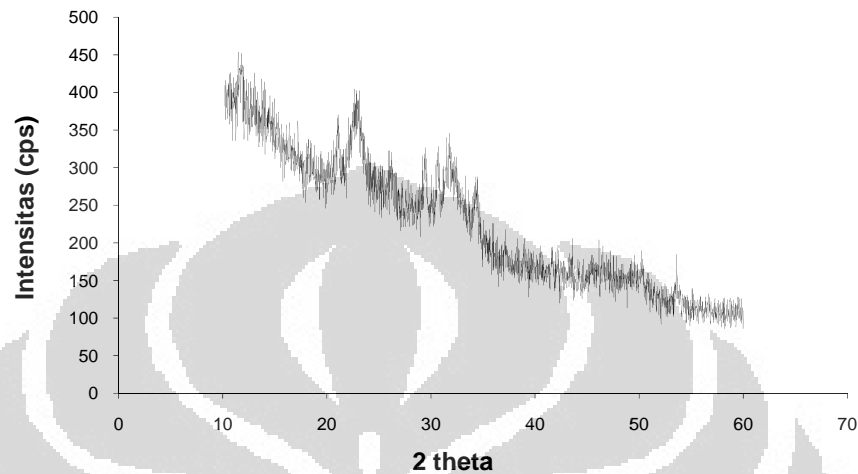
*** Basic Data Process ***
Group      : 0526
Data       : SP

# Strongest 3 peaks
no. peak   2Theta      d          I/I1      FWHM      Intensity   Integrated Int
no.        (deg)          (A)        (deg)     (Counts)   (Counts)
1          5          22.7677    3.90260   100        1.42890    357        27346
2          9          31.7318    2.81762   74         0.56640    263        8555
3         13         45.4841    1.99259   23         0.57830    83         2424

# Peak Data List
peak       2Theta      d          I/I1      FWHM      Intensity   Integrated Int
no.        (deg)          (A)        (deg)     (Counts)   (Counts)
1          14.6600     6.03759    19        1.45340    67         5900
2          16.7600     5.28552    5         0.72000    17         844
3          19.9000     4.45805    9         0.94660    32         2153
4          20.5400     4.32056    11        0.00000    41         0
5          22.7677     3.90260    100       1.42890    357        27346
6          24.0200     3.70190    18        0.70660    63         3153
7          25.5600     3.48224    6         1.52000    20         1779
8          27.4833     3.24276    3         0.40670    12         270
9          31.7318     2.81762    74        0.56640    263        8555
10         33.4000     2.68060    4         0.00000    14         0
11         41.1250     2.19316    4         0.91000    15         942
12         41.8000     2.15929    4         0.34000    13         262
13         45.4841     1.99259    23        0.57830    83         2424
14         46.5666     1.94876    4         0.90670    14         608
15         47.3400     1.91871    3         0.60000    12         370
16         56.4900     1.62771    6         0.56000    21         819

```

- (m) Hasil analisa XRD komposit selulosa bakteri kitosan SB10042/hidroksiapatit dengan metoda perendaman  $\text{CaCl}_2$  0,2 M dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,12 M secara bergantian



```

*** Basic Data Process ***
Group      : 0526
Data       : SP_10-0

# Strongest 3 peaks
no. peak  2Theta      d      I/I1    FWHM      Intensity  Integrated Int
no.       (deg)        (Å)    (deg)    (Counts)  (Counts)
1  12      22.8266      3.89267  100     1.29330    68      4907
2  18      32.0100      2.79376   85     1.70000    58      3610
3  20      34.2400      2.61674   65     0.72000    44      1571

# Peak Data List
peak      2Theta      d      I/I1    FWHM      Intensity  Integrated Int
no.       (deg)        (Å)    (deg)    (Counts)  (Counts)
1  10.4300    8.47477    13     0.34000    9        266
2  11.7333    7.53618    49     0.66670   33       1218
3  12.9966    6.80635    25     0.51330   17        474
4  13.7500    6.43506    15     0.50000   10        281
5  14.5100    6.09967    21     0.50000   14        439
6  15.2600    5.80153     6     0.00000    4         0
7  16.5400    5.35533     6     0.04000    4         26
8  18.4100    4.81536    10     0.14000    7        135
9  19.4800    4.55321     7     0.08000    5         51
10 20.3600    4.35835    13     0.26000    9        125
11 21.0700    4.21306    43     0.64000   29        956
12 22.8266    3.89267   100     1.29330   68       4907
13 24.4600    3.63629    12     0.00000    8         0
14 26.1850    3.40053    35     0.73000   24       1321
15 27.9000    3.19527     9     0.20000    6         88
16 29.4000    3.03557    53     0.64000   36       1161
17 30.6200    2.91735    53     0.62660   36       1175
18 32.0100    2.79376    85     1.70000   58       3610
19 33.0000    2.71218    47     1.20000   32       1511
20 34.2400    2.61674    65     0.72000   44       1571
21 35.3200    2.53916    13     0.24000    9        169
22 35.6400    2.51709     9     0.04000    6         29
23 35.9300    2.49744     7     0.10000    5         74
24 37.0900    2.42195    13     0.38000    9        221
25 38.3350    2.34611     6     0.11000    4         46
26 38.8700    2.31504     7     0.06000    5         48
27 39.8200    2.26197     4     0.08000    3         20
28 40.4800    2.22660     4     0.12000    3         35
29 41.8300    2.15781    12     0.30000    8        253
30 43.3550    2.08538    13     0.41000    9        195
31 44.2100    2.04701     3     0.06000    2         20
32 45.1800    2.00529    18     0.20000   12        269
33 46.6450    1.94566    24     0.73000   16       1022
34 48.3800    1.87986    16     0.36000   11        389
35 49.2800    1.84762    19     0.28000   13        301
36 50.1350    1.81809    29     0.79000   20        736
37 50.8000    1.79584    10     0.40000    7        180
38 53.5500    1.70992    26     0.58000   18        536
39 54.4000    1.68520     7     0.08000    5         57
40 55.6700    1.64972     7     0.06000    5         43
41 56.5700    1.62559     6     0.30000    4         93
42 58.7000    1.57158     4     0.04000    3         18
43 59.6700    1.54833     3     0.30000    2         48

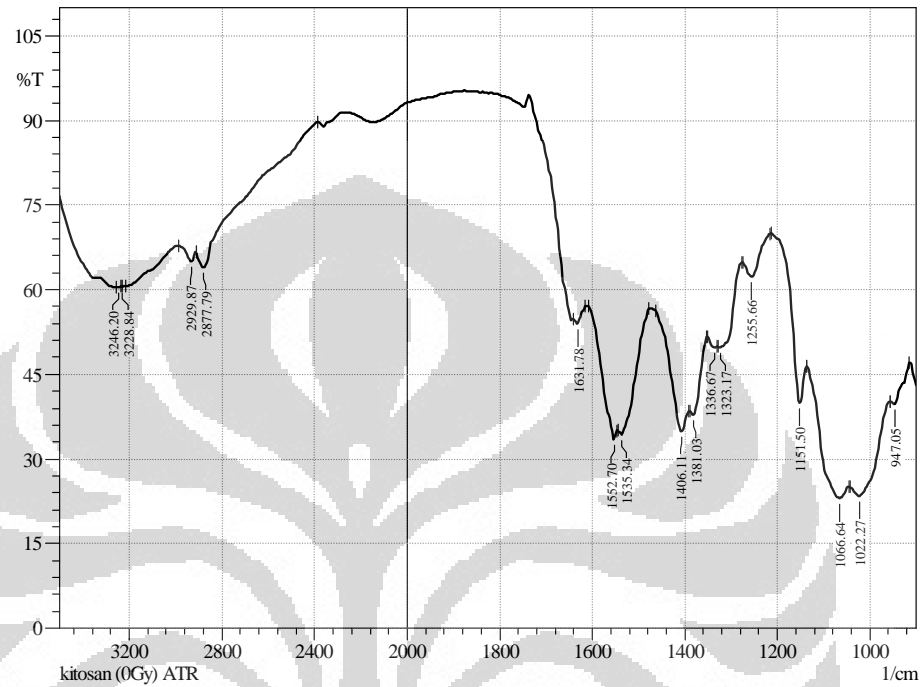
```



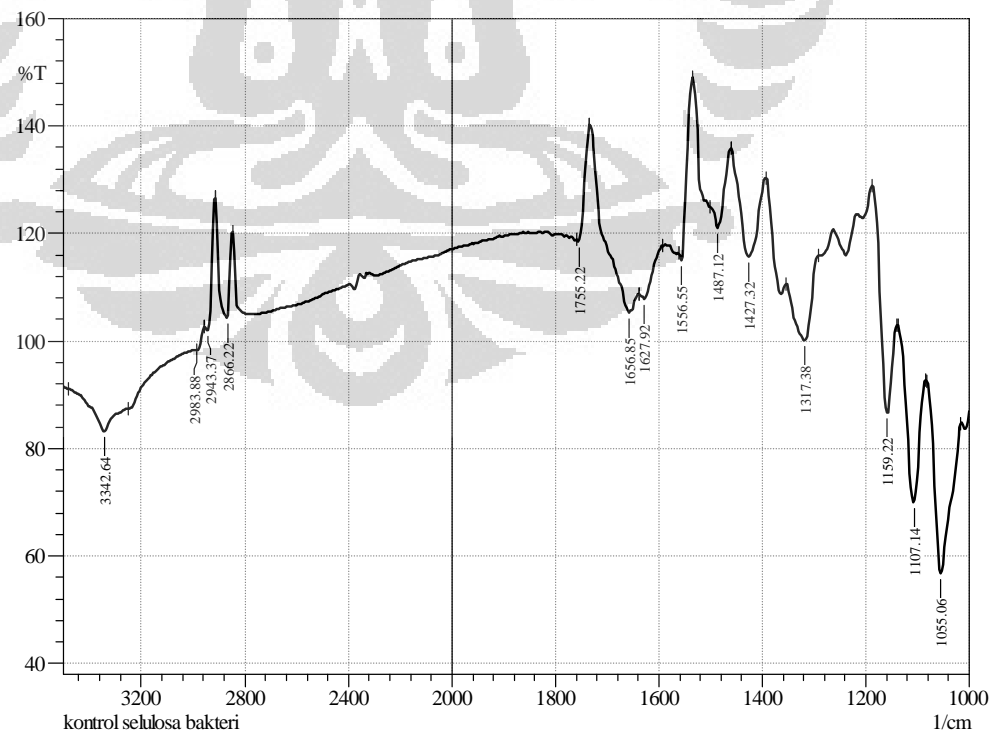
## Lampiran 2

### Hasil Analisa FTIR

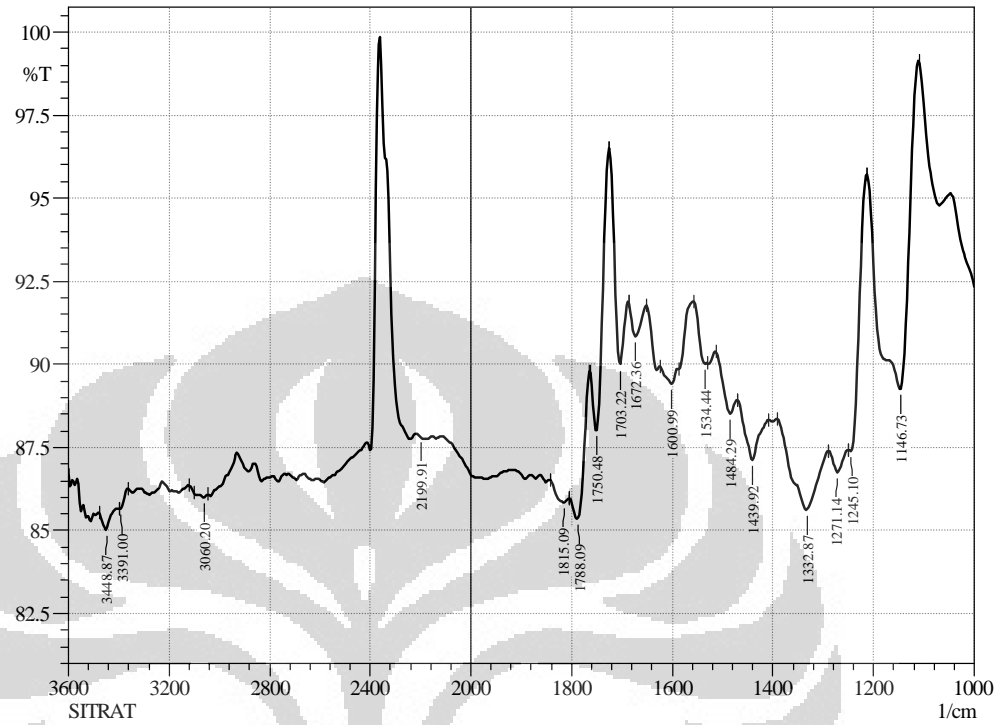
#### (a) Spektrum FTIR kontrol kitosan



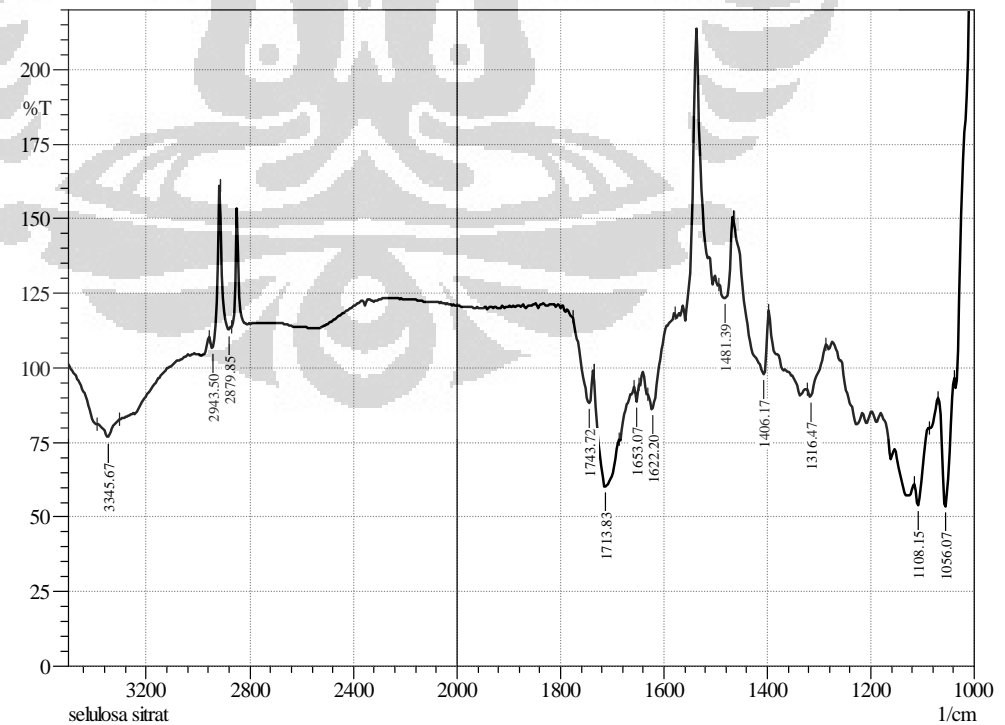
#### (b) Spektrum FTIR kontrol selulosa bakteri



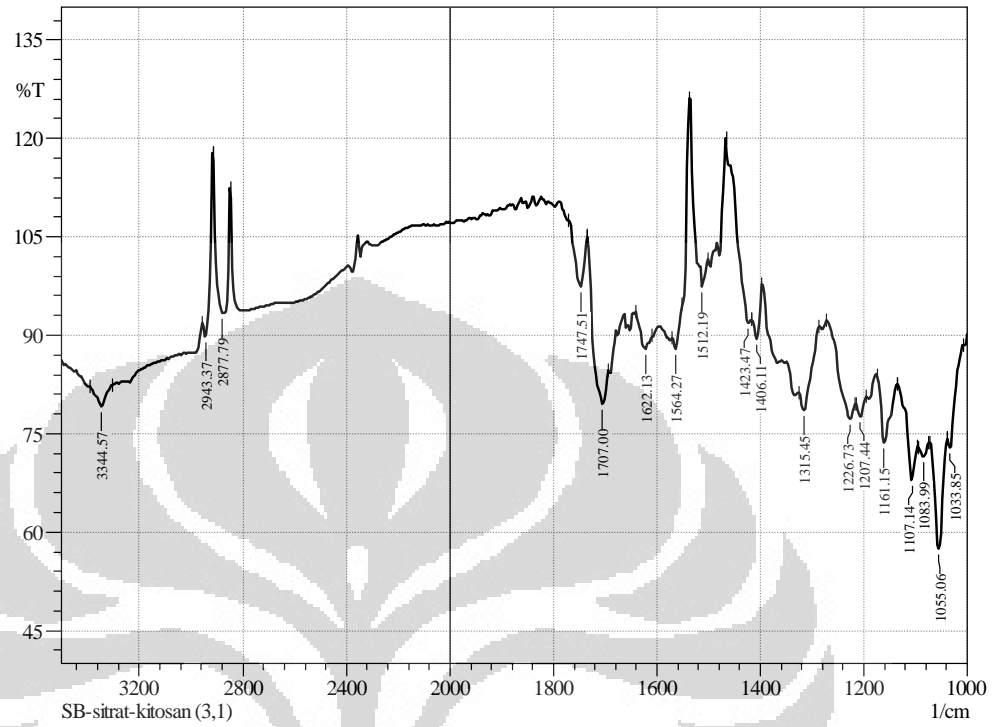
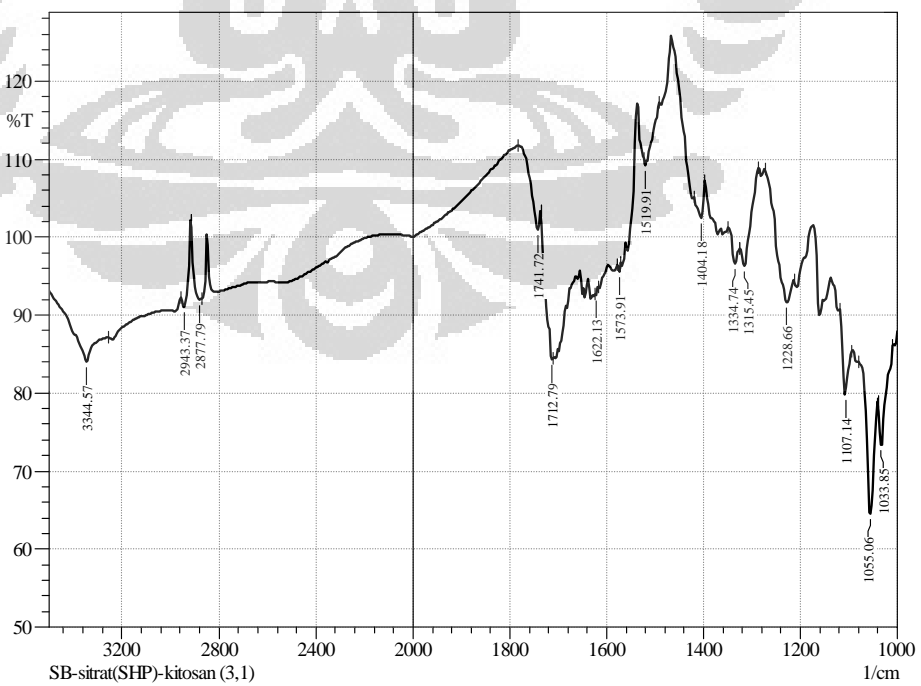
(c) Spektrum FTIR kontrol asam sitrat



(d) Spektrum FTIR selulosa bakteri-sitrat



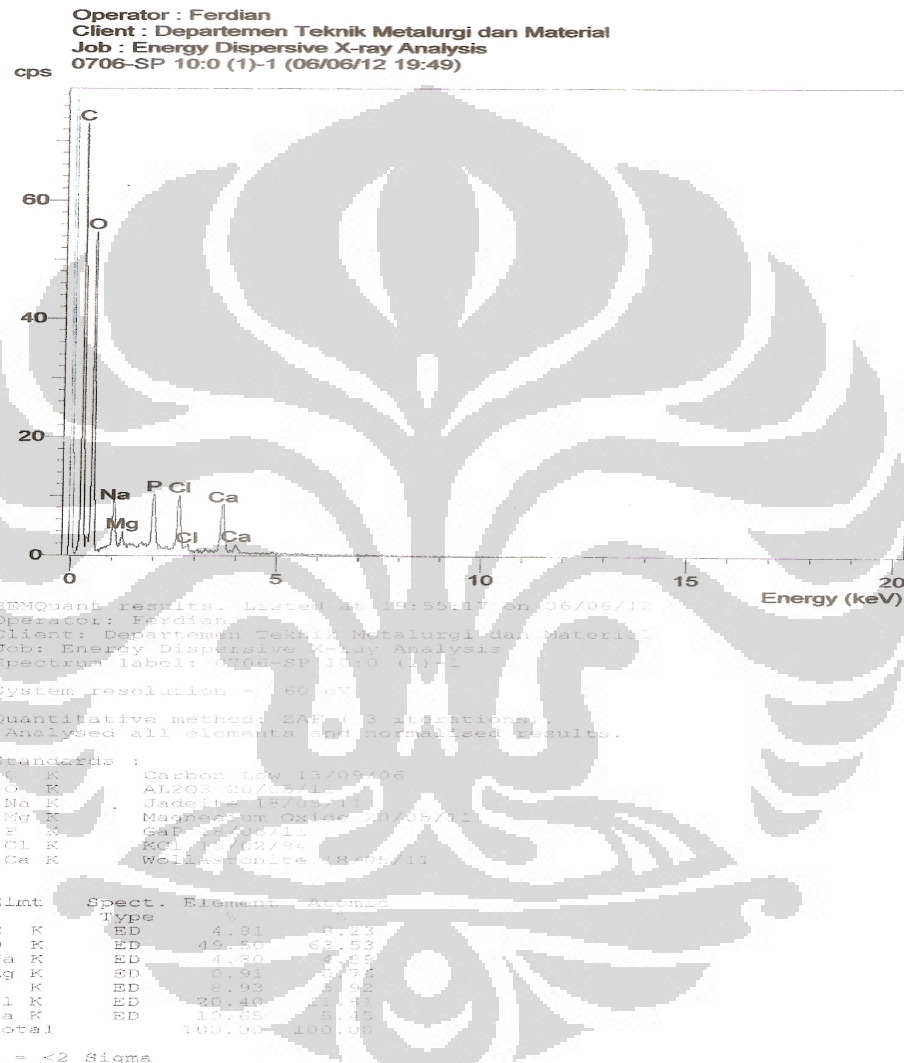
(e) Spektrum FTIR selulosa bakteri-sitrat-kitosan

(f) Spektrum FTIR selulosa bakteri-sitrat-kitosan (dengan penambahan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )

### Lampiran 3

#### Hasil Analisa EDX

- (a) **Spektrum EDX komposit selulosa bakteri kitosan SB10042/  
hidroksiapatit dengan metoda perendaman dalam larutan SBF  
selama 7 hari**



- (b) **Spektrum EDX komposit selulosa bakteri kitosan SB10042/  
hidroksiapatit dengan metoda perendaman  $\text{CaCl}_2$  0,2 M dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$   
0,12 M secara bergantian**

