

TUGAS AKHIR – TL184834

**EFEK RASIO KOMPOSISI *BONE GRAFT* BERBASIS
HIDROKSIAPATIT/KITOSAN/PMMA PADA SIFAT MEKANIK
DAN BIOKOMPATIBILITAS *SCAFFOLD***

YULINDARIKA NUR ANGGRAINI
NRP. 0251184000046

Dosen Pembimbing
Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D.Eng.
NIP. 197907242005012003
Sungging Pintowantoro, S.T., M.T. Ph.D.Eng.
NIP. 196809302000031001

Program Studi Teknik Material
Departemen Teknik Material dan Metalurgi
Fakultas Teknologi Industri dan Rekayasa Sistem
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya
2022



TUGAS AKHIR – TL184834

**EFEK RASIO KOMPOSISI *BONE GRAFT* BERBASIS
HIDROKSIAPATIT/KITOSAN/PMMA PADA SIFAT MEKANIK
DAN BIOKOMPATIBILITAS *SCAFFOLD***

YULINDARIKA NUR ANGGRAINI
NRP. 0251184000046

Dosen Pembimbing
Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D.Eng.
NIP. 197907242005012003
Sungging Pintowantoro, S.T., M.T. Ph.D.Eng.
NIP. 196809302000031001

Program Studi Teknik Material
Departemen Teknik Material dan Metalurgi
Fakultas Teknologi Industri dan Rekayasa Sistem
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya
2022

(Halaman ini sengaja dikosongkan)



FINAL PROJECT – TL184834

**EFFECTS OF HYDROXYAPATITE/CHITOSAN/PMMA
BASED BONE GRAFT COMPOSITION RATIO ON
SCAFFOLD'S MECHANICAL PROPERTIES AND
BIOCOMPATIBILITY**

YULINDARIKA NUR ANGGRAINI
NRP. 0251184000046

Advisor

Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D.Eng.

NIP. 197907242005012003

Sungging Pintowantoro, S.T., M.T. Ph.D.Eng.

NIP. 196809302000031001

Study Program of Materials Engineering

Departement of Materials and Metallurgical Engineering

Faculty of Industrial Technology and Systems Engineering

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Surabaya

2022

(This page is intentionally blank)

LEMBAR PENGESAHAN

EFEK RASIO KOMPOSISI *BONE GRAFT* BERBASIS HIDROKSIAPATIT/KITOSAN/PMMA PADA SIFAT MEKANIK DAN BIOKOMPATIBILITAS *SCAFFOLD*

TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar Sarjana Teknik pada
Program Studi S-1 Teknik Material
Departemen Teknik Material dan Metalurgi
Fakultas Teknologi Industri dan Rekayasa Sistem
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh : YULINDARIKA NUR ANGGRAINI
NRP. 0251184000046

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D.Eng

Pembimbing

2. Sungging Pintowantoro, S.T., M.T., Ph.D.Eng.

Ko-Pembimbing

3. Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc.

Penguji

4. Hariyati Purwaningsih, S.Si., M.Si

Penguji



SURABAYA
Juli, 2022

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

APPROVAL SHEET

EFFECTS OF HYDROXYAPATITE/CHITOSAN/PMMA BASED BONE GRAFT COMPOSITION RATIO ON SCAFFOLD'S MECHANICAL PROPERTIES AND BIOCOMPATIBILITY

FINAL PROJECT

Submitted to fulfill one of the requirements
for obtaining a degree of bachelor of engineering at
Undergraduate Study Program of Materials Engineering
Departement of Materials and Metallurgical Engineering
Faculty of Industrial Technology and Systems Engineering
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

By : YULINDARIKA NUR ANGGRAINI
NRP. 0251184000046

Approved by Final Project Examiner Team :

1. Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D.Eng.
2. Sungging Pintowantoro, S.T., M.T., Ph.D.Eng.
3. Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc.
4. Hariyati Purwaningsih, S.Si., M.Si.

Advisor



Co-Advisor

Examiner



Examiner



SURABAYA
July, 2022

(This page is intentionally blank)

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

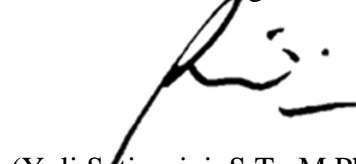
Nama mahasiswa/NRP : Yulindarika Nur Anggraini/02511840000046
Departemen : Teknik Material dan Metalurgi FTIRS-ITS
Dosen Pembimbing/NIP : Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D.Eng./
197907242005012003

Dengan ini menyatakan bahwa Tugas Akhir dengan judul “EFEK RASIO KOMPOSISI *BONE GRAFT* BERBASIS HIDROKSIAPATIT/KITOSAN/PMMA PADA SIFAT MEKANIK DAN BOKOMPATIBILITAS *SCAFFOLD*” adalah hasil karya sendiri, bersifat orisinal, dan ditulis dengan mengikuti kaidah penulisan ilmiah.

Bilamana di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan yang berlaku di Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Surabaya, 24 Juli 2022

Mengetahui
Dosen Pembimbing



(Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D.Eng.)
NIP.197907242005012003

Mahasiswa



(Yulindarika Nur Anggraini)
NRP.02511840000046

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

STATEMENT OF ORIGINALITY

The undersigned below:

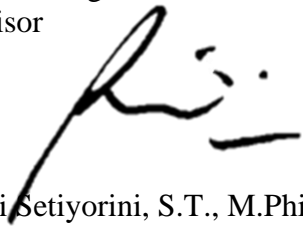
Name of student/NRP : Yulindarika Nur Anggraini/0251184000046
Departement : Materials and Metallurgical Engineering FTIRS-ITS
Advisor/NIP : Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D.Eng/
197907242005012003

Hereby declare that the Final Project with the title of “EFFECTS OF HYDROXYAPATITE/CHITOSAN/PMMA BASED BONE GRAFT COMPOSITION RATIO ON SCAFFOLD’S MECHANICAL PROPERTIES AND BIOCOMPATIBILITY” is the result of my own work, is original, and is written by following the rules of scientific writing.


If in the future there is a discrepancy with this statement, then I am willing to accept sanctions in accordance with the provisions that apply at Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Surabaya, 24 Juli 2022

Acknowledged
Advisor


(Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D.Eng.)
NIP. 197907242005012003

Student


(Yulindarika Nur Anggraini)
NRP.0251184000046

(This page is intentionally blank)

**EFEK RASIO KOMPOSISI *BONE GRAFT* BERBASIS
HIDROKSIAPATIT/KITOSAN/PMMA PADA SIFAT MEKANIK DAN
BIOKOMPATIBILITAS *SCAFFOLD***

Nama Mahasiswa / NRP : Yulindarika Nur Anggraini/02511840000046
Departemen : Teknik Material dan Metalurgi FTIRS-ITS
Dosen Pembimbing : Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D.Eng.
Ko-Pembimbing : Sungging Pintowantoro, S.T., M.T., Ph.D.Eng.

Abstrak

Scaffold bone graft adalah struktur biomaterial 3 dimensi yang digunakan sebagai salah satu solusi rekonstruksi cacat tulang. Material yang dipilih pada penelitian ini adalah hidroksiapatit (HAp) yang diperoleh dari sintesis tulang sapi menggunakan bantuan *microwave*, oligokitosan (Cs) dan *poly(methyl methacrylate)* (PMMA). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek rasio komposisi terhadap sifat mekanik dan biokompatibilitas *scaffold*. Metode yang digunakan untuk fabrikasi *scaffold* adalah *solvent casting/particulate leaching* (SCPL) dengan menggunakan NaCl sebagai porogen dan glutaraldehid sebagai *crosslinker*. Variasi rasio komposisi untuk HAp:Cs:PMMA yaitu, 68:2:30; 66:4:30 dan 64:6:30. Pengujian yang dilakukan berupa analisis morfologi menggunakan stereo mikroskop yang menunjukkan terbentuknya *interconnected porous* yang baik. Hasil analisis FTIR pada *scaffold* yang berhasil difabrikasi didapat gugus fungsi yaitu *peak O-H stretching* pada 3550 sampai 3050 cm^{-1} , kemudian *C-H stretching* pada 2961, 2916 dan 2848 cm^{-1} , *C=O stretching* pada 1688 cm^{-1} , amida I pada 1653 cm^{-1} , amida II pada 1517 cm^{-1} , amida III pada 1369 cm^{-1} , *C-N stretching* pada 1096 cm^{-1} , *C=N/imine bond* pada 1542 cm^{-1} . Kemudian gugus karbonat, fosfat dan hidroksil pada 1411 dan 1467 cm^{-1} ; 1015 cm^{-1} dan 711 cm^{-1} . Perhitungan menggunakan *liquid displacement test* menunjukkan nilai porositas tertinggi terdapat pada sampel Cs6HAp64 yaitu 87,92%, pengujian anti bakteri mendapatkan zona hambat terbesar pada sampel Cs6HAp64 yaitu sebesar 13,67 mm, porositas dan sifat anti bakteri dipengaruhi oleh penambahan kandungan kitosan yang bervariasi. Penambahan hidroksiapatit dan PMMA berpengaruh pada sifat mekanik yaitu nilai kuat tekan tertinggi pada sampel Cs2HAp68 sebesar 30,35 MPa dan terendah pada sampel Cs6HAp64 sebesar 10,16 MPa. Pengujian MTT Assay menunjukkan hasil viabilitas sel tertinggi pada sampel Cs6HAp64 sebesar 75,77% angka ini masuk dalam kategori *slightly cytotoxic*.

Kata Kunci: *Hidroksiapatit, Kitosan, PMMA, Scaffold Bone Graft, Solvent Casting/Particulate Leaching*

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

EFFECTS OF HYDROXYAPATITE/CHITOSAN/PMMA BASED BONE GRAFT COMPOSITION RATIO ON SCAFFOLD'S MECHANICAL PROPERTIES AND BIOCOMPATIBILITY

Student Name / NRP : Yulindarika Nur Anggraini/0251184000046
Departement : Materials and Metallurgical Engineering FTIRS-ITS
Advisor : Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D.Eng
Co-Advisor : Sungging Pintowantoro, S.T., M.T., Ph.D.Eng.

Abstarct

Scaffold bone graft is a 3-dimensional biomaterial structure that is used for the reconstruction of bone defects. The material selected in this study were hydroxyapatite (HAp) which was obtained from the synthesis of bovine bone using microwave, oligochitosan (Cs) and poly(methyl methacrylate) (PMMA). This study aims to analyze the effect of the composition ratio on the mechanical properties and biocompatibility of the scaffold. The method used for the scaffold fabrication is solvent casting/particulate leaching (SCPL) using NaCl as a porogen and glutaraldehyde as a crosslinker. The composition ratio for HAp:Cs:PMMA were, 68:2:30; 66:4:30 and 64:6:30. The tests carried out were in the form of morphological analysis using a stereo microscope which showed good interconnected porous formation. The results of the FTIR analysis on the successfully fabricated scaffold obtained functional groups, namely peak O-H stretching at 3550 to 3050 cm^{-1} , then C-H stretching at 2961, 2916 and 2848 cm^{-1} , C=O stretching at 1688 cm^{-1} , amide I at 1653 cm^{-1} , amide II at 1517 cm^{-1} , amide III at 1369 cm^{-1} , C-N stretching at 1096 cm^{-1} , C=N/imine bond at 1542 cm^{-1} . Then the carbonate, phosphate and hydroxyl groups at 1411 and 1467 cm^{-1} ; 1015 cm^{-1} and 711 cm^{-1} . Calculations using the liquid displacement test showed that the highest porosity value was found in the Cs6HAp64 sample, which was 87.92%, the antibacterial test got the largest inhibition zone in the Cs6HAp64 sample, which was 13.67 mm, the porosity and antibacterial properties were influenced by the addition of varying concentrations of chitosan. The addition of hydroxyapatite and PMMA has an effect on the mechanical properties, namely the highest compressive strength value in the Cs2HAp68 sample of 30.35 MPa and the lowest in the Cs6HAp64 sample of 10.16 MPa. The MTT Assay test showed the highest cell viability results in the Cs6HAp64 sample of 75.77%, this number was in the slightly cytotoxic category.

Keywords: *Hydroxyapatite, Chitosan, PMMA, Scaffold Bone Graft, Solvent Casting/Particulate Leaching*

(This page is intentionally blank)

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, Puji dan Syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat, inayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian Tugas Akhir dengan judul “Efek Rasio Komposisi *Bone Graft* Berbasis Hidroksiapatit/Kitosan/PMMA Pada Sifat Mekanik dan Biokompatibilitas *Scaffold*”. terselesaikannya Laporan Tugas Akhir ini tidak luput dari dukungan, bantuan, motivasi serta partisipasi dari semua pihak, untuk itu penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D.Eng. dan Bapak Sungging Pintowantoro, S.T., M.T., Ph.D.Eng. selaku dosen pembimbing Tugas Akhir atas segala ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama pelaksanaan Tugas Akhir hingga penyusunan Laporan Tugas Akhir.
2. Bapak Sigit Tri Wicaksono S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Kepala Departemen Teknik Material dan Metalurgi FTIRS-ITS.
3. Bapak Wikan Jatimurti, S.T., M.Sc. selaku dosen wali penulis yang senantiasa memberikan arahan selama masa perkuliahan.
4. Bapak/Ibu Dosen yang telah membimbing dan memberikan banyak ilmu kepada penulis.
5. Orang tua, keluarga, dan teman dekat penulis yang selalu memberikan dukungan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa penyusunan laporan ini masih jauh dari kesempurnaan. Untuk itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca. Semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi penulis dan semua pihak terkait.

Surabaya, 2 Juli 2022
Penulis

Yulindarika Nur Anggaraini

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR ISI

Abstrak	xiii
Abstarct	xv
KATA PENGANTAR	xvii
DAFTAR ISI	xix
DAFTAR GAMBAR	xxi
DAFTAR TABEL	xxiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian	2
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tulang Femur	5
2.2 Scaffold	6
2.3 Hidroksiapatit (HAp)	10
2.4 Kitosan	11
2.4.1 Kitosan Oligosakarida (COs)	12
2.5 <i>Poly(methyl methacrylate)</i> (PMMA)	14
2.6 <i>Crosslinking</i>	16
2.7 <i>State of The Art</i>	17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1 Diagram Alir	21
3.2 Metode Penelitian	22
3.2.1 Preparasi <i>Scaffold</i>	23
3.3 Alat dan Bahan	23
3.3.1 Alat Penelitian	23
3.3.2 Bahan Penelitian	24
3.4 Pengujian	24
3.4.1 Pengujian Morfologi	24
3.4.2 Pengujian Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)	25
3.4.3 Pengujian Anti Bakteri	26
3.4.4 Pengujian <i>Liquid Displacement</i>	28
3.4.5 Pengujian <i>Compressive Strength</i>	28
3.4.6 MTT Assay	28
3.5 Rancangan Penelitian	30
3.6 Jadwal Penelitian	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Hasil	33
4.1.1 Hasil Pengujian <i>Morfologi</i>	33
4.1.2 Hasil Pengamatan Gugus Fungsi	34
4.1.3 Hasil Pengujian Anti Bakteri	37
4.1.4 Hasil Perhitungan Porositas dengan <i>Liquid Displacement Test</i>	38
4.1.5 Hasil Pengujian <i>Compressive Strength</i>	39
4.1.6 Hasil Pengujian MTT Assay	40
4.2 Pembahasan	41
4.2.1 Efek Rasio Komposisi <i>Bone Graft</i> Berbasis Hap/Cs/PMMA pada Sifat Mekanik <i>Scaffold</i>	41

4.2.2	Efek Rasio Komposisi <i>Bone Graft</i> Berbasis Hap/Cs/PMMA pada Biokompatibilitas <i>Scaffold</i>	43
4.2.3	Perbandingan Karakteristik Bone Graft yang Sudah difabrikasi dengan Bone Graft Penelitian Lain	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		47
5.1	Kesimpulan	47
5.2	Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....		49
LAMPIRAN.....		55
UCAPAN TERIMA KASIH		65
BIODATA PENULIS.....		67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tulang femur.....	5
Gambar 2. 2 Proses penyembuhan pada fraktur	6
Gambar 2. 3 Strategi <i>bone tissue engineering</i>	7
Gambar 2. 4 Metode <i>solvent casting/particulate leaching</i>	10
Gambar 2. 5 Struktur kristal hidroksiapatit.....	10
Gambar 2. 6 Metode pembuatan kitosan oligosakarida (COs).	13
Gambar 2. 7 Relativitas struktural COs dari kitin dan kitosan.	14
Gambar 2. 8 <i>Chemical composition and properties of methyl methacrylate</i>	15
Gambar 2. 9 <i>Chemical composition and properties of PMMA</i>	15
Gambar 2. 10 Struktur kimia glutaraldehid.	17
Gambar 2. 11 Ikatan kovalen antara glutaraldehid dengan gugus amina.	17
Gambar 3. 1 Diagram alir fabrikasi <i>scaffold</i>	22
Gambar 3. 2 Mikroskop stereo.....	25
Gambar 3. 3 Prinsip kerja FTIR.....	25
Gambar 3. 4 Prosedur Pengujian Anti bakteri	27
Gambar 3. 5 Cara menghitung diameter zona hambat untuk anti bakteri.....	27
Gambar 4. 1 Hasil <i>stereo microscope scaffold bone graft</i> tampak <i>cross section</i> variasi (a) Cs2HAp68 (b) Cs4HAp66 (c) Cs6HAp64	33
Gambar 4. 2 Hasil <i>stereo microscope scaffold bone graft</i> tampak atas variasi (a) Cs2HAp68 (b) Cs4HAp66 (c) Cs6HAp64.....	33
Gambar 4. 3 Hasil <i>stereo microscope scaffold bone graft</i> tampak samping variasi (a) Cs2HAp68 (b) Cs4HAp66 (c) Cs6HAp64.....	33
Gambar 4. 4 Hasil pengujian FTIR bahan baku dan <i>scaffold</i> yang berhasil difabrikasi	36
Gambar 4. 5 Hasil pengujian anti bakteri secara visual dari 3 kali repetisi (a) Cs2HAp68 (b) Cs4HAp66 (c) Cs6HAp64.....	37
Gambar 4. 6 Pengaruh kandungan kitosan dalam <i>scaffold bone graft</i> pada nilai zona hambat dengan 3 kali repetisi.....	38
Gambar 4. 7 Efek penambahan kitosan pada nilai porositas <i>scaffold bone graft</i>	39

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Sifat mekanik dari tulang kompak manusia.....	6
Tabel 2. 2 Perbandingan produk <i>scaffold</i>	7
Tabel 2. 3 Parameter desain <i>scaffold</i> untuk rekayasa jaringan tulang diberikan.	8
Tabel 2. 4 Perbandingan metode fabrikasi scaffold.....	8
Tabel 2. 5 Karakteristik dasar dari hidroksiapatit.	11
Tabel 2. 6 Aplikasi kitin dan kitosan.	12
Tabel 2. 7 Sifat fisik dan kimia PMMA.....	15
Tabel 2. 8 Kelebihan dan kekurangan metode pengikat silang.	16
Tabel 2. 9 Penelitian Sebelumnya.....	17
Tabel 3. 1 Kategori diameter zona hambat untuk anti bakteri.....	27
Tabel 3. 2 Kategori sifat toxic material ditinjau dari persentase sel yang hidup pada uji MTT	30
Tabel 3. 3 Rancangan penelitian.....	30
Tabel 3. 4 Variabel penelitian.....	30
Tabel 3. 5 Jadwal penelitian.....	31
Tabel 4. 1 Nilai <i>optical density</i> (OD) yang diperoleh dari pengujian MTT Assay	40
Tabel 4. 2 Perbandingan karakteristik <i>bone graft</i>	44

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kecelakaan lalu lintas merupakan masalah yang sangat serius di Indonesia. Pada tahun 2020, polisi melaporkan sekitar 100.028 kecelakaan lalu lintas yang mengakibatkan 23.529 kematian dan 10.751 luka berat (Jusuf et al., 2017). Banyaknya kecelakaan di Indonesia membuat kebutuhan produk dan alat kesehatan semakin meningkat. Peningkatan tersebut tidak diimbangi dengan pemasukan pembiayaan untuk pengeluaran BPJS Kesehatan sehingga mengalami defisit sekitar Rp 6,36 triliun disampaikan oleh Ali dalam rapat bersama Komisi Kesehatan DPR di Jakarta 17 Maret 2021. Salah satu penyebabnya yaitu alat dan produk kesehatan yang masih impor yaitu lebih dari 90%. Saat ini, Amerika Serikat menyumbang 48,6% dari pendapatan pasar global untuk solusi rekayasa jaringan dan merupakan negara terkemuka yang mendedikasikan 60% dari pengeluaran rekayasa jaringan global untuk penelitian dan pengembangan (Liu et al., 2013). Oleh karena itu diperlukan kemandirian dalam penyediaan alat kesehatan dan material medis (biomaterial) di Indonesia yang berkualitas namun tetap bisa dijangkau oleh semua kalangan.

Patah tulang atau dalam bahasa medis disebut fraktur adalah kondisi dimana tulang terputus, baik sebagian maupun komplit. Fraktur tulang merupakan salah satu cedera yang paling sering terjadi pada sistem muskuloskeletal (Daish et al., 2018). Menurut Departemen Kesehatan RI pada tahun 2011, dari banyaknya kasus fraktur di Indonesia, fraktur pada ekstremitas bawah akibat kecelakaan memiliki prevalensi yang paling tinggi diantara fraktur yang lainnya yaitu sekitar 46,2%. Dari 45.987 orang dengan kasus fraktur ekstremitas bawah akibat kecelakaan, 19.629 orang mengalami fraktur pada tulang femur (Noorisa et al., 2017). Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan tahun 2018, di Indonesia tercatat angka kejadian fraktur atau patah tulang sebanyak 5,5% (*Laporan Nasional Riskesdas 2018*, 2019). Femur adalah tulang terbesar dalam tubuh manusia, umumnya dikenal sebagai tulang paha, dimulai dari pinggul hingga lutut. Fraktur femur umumnya memerlukan perbaikan bedah diikuti oleh beberapa minggu rehabilitasi dan terapi fisik.

Patah tulang dapat menimbulkan rasa sakit yang berkepanjangan karena menjalar pada tulang, otot, dan sendi yang berada di dekat fraktur, juga menimbulkan masalah pergerakan dan dapat mempengaruhi kualitas tidur juga *mood* sehingga terkadang orang yang mengalami patah tulang akan merasa depresi (Setiadiputri, 2018). Untuk menangani masalah yang ditimbulkan akibat patah tulang, diperlukan adanya pencangkokan tulang (*bone graft*). Tulang merupakan jaringan yang paling banyak ditransplantasikan kedua di dunia (Liu et al., 2013). *Bone graft* adalah prosedur pembedahan yang menggunakan transplantasi jaringan tulang dan implan untuk memperbaiki dan membangun kembali tulang yang rusak akibat penyakit maupun kecelakaan yaitu dengan mentransfer sel-sel tulang dari donor ke penerima. Cangkok bisa diperoleh dari tubuh pasien itu sendiri, pengganti buatan maupun alami (Fesseha & Fesseha, 2020).

Salah satu jenis *bone graft* yang sering digunakan adalah *scaffold*. *Scaffold* adalah struktur biomaterial 3 dimensi yang digunakan untuk rekonstruksi cacat tulang (Tariverdian et al., 2019), *scaffold* harus memungkinkan sel menghasilkan jaringan spesifik dengan bentuk, ukuran dan fungsionalitas yang diinginkan, serta mampu merangsang perlekatan dan proliferasi sel *osteoinducible* pada permukaannya (Ghassemi et al., 2018; Prasad et al., 2017). Terdapat beberapa metode fabrikasi *scaffold* antara lain, *solvent casting/particulate leaching*, *freeze drying*, *electrospinning*, *gas foaming*, *thermal-induced phase separation* dan lainnya (Collins et al., 2021; Thavornnyutikarn et al., 2014).

Telah diketahui bahwa cara yang baik untuk meningkatkan sifat biologis *scaffold* adalah memasukkan komponen bioaktif lainnya ke dalam komposisi. HAp sebagai komponen tulang adalah pilihan yang baik dengan sifat biokompatibel, tidak beracun, dapat diserap kembali, kemampuan osteokonduktif dan osteoinduktif baik, serta memiliki struktur yang mirip dengan mineral tulang (Tihan et al., 2009). Akan tetapi HAp memiliki sifat mekanik yang rendah. HAp pada penelitian ini diperoleh dari hasil sintesis tulang sapi bagian femur dengan bantuan gelombang mikro. Sintering menggunakan *microwave* mempunyai kelebihan yaitu produk yang disintesis memiliki kristalinitas tinggi, distribusi diameter yang sempit, ukuran serta morfologinya dapat dikontrol dengan baik, proses sintesisnya cepat, biaya energi rendah, namun sulit untuk sintesis skala besar (Hong et al., 2010).

Selain itu digunakan juga kitosan, kitosan merupakan polimer alam yang paling melimpah setelah selulosa dan satu-satunya polisakarida linier kationik (Kazemi-Aghdam et al., 2021). Kitosan merupakan produk deasetilasi kitin, yang dapat diperoleh dari eksoskeleton udang, lobster, kepiting dan sebagainya (Ma et al., 2021). Kitosan banyak digunakan sebagai biomaterial karena biokompatibilitasnya, kemampuan *biodegradable*, sifat anti bakteri, non antigenisitas, respon anti-inflamasi dan kemampuan antimikroba yang melekat telah menjadikannya salah satu polisakarida yang paling menarik untuk aplikasi biomedis.

Polimer yang digunakan pada aplikasi biomedis tidak selamanya memiliki sifat *biodegradable*, salah satunya adalah *Poly(methyl methacrylate)*. PMMA adalah polimer sintesis ringan yang digunakan untuk aplikasi dengan kekuatan yang tidak terlalu tinggi. PMMA lebih mudah diproses dengan harga lebih murah daripada polikarbonat. PMMA memiliki sifat mekanik yang bagus dan toksisitas rendah. PMMA digunakan dalam aplikasi biomaterial seperti semen tulang, lensa, pengganti tulang, dan sistem penghantaran obat.

Dalam penelitian ini *scaffold* dibuat dengan campuran tiga bahan yang telah dijelaskan yaitu hidroksiapatit, kitosan oligosakarida dan PMMA, menggunakan metode fabrikasi *solvent casting/particulate leaching* dengan NaCl sebagai porogennya dan glutaraldehid (GTA) sebagai agen *cross-linking*nya. Kemudian *scaffold* dilakukan enam pengujian yaitu uji FTIR, analisis morfologi menggunakan *stereo microscope*, uji *Liquid Displacement*, uji anti bakteri, MTT Assay dan uji *Compressive Strength* untuk mengetahui sifat dari *scaffold* yang sudah dibuat.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian latar belakang diatas, maka dapat ditentukan rumusan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana efek rasio komposisi *bone graft* berbasis HAp/Cs/PMMA pada sifat mekanik *scaffold*?
2. Bagaimana efek rasio komposisi *bone graft* berbasis HAp/Cs/PMMA pada biokompatibilitas *scaffold*?

1.3 Batasan Masalah

Untuk mendapatkan hasil yang optimal dan sesuai dengan yang diharapkan, maka dalam penelitian ini, batasan masalah yang diterapkan adalah sebagai berikut :

1. Lingkungan penelitian dianggap steril dan bebas kontaminan
2. Temperatur ruangan dianggap konstan
3. pH aquades dianggap netral

1.4 Tujuan Penelitian

Dari rumusan masalah diatas maka tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk menganalisis efek rasio komposisi *bone graft* berbasis HAp/Cs/PMMA pada sifat mekanik *scaffold*.

-
2. Untuk menganalisis efek rasio komposisi *bone graft* berbasis HAp/Cs/PMMA pada biokompatibilitas *scaffold*.

1.5 Manfaat Penelitian

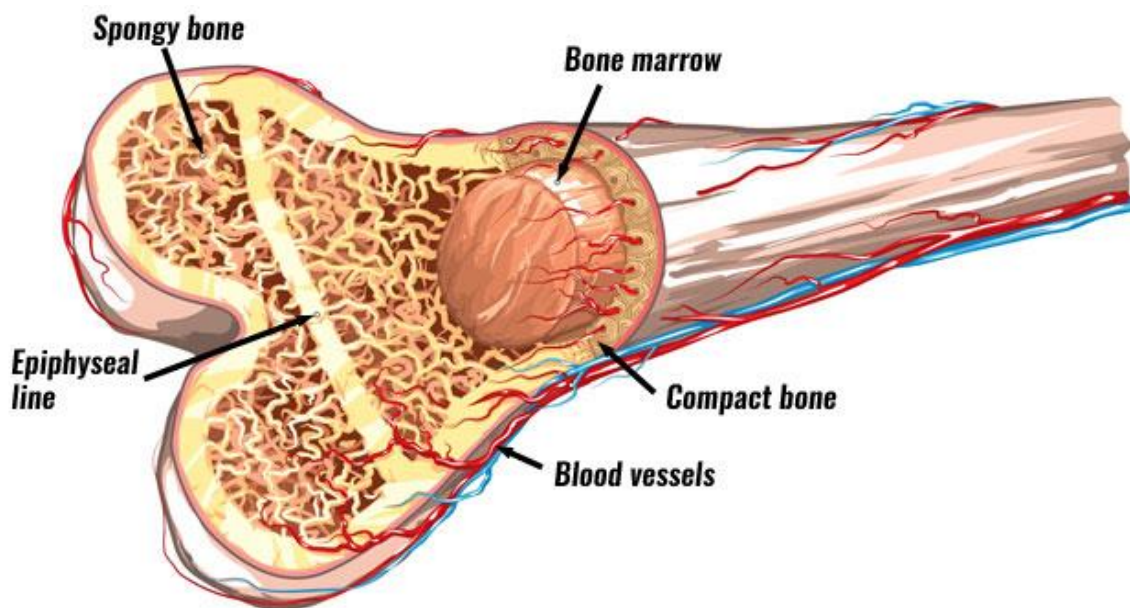
Penelitian ini diharapkan memiliki manfaat untuk mendapatkan inovasi baru dalam pengembangan teknologi material komposit mengenai efek rasio komposisi *bone graft* berbasis HAp/Cs/PMMA terhadap sifat mekanik dan biokompatibilitas *scaffold* dengan *metode solvent casting/particulate leaching* yang menggunakan bahan baku lokal dan dapat digunakan sebagai rujukan terhadap penelitian-penelitian yang berkaitan dengan *scaffold* sehingga diperoleh hasil yang lebih efektif dan efisien untuk aplikasi *scaffold* selanjutnya.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tulang Femur

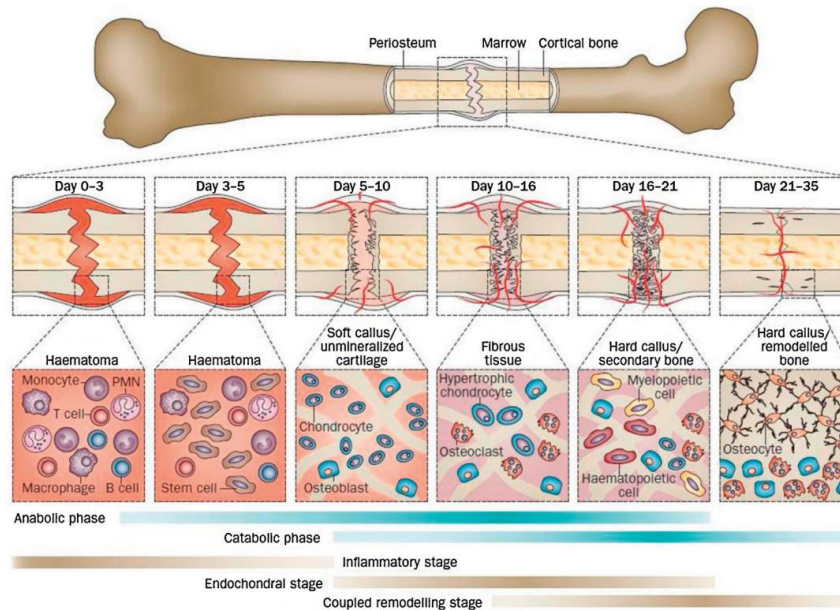
Tulang paha (femur) adalah tulang terpanjang, terbesar, dan terkuat di tubuh manusia (Verma & Chauhan, 2020). Bahasa latin femur adalah *thigh* (Hi, 2019). Tulang ini menempel pada panggul diujung proksimal, membentuk sendi panggul dan bergabung dengan sendi lutut di ujung distal tibia (Gautam & Rao, 2021). Tulang ini mempunyai panjang sekitar 18 inci yaitu sekitar seperempat dari tinggi badan tiap individu (Hi, 2019). Tulang femur dengan berbagai bagiannya bisa dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2. 1 Tulang femur (Hi, 2019).

Tulang femur terdiri dari 3 bagian yaitu ujung atas, batang, dan ujung bawah (Hi, 2019). Tulang femur merupakan salah satu tulang yang paling sering retak karena memikul persentase maksimum dari berat badan. Cedera umum pada tulang femur pada usia muda seringkali disebabkan oleh benturan energi yang tinggi, penyebab paling umum yaitu kecelakaan kendaraan bermotor. Insiden kekuatan yang lebih rendah juga umum terjadi di usia tua karena tulang yang lebih lemah dan tidak mampu membawa beban tubuh yang berkelanjutan. Berbagai penyakit tulang rapuh seperti osteoporosis, osteopenia, osteitis deformans bertanggung jawab atas melemah dan menurunnya daya dukung tulang karena berkurangnya massa tulang (Gautam & Rao, 2021).

Fraktur tulang paling sering terjadi pada pasien dengan cedera traumatis, penyembuhan patah tulang adalah proses fisiologis yang sangat kompleks, sekitar 5-10% dari patah tulang tidak akan sembuh secara normal. Ada dua pola penyembuhan patah tulang, yaitu penyembuhan primer dan penyembuhan sekunder. Penyembuhan primer berarti upaya langsung korteks untuk membangun kembali dirinya sendiri setelah terputus meskipun hal ini jarang terjadi. Sedangkan penyembuhan sekunder melibatkan kombinasi osifikasi intramembran dan endokondral dimana kedua proses ini berpartisipasi dalam urutan perbaikan fraktur dengan setidaknya 5 tahap penyembuhan terpisah, seperti yang dirangkum dalam Gambar 2.2 (J. Li et al., 2020).



Gambar 2. 2 Proses penyembuhan pada fraktur (J. Li et al., 2020).

Dalam pencangkokan tulang atau implantasi terdapat 3 aspek utama yang perlu diperhatikan untuk memacu regenerasi pada fraktur tulang, yakni sifat osteoinduksi, osteokonduksi dan osseointegrasi pada material implan. Osteoinduksi adalah penyembuhan jaringan tulang yang membutuhkan pembentukan jaringan baru, proses ini dilakukan melalui osteoblas dan dapat dipercepat melalui cara kimia, pada dasarnya osteoinduksi adalah perbaikan tulang in situ atau perlekatan implan. Jika pertumbuhan jaringan berlanjut di luar lokasi implan, prosesnya disebut osteokonduksi, proses ini bergantung pada struktur dan komposisi kimia dari implan atau cangkok. Osseointegrasi adalah perlekatan langsung permukaan implan ke tulang yang memungkinkan transfer beban yang efisien dari implan pembawa beban ke tulang (Farid, 2019). Sifat mekanik implan tulang/*scaffold* harus mendekati sifat mekanik asli dari tulang yang ingin diimplan, sifat mekanik dari tulang kompak manusia bisa dilihat pada Tabel 2.1.

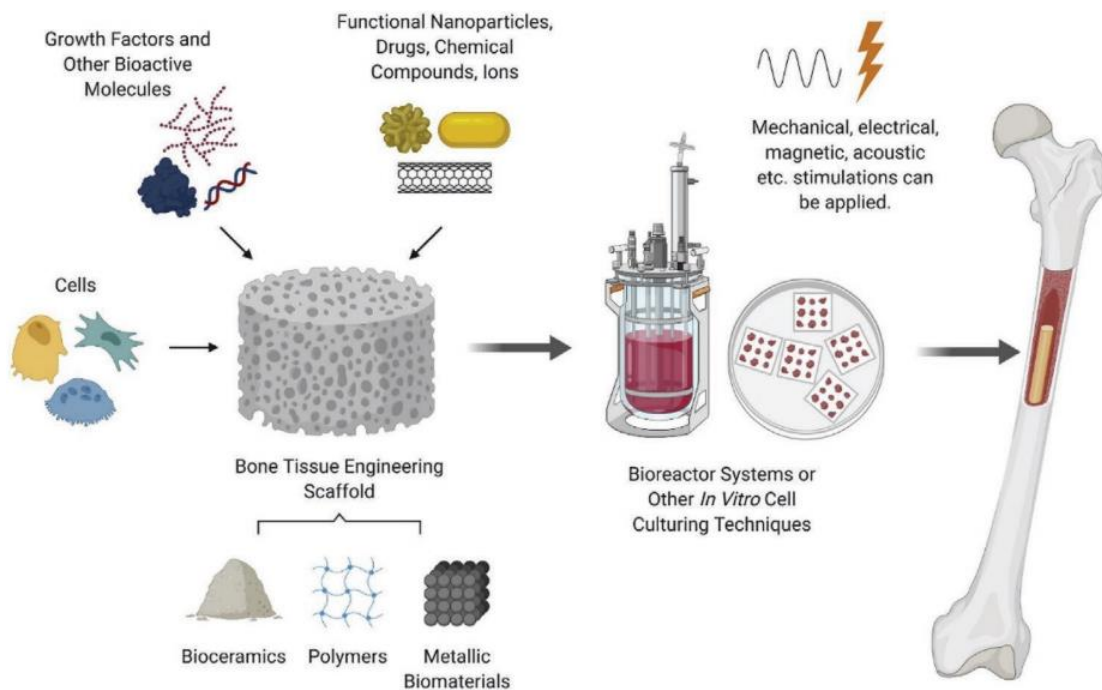
Tabel 2. 1 Sifat mekanik dari tulang kompak manusia (Gautam & Rao, 2021).

Material	Compressive strength (MPa)	Tensile strength (MPa)
Tulang kortikal	130-180	50-151
Tulang kanelus	1-20	-

2.2 Scaffold

Bone tissue engineering (BTE) didasarkan pada pemahaman tentang struktur tulang, mekanika tulang, dan pembentukan jaringan karena bertujuan untuk menginduksi jaringan tulang fungsional baru. Dengan kata lain, fungsi dari BTE yaitu meregenerasi, memperbaiki dan mendorong perbaikan tulang dengan cepat (Amini et al., 2012). Rekayasa jaringan telah memperkenalkan harapan baru sebagai kombinasi sel, *scaffold*/perancah dan biofaktor untuk regenerasi tulang dibandingkan dengan metode pencangkokan tulang yang lebih tradisional seperti autograft dan allograft (Gambar 2.3) (Ghassemi et al., 2018). *Scaffold* adalah struktur biomaterial 3 dimensi yang digunakan untuk rekonstruksi cacat tulang (Tariverdian et al., 2019), *scaffold* harus memungkinkan sel menghasilkan jaringan spesifik dengan bentuk, ukuran dan

fungsionalitas yang diinginkan, serta mampu merangsang perlekatan dan proliferasi sel *osteinducible* pada permukaannya (Ghassemi et al., 2018; Prasad et al., 2017).



Gambar 2.3 Strategi *bone tissue engineering*

Material pengganti tulang perlu memiliki beberapa karakteristik sebagai berikut :

1. Biokompabilitas dalam hal perlekatan, proliferasi sel, dapat menghasilkan matriks baru, serta kurangnya toksisitas dan reaksi inflamasi;
2. Biodegradabilitas, karena scaffold harus terdegradasi bersamaan dengan pembentukan jaringan baru;
3. Sifat mekanik untuk menahan beban selama periode perbaikan dan sesuai dengan tulang yang digantikan;
4. Arsitektur yang tepat dalam hal porositas dan ukuran pori untuk penetrasi sel, tranfer nutrisi dan limbah dan angiogenesis (proses terbentuknya pembuluh darah baru yang berasal dari pembuluh darah yang telah ada sebelumnya);
5. Sterilitas tanpa kehilangan bioaktivitas (kemampuan berinteraksi dengan jaringan hidup di sekitarnya untuk merangsang migrasi, diferensiasi sel serta integrasi dalam sel inang);
6. Mudah digunakan sehingga ahli bedah dapat menanamkan *scaffold* ke dalam tubuh dengan aman dan mudah;
7. Kemampuan pelepasan molekul atau obat bioaktif yang terkontrol (Ghassemi et al., 2018; Tariverdian et al., 2019).

Scaffold sudah banyak tersedia namun harganya masih mahal, pada Tabel 2.2 diketahui perbandingan berbagai produk *scaffold* dari sifat mekanik dan porositasnya.

Tabel 2. 2 Perbandingan produk *scaffold* (Zhang et al., 2019).

Nama Produk	Produsen	Material	Modulus Young (Gpa)	Rasio Poisson	Diameter Pori (μm)	Porositas (%)
Titanium Dioxide	Corticalis AS	TiO ₂	230	0,29	320 \pm 35,1	86,0 \pm 4,5

Nama Produk	Produsen	Material	Modulus Young (Gpa)	Rasio Poisson	Diameter Pori (μm)	Porositas (%)
Bio-Oss® Spongiosa granules	Geistlich Pharma AG	Mineral tulang alami yang berasal dari sapi	15	0,3	320±56,7	60,1±3,4
Cerabone®	Botish Dental GmbH	Hidroksipatit tulang sapi	83	0,28	300±43,2	69,0±3,8
Maxresorb®	Botish Dental GmbH	60% HA dan 40% β -TCP	102	0,276	140±33,6	67,5±3,6

Scaffold digunakan untuk memberikan dukungan sementara struktur tulang yang rusak, mengakomodasi pertumbuhan sel dan regenerasi jaringan dalam mariks 3D. Oleh karena itu, penting untuk mempertimbangkan parameter desain *scaffold* untuk rekayasa jaringan tulang. Beberapa parameter penting untuk *scaffold* tercantum dalam Tabel 2.3.

Tabel 2. 3 Parameter desain *scaffold* untuk rekayasa jaringan tulang diberikan (Thavornytikarn et al., 2014).

Parameter	Requirement
Porositas	Maksimum tanpa mengorbankan sifat mekanik secara signifikan
Ukuran pori	300-500 μm
Struktur pori	<i>Highly interconnected</i>
Sifat mekanik	
Tulang kanelus	<i>Compressive strength</i> : 1,5 - 45 MPa
Tulang kortikal	<i>Compressive strength</i> : 90 - 209 MPa
Waktu degradasi	Harus disesuaikan dengan aplikasi pada pasien
Mekanisme degradasi	<i>Bulk or surface erosion</i>
Biokompabilitas	Tidak ada peradangan kronis

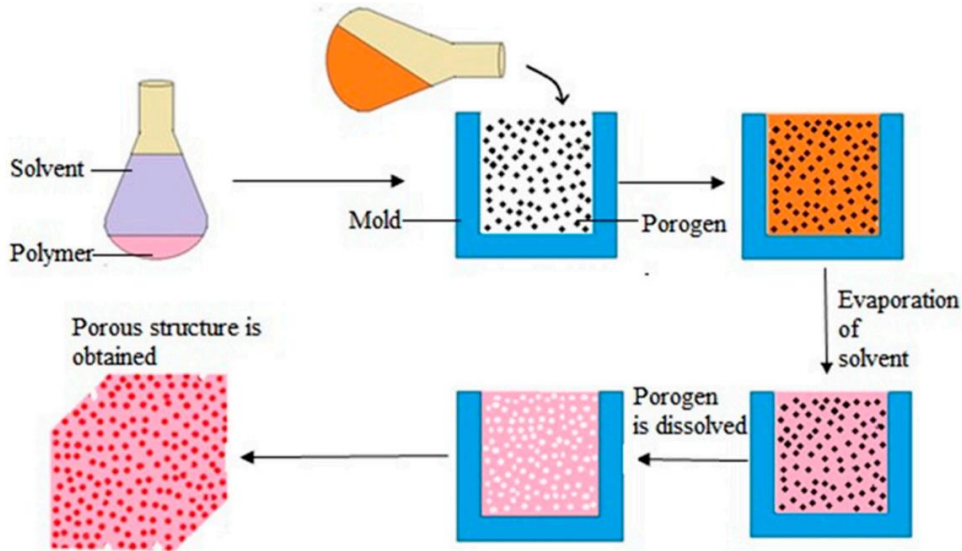
Dengan mengetahui parameter diatas, berbagai teknik fabrikasi berkembang secara luas diklasifikasikan sebagai teknik konvensional dan non-konvensional. Pada Tabel 2.4 ditunjukkan perbandingan beberapa metode fabrikasi *scaffold*.

Tabel 2. 4 Perbandingan metode fabrikasi scaffold (Collins et al., 2021; Thavornytikarn et al., 2014)

Metode	Ukuran pori (μm)	Porositas (%)	Arsitektur/ Struktur	Kelebihan	Kekurangan
<i>Solvent casting/ Particulate leaching</i>	30-300	20-50	<i>Spherical pores</i> , dispersi pori yang tidak homogen, kurangnya <i>interconnectivity</i> bagian dalam pori.	Metode simpel, ukuran pori dan porositas bisa dikontrol	Kemungkinan terdapat residu dari pelarut atau partikel garam, struktur isotropik

Metode	Ukuran pori (μm)	Porositas (%)	Arsitektur/ Struktur	Kelebihan	Kekurangan
<i>Freeze drying</i>	15-200	30-90	Struktur pori dengan <i>interconnectivity</i> yang tinggi, porositas bagus, ukuran pori kecil.	Mudah mengontrol porositas, tidak ada fase pencucian	Metode lambat, mahal, dan konsumsi energi yang tinggi
<i>Gas foaming</i>	40-800	<85	Struktur pori tertutup dengan <i>Interconnectivity</i> yang rendah,	Bebas dari pelarut beracun, kontrol porositas	Menghasilkan struktur dengan porositas yang pada dasarnya tidak terhubung Pilihan bahan terbatas, kemungkinan residu pelarut, produksi skala kecil, kesulitan memantau struktur <i>scaffold</i>
<i>Thermally induced phase separation</i>	5-600	<90	Struktur pori dengan interkoneksi yang tinggi, porositas tinggi.	Metode sederhana, ukuran pori dapat dikontrol	Mesin mahal, pilihan resin terbatas, penyusutan selama polimerisasi Mesin mahal, temperatur tinggi menyebabkan penyusutan, kesulitan mengeluarkan bubuk yang terperangkap
<i>Photopolymerisation-based processing Stereolithography (SLA)</i>	20-1000	<90	Permukaan kurang halus, struktur berbentuk anatomis	Akurasi tinggi, struktur 3D kompleks	
<i>Powder-based processing Selective laser sintering (SLS)</i>	30-2500	<40	<i>Powdery surface finish</i>	Pemrosesan cepat, tidak perlu perlakuan pasca pemrosesan, bebas pelarut	

Dalam penelitian kali ini, metode yang dipilih yaitu *solvent casting/particulate leaching*. Secara prinsip, metode SCPL diawali dengan suatu polimer dilarutkan pada pelarut, kemudian suatu porogen berupa NaCl atau gelatin yang tidak dapat bereaksi dengan polimer ditambahkan pada larutan polimer, selanjutnya larutan dibiarkan hingga pelarut menguap dan membentuk sampel padat, kemudian padatan tersebut direndam dalam *distilled water* atau *deionized water* untuk menghilangkan partikel porogen, dengan terlarutnya partikel porogen maka terbentuk *scaffold* dengan porositas yang dapat mengakomodir pertumbuhan sel baru (Sola et al., 2019), rangkaian proses yang sudah dijelaskan digambarkan pada Gambar 2.4.



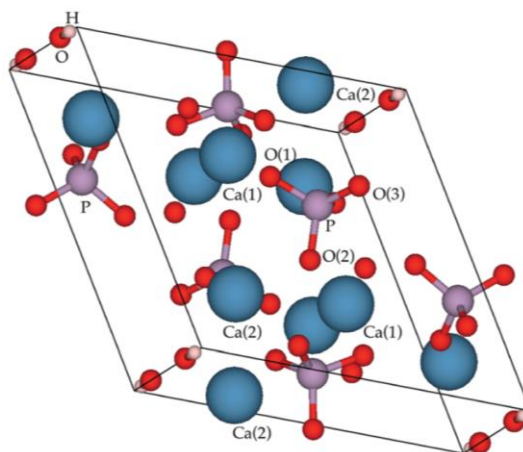
Gambar 2. 4 Metode *solvent casting/particulate leaching* (Sampath et al., 2016).

Metode ini dipilih karena ukuran pori dan interkonektivitasnya dapat dikontrol dengan ukuran partikel porogennya, metode SCPL ini juga mudah diproses dengan peralatan yang mudah dijangkau serta ekonomis, tetapi metode ini juga mempunyai kekurangan yaitu kemungkinan pelarut tidak terevaporasi dengan baik dan terbawa hingga implantasi sehingga akan muncul inflamasi dan bentuk hasil dari metode ini juga terbatas dengan rentang ketebalan sekitar 3-4 mm, dan biasanya berbentuk tabung atau plat (Prasad et al., 2017).

2.3 Hidroksiapatit (HAp)

Bahan yang dapat meniru struktur, komposisi, dan juga fungsi jaringan alami (tulang, otot, saraf, dan lain-lain) sudah banyak dikembangkan. Untuk mendapatkan biomaterial yang sekaligus memiliki sifat mekanik yang unggul dan arsitektur pori yang memungkinkan perlekatan sel, hidroksiapatit (HAp) saat ini sudah banyak diteliti (Andronescu et al., 2016).

HAp merupakan suatu biokeramik yang memiliki kandungan terbanyak berupa kalsium fosfat, dengan rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (Ardhiyanto et al., n.d.). HAp juga merupakan komponen mineral penting pada gigi dan tulang manusia (Andronescu et al., 2016). HAp murni adalah fase apatit stoikiometri dengan rasio molar Ca/P 1,67, umumnya dapat mencapai 69% dari berat tulang alami. HAp memiliki struktur heksagonal dan merupakan fase paling stabil diantara berbagai kalsium fosfat (Farzadi et al., 2011). Struktur kristal HAp bisa dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2. 5 Struktur kristal hidroksiapatit (Zilm et al., 2016).

HAp telah dikonfirmasi tidak menunjukkan toksisitas, imunogenisitas atau respon inflamasi, juga menunjukkan biokompabilitas yang sangat baik, serta yang paling penting adalah sifat bioaktifnya dan telah banyak digunakan dalam aplikasi ortopedi, gigi, dan maksilofasial (Fathi et al., 2008). Disamping itu sifat mekanik yang rendah merupakan kelemahan utama keramik HAp. Secara umum, biokeramik yang cocok untuk aplikasi beban harus bioinert dan memiliki sifat mekanik yang baik (Andronesu et al., 2016). Sifat utama HAp secara lengkap ditunjukkan pada Tabel 2.5.

Tabel 2. 5 Karakteristik dasar dari hidroksiapatit (Fiume et al., 2021).

Karakteristik	Nilai	Karakteristik	Nilai
Densitas	3,16 g/m ³	Rasio poisson	0,27
Temperatur dekomposisi	>1000°C	Energi fraktur	2,3-20 J/m ²
Konstanta dielektrik	7,30-10,47	Ketangguhan fraktur	0,7-1,2 MPa.m ² (berkurang dengan porositas)
Konduktivitas termal	0,013 W/cm.K	Kekerasan fraktur	3-7 GPa (padat)
Titik leleh	1614°C	Biokompabilitas	Tinggi
Kekuatan tarik	38-300 MPa (padat) ~3 MPa (berpori)	<i>Biodegradation</i>	Rendah
Kekuatan tekuk	38-250 MPa (padat) 2-11 MPa (berpori)	<i>Bioactivity</i>	Tinggi
Kekuatan tekan	120-900 MPa (padat) 2-100 MPa (berpori)	Osteokonduksi	Tinggi
Modulus young	35-120 Gpa	Osteoinduksi	-

HAp yang dihasilkan dari sumber biogenik dapat diterima lebih baik oleh organ hidup (Ripamonti et al., 2009). Dalam beberapa tahun terakhir berbagai bahan alami, seperti karang, alga, kulit telur, cangkang kerang, ikan dan tulang sapi, telah digunakan untuk menghasilkan HAp (Chakraborty & Roy Chowdhury, 2013; Han et al., 2022; Ripamonti et al., 2009; Sari et al., 2021; Wu et al., 2011). Sejumlah produk komersial yang relatif terkenal didasarkan pada tulang sapi (misalnya, Endobon[®], Cerabone[®], Bio-Oss[®], dan lainnya) (Mucalo, 2015). Dan pada penelitian ini digunakan HAp yang disintesis dari tulang sapi bagian femur dengan bantuan gelombang mikro. Sintering menggunakan *microwave* mempunyai kelebihan yaitu produk yang disintesis memiliki kristalinitas tinggi, distribusi diameter yang sempit, ukuran serta morfologinya dapat dikontrol dengan baik, proses sintesisnya cepat, biaya energi rendah, namun sulit untuk sintesis skala besar (Hong et al., 2010). Pada IR *spectrum* hidroksiapatit mempunyai puncak gugus fungsi karbonat pada frekuensi getaran 1450 cm⁻¹, fosfat 560, 602, 1040 cm⁻¹, dan hidroksil 3420 cm⁻¹ (Anisah et al., 2018; Kurniawan et al., 2019)

2.4 Kitosan

Kitosan merupakan polimer alam yang paling melimpah setelah selulosa dan satu-satunya polisakarida linier kationik (Kazemi-Aghdam et al., 2021). Kitosan merupakan produk deasetilasi kitin, yang dapat diperoleh dari eksoskeleton udang, lobster, kepiting dan sebagainya (Ma et al., 2021). Kitosan banyak digunakan sebagai biomaterial karena biokompabilitasnya, kemampuan *biodegradable*, sifat anti bakteri, non antigenisitas, respon anti-inflamasi dan

kemampuan antimikroba yang melekat telah menjadikannya salah satu polisakarida yang paling menarik untuk aplikasi biomedis, yang telah berhasil digunakan sepenuhnya dalam pembalut luka (Hu et al., 2021; Kazemi-Aghdam et al., 2021; Ma et al., 2021). Struktur kitosan memungkinkan transportasi nutrisi yang tepat untuk pertumbuhan sel (Ali et al., 2021).

Kitosan sudah banyak digunakan sebagai *scaffold* untuk aplikasi jaringan tulang dengan sifat biokompatibel, bioaktif dan biodegradable yang sangat baik, namun memiliki kekuatan mekanik yang buruk. Masalah tersebut dapat diselesaikan dengan membuat *composite scaffold* dari polimer sintetik kekuatan tinggi, bahan anorganik seperti hidroksiapatit dan tri kalsium fosfat (Ali et al., 2021).

Kitosan biasanya tidak larut dalam larutan yang memiliki pH diatas 7, namun kitosan larut pada asam lemah dengan pH < 6, sehingga gugus bebas amino terprotonisasi dan molekul menjadi larut (Madihally & Matthew, 1999). Derajat deasetilasi kitosan berkisar 50 sampai 90% dengan berat molekul berkisar dari 300 kDa hingga lebih dari 1000 kDa (Madihally & Matthew, 1999).

Sebagai polisakarida linear, kitin (β -(1-4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose) dan kitosan (β -(1-4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose), keduanya merupakan satu kesatuan yang berurutan dari N-acetyl-glucosamine dan N-glucosamine. Jumlah satuan N-acetyl-glucosamine disebut sebagai derajat asetilasi (DA) sedangkan jumlah satuan N-glucosamine disebut derajat deasetilasi (DDA) (Rinaudo, 2006).

Pada penelitian ini kitosan digunakan sebagai anti bakteri, anti bakteri pada kitosan yaitu gugus fungsional amina (-NH₂) yang bermuatan positif, sedangkan sel membran mikroba bermuatan negatif. Muatan positif dan negatif ini berinteraksi secara elektrostatis yang menyebabkan membran mengalami tekanan permiable yang menyebabkan tekanan osmotik di dalam sel tidak seimbang yang menghalangi pertumbuhan dari mikroba. Di dalam sel juga terjadi peristiwa hidrolisa dalam dinding sel yang menyebabkan keluarnya elektrolit sel dan sel akan mati (Sarwono, 2010). Banyak aplikasi lainnya dari kitosan yang dapat dilihat pada Tabel 2.6.

Tabel 2. 6 Aplikasi kitin dan kitosan (Sarwono, 2010).

Bidang	Fungsi
Pangan	Antimikroba, edible film
Medis	Anti bakteri, antitumor, <i>immune potentiator</i> , perban luka
Nutrisi	Sumber serat, hypokolestremik agen
Bioteknologi	Imobilisasi sel, poros beads bioreaktor, resin kromatografi, membran
Pertanian	Coating bibit, aktifator sel tanaman
Lain-lain	Koagulan, penyerap logam, penggumpal protein, kosmetik, penjernih air

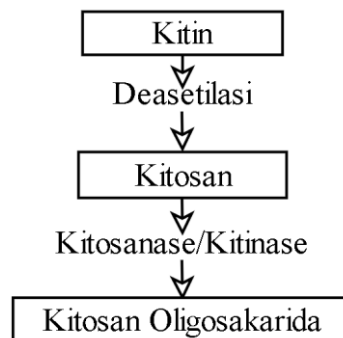
Pada IR *spectrum* kitosan harus memiliki gugus amida I pada 1620 cm⁻¹ dan amida II pada 1514 cm⁻¹, amide III pada 1350 cm⁻¹, gugus OH dan amine group pada 3200 - 3500 cm⁻¹. CH *stretching* pada 2890 cm⁻¹ dan CH₃ *stretching* pada 1380 cm⁻¹ (Thomas et al., 2012; Winiati et al., 2013).

2.4.1 Kitosan Oligosakarida (COs)

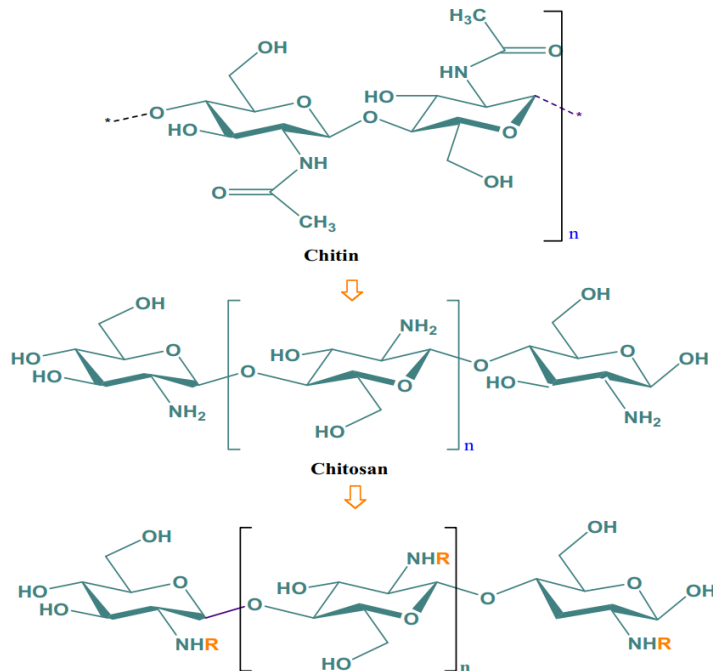
Meskipun kitosan tersedia melimpah di alam, aplikasinya dalam bidang pangan dan farmasi masih terbatas karena kelarutannya dalam air rendah, berat molekulnya tinggi dan viskositasnya juga tinggi, oleh karena itu penelitian tentang kitosan lebih banyak diarahkan pada produksi kitosan yang mampu larut dalam air, salah satunya adalah kitosan oligosakarida (COs). COs merupakan produk hidrolisis kitosan yang terdiri dari 2-10 D-glukosamin (Dewi & Fawzya, 2006; Naveed et al., 2019).

Metode produksi COs ada 2 cara yaitu hidrolisis kimiawi dan enzimatis. Secara kimiawi, umumnya diproduksi dengan menggunakan asam nitrat atau asam klorida pekat, namun cara ini memiliki kelemahan antara lain, beracun, proses produksi yang lama, sulit dikontrol, dapat mengubah struktur produk, terlalu banyak menghasilkan monomer serta menghasilkan oligosakarida dengan derajat polimerisasi (DP) yang rendah sekitar 2 hingga 5. Produksi COs lebih efektif dapat dilakukan melalui hidrolisis kitosan secara enzimatis, dengan cara ini proses produksi lebih mudah dikontrol. Enzim yang berperan dalam proses hidrolisis ini adalah enzim kitosanase atau kitinase yang dapat diisolasi dari mikroorganisme.

Umunya kitosanase menghidrolisis kitosan secara *endo-type cleavage* dan memiliki aktivitas yang tinggi terhadap kitosan dengan derajat deasetilasi lebih dari 70% untuk menghasilkan oligosakarida dengan DP 2-6. Meskipun memiliki berbagai kelebihan, kedua enzim tersebut jumlahnya terbatas dan harganya mahal untuk aplikasi komersial. Kumar dkk (2004,2005) melaporkan bahwa kitosan yang dihidrolisis menggunakan enzim pronase dan papain dapat menghasilkan produk depolimerisasi berupa kitosan berat molekul rendah (massa molekul berkisar antara 8,5-9,5 kDa. Tergantung waktu inkubasi). Cabrea dan Cutsem (2005) juga melakukan depolimerisasi kitosan menggunakan enzim pektinase dan jenis oligosakarida yang dihasilkan setelah proses hidrolisis selama 24 jam mempunyai DP 6-11. Metode pembuatan kitosan oligosakarida (COs) secara umum disajikan pada Gambar 2.6 dan struktur kimianya pada Gambar 2.7 (Dewi & Fawzya, 2006).



Gambar 2. 6 Metode pembuatan kitosan oligosakarida (COs) (Dewi & Fawzya, 2006).



Gambar 2.7 Relativitas struktural COs dari kitin dan kitosan (Naveed et al., 2019).

COs secara signifikan menyerupai kitosan dan kitin dalam profil fisikokimia. Pertama, COs tidak beracun, biokompatibel dan biodegradable. COs dapat diserap, mudah larut dalam air karena panjang rantainya yang lebih pendek dan gugus amino bebas dalam unit D-glukosamin. Selain itu, viskositasnya relatif rendah dan kelarutannya hampir sempurna pada pH yang hampir netral dibanding dengan kitosan dan kitin, karena COs memiliki *molecular weight* (Mw) yang rendah (Naveed et al., 2019).

Pemanfaatan COs sebagai entitas kimia tunggal dalam berbagai turunannya memiliki nilai terapeutik di bidang farmasi dan biomedis, sehingga COs adalah biopolimer serbaguna dalam memerangi penyakit yang ada seperti kanker, diabetes, hipertensi, penyakit yang berorientasi pada peradangan dan berbagai infeksi termasuk HIV. Hal ini juga sangat berguna dalam memodifikasi gangguan fisiologis dan degeneratif seperti diabetes, obesitas dan *alzheimer* karena sifat kationiknya dalam penyerapan dan transduksi seluler (Naveed et al., 2019).

2.5 *Poly(methyl methacrylate)* (PMMA)

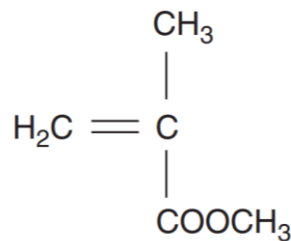
Poly(methyl methacrylate) (PMMA) adalah polimer sintesis ringan yang digunakan untuk aplikasi dengan kekuatan yang tidak terlalu tinggi. PMMA lebih mudah diproses dengan harga lebih murah daripada polikarbonat. PMMA memiliki sifat mekanik yang bagus dan toksisitas rendah. PMMA digunakan dalam aplikasi biomaterial seperti semen tulang, lensa, pengganti tulang, dan sistem penghantaran obat. PMMA juga digunakan untuk menghilangkan kerutan dan bekas luka pada jaringan kulit secara permanen, dalam implan gigi, bahan polimer PMMA menggantikan akar gigi yang hilang karena sifatnya yang mirip dengan kualitas fisik dan mekanik dentin manusia. PMMA memiliki modulus elastisitas yang rendah, pasif termal dan listrik, dan porositas ideal (Manoukian et al., 2019).

Komposit *poly(methyl methacrylate)* digunakan dalam aplikasi medis dan terutama dalam kedokteran gigi, saat ini tidak hanya karena biokompabilitasnya yang sangat baik, sifat fisik dan pewarnaannya, tetapi juga kemungkinan untuk memanipulasi porositas dan keseimbangan hidrofilik/hidrofobik (Tihan et al., 2009). Meskipun populer untuk transplatasi sendi pinggul karena sifatnya yang lembut, PMMA menunjukkan degradasi yang lambat. Oleh karena itu, pembuatan campuran polimer polikaprolakton dengan PMMA menghasilkan bahan polimer

yang lebih cocok untuk aplikasi biomaterial. Studi in vitro yang dilakukan oleh So-Ra Son dan kawan-kawan pada tahun 2013 menggunakan uji MTT untuk memeriksa sitotoksitas dan proliferasi sel osteoblas MG-63 pada *scaffold* campuran PCL/PMMA menghasilkan bahan polimer campuran yang cocok untuk proliferasi sel osteoblas (Manoukian et al., 2019). Pada IR *spectrum*, PMMA harus memiliki gugus sebagai berikut, C-H *stretching* pada 2927 - 2986 cm⁻¹, C=O *stretching* pada 1700 - 1744 cm⁻¹, CH₃ *stretching* pada 1439 cm⁻¹, -OCH₃ *stretching* pada 1195 cm⁻¹.

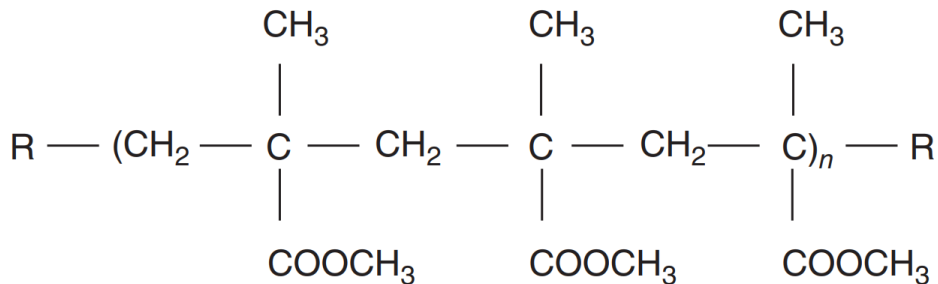
Komposisi kimia serta sifat dari *methyl methacrylate* dan PMMA dapat dilihat pada Gambar 2.8 dan Gambar 2.9. Sifat fisik dan kimia dari PMMA dapat dilihat pada Tabel 2.7.

Methyl methacrylate (MMA)



Gambar 2. 8 Chemical composition and properties of methyl methacrylate (Dunne, 2008).

Polymethyl methacrylate (PMMA)



Gambar 2. 9 Chemical composition and properties of PMMA (Dunne, 2008).

Tabel 2. 7 Sifat fisik dan kimia PMMA (Soleymani Eil Bakhtiari et al., 2021)

Karakteristik	Nilai
Warna	Putih
Densitas (g/cm ³) (20 °C)	1,17-1,20; 1,26 (kristalin); 1,21 (isotaktik)
Temperatur Leleh, DSC (°C)	105-160
Temperatur Transisi Kaca (T _g)	Ataktik = 105-122; Isotaktik = 51-107; Sindiotaktik = 105-120
Koefisien Ekspansi Termal, 23-80 °C (°C ⁻¹)	7E-5 sampai 6E-4; 2,5E-4 (dibawah T _g) 5,7E-4 (diatas T _g)

Konduktivitas Termal, lelehan ($W m^{-1} K^{-1}$)	Calc.=0,6862; exp.=0,19
Penyusutan (%)	0,3-0,7
Penyerapan Air (24 jam pada 23 °C) (%)	0,1-0,3
Kekuatan Tarik (MPa)	63-78
Modulus Tarik (Gpa)	3,2-3,4
Kekerasan Permukaan (Rockwell) (M)	89-95

2.6 Crosslinking

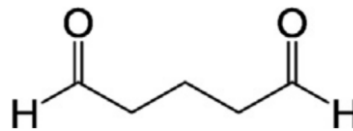
Dalam beberapa tahun terakhir, teknologi ikatan silang adalah salah satu bidang penelitian terpenting yang berfokus pada pengembangan *scaffold* tulang rekayasa jaringan baru. Tujuan utama dari pengikatan silang adalah untuk memperbaiki sifat biomekanik *scaffold* dengan membentuk jaringan yang kuat dalam matriks polimer. *Crosslinking* didefinisikan sebagai ikatan kimia atau fisik yang menghubungkan gugus fungsi dari rantai polimer ke yang lain melalui ikatan kovalen atau interaksi supramolekul seperti ikatan ionik, ikatan hidrogen, dan lain-lain. Tidak hanya pengikat silang yang ideal yang harus meningkatkan kinerja mekanis jaringan polimer, tetapi juga tidak boleh memiliki efek sitotoksik. Akibatnya, ikatan silang rantai polimer dapat mempengaruhi beberapa sifat fisiokimia termasuk sifat mekanik seperti kekuatan tarik, kekakuan, dan regangan, interaksi sel matriks, kinerja pada temperatur yang lebih tinggi, ketahanan terhadap degradasi enzimatik dan kimia, pengurangan permeasi gas, selain itu *crosslinking* dapat memodifikasi situs antigenik bahan alami dan mengurangi antigenisitasnya (Oryan et al., 2018).

Metode *crosslinking* yang berbeda dapat digunakan untuk pembuatan implan tulang atau *scaffold*, tergantung jenis dan sifat biopolimer. Untuk mencapai sifat biomekanik dan degradasi yang ideal dari *scaffold*, berbagai teknik pengikatan silang telah dikembangkan dan dikategorikan menjadi 3 kelompok besar yang dijelaskan dalam Tabel 2.7.

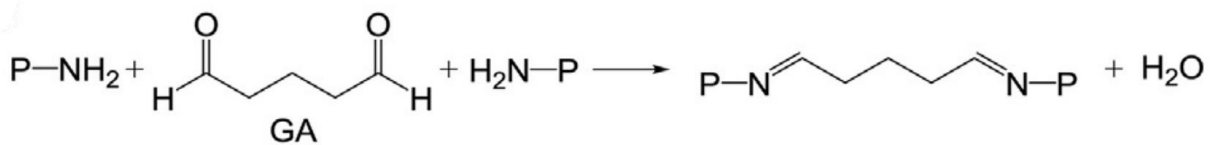
Tabel 2. 8 Kelebihan dan kekurangan metode pengikat silang (Oryan et al., 2018).

Metode <i>crosslinking</i>	Kelebihan	Kekurangan
<i>Physical</i>	Aman, tidak begitu beracun untuk sel, murah, reaksi jaringan minimum setelah proses <i>crosslinking</i> .	Ikatan lebih lemah daripada pengikat silang kimia karena tingkat ikatan silang yang lebih rendah, dapat mengubah sifat bahan, butuh waktu lama, kurangnya kontrol atas kinetika reaksi ikatan silang.
<i>Enzymatic</i>	Enzim paling aktif dibawah kondisi reaksi berair ringan, proses <i>crosslinking</i> dapat dikontrol dengan memodifikasi temperatur, pH, atau kekuatan ionik.	<i>Crosslinker</i> paling mahal, kekhususan substrat.
<i>Chemical</i>	Membentuk ikatan yang sangat kuat.	Hampir beracun bagi sel, perlu dicuci untuk menghilangkan sisa <i>crosslinker</i> , lebih mahal dari <i>crosslinker</i> fisik.

Glutaraldehid (GTA) telah banyak digunakan sebagai *crosslinker* kimia untuk mengikat silang berbagai jenis perancah jaringan biopolimer, hidrogel, dan komposit. GTA dapat secara signifikan meningkatkan sifat mekanik dan daya tahan biomaterial dalam matriks perancah. GTA bereaksi dengan gugus fungsi amina atau hidroksil dari protein dan polimer. Pada Gambar 2.8 merupakan struktur kimia dari GTA dan Gambar 2.9 merupakan GTA yang berikatan secara kovalen mengikat gugus amina dan membentuk rantai polimer yang panjang.



Gambar 2. 10 Struktur kimia glutaraldehid (Oryan et al., 2018).



Gambar 2. 11 Ikatan kovalen antara glutaraldehid dengan gugus amina (Oryan et al., 2018).

Gugus fungsi GTA yaitu gugus aldehida bersifat racun bagi sel dan menyebabkan peradangan parah di dalam tubuh, dengan demikian banyak strategi detoksifikasi yang diusulkan untuk meningkatkan biokompatibilitas dan daya tahan *scaffold*. Misalnya, mencuci *scaffold* GTA *crosslinked* menggunakan larutan yang mengandung gugus amina bebas atau larutan asam amino seperti glisin. Konsentrasi GTA dalam polimer merupakan faktor penentu proses ikatan silang, dari 0,01% hingga 8% w/v merupakan konsentrasi yang tidak menunjukkan sitotoksitas untuk ikatan silang. Dalam studi terbaru proses ikatan silang lebih ideal jika konsentrasi GTA ditentukan berdasarkan gugus amina polimer (Oryan et al., 2018). Dalam penelitian lain konsentrasi GTA 0,2%, sebagian besar gugus fungsi aldehida terikat silang dengan kerangka polimer, tidak menginduksi efek sitotoksik dan lebih meningkatkan fungsionalitas sel (Pinto et al., 2020).

2.7 State of The Art

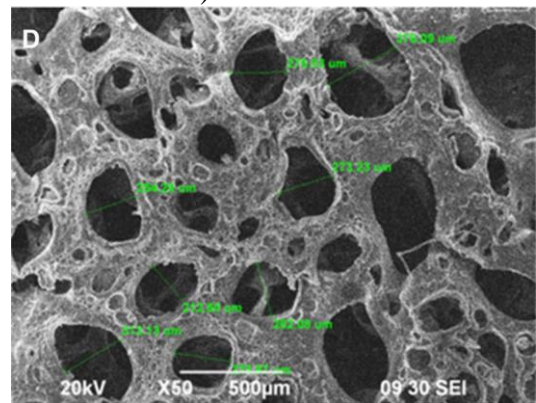
Beberapa penelitian yang telah dilakukan mengenai pembuatan komposit *bone graft scaffold* yang berbahan dasar hidroksiapatit/chitosan/PMMA ditunjukkan pada Tabel 2.8.

Tabel 2. 9 Penelitian Sebelumnya

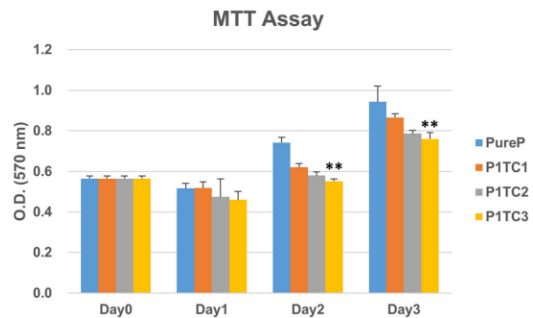
Peneliti, Tahun dan Penerbit	Material	Metode dan Variasi	Hasil
Mahammod et al. (2020) Springer (Mahammad et al., 2020)	HAp, PMMA, NaCl (200-300 µm) sebagai porogen.	<i>Solvent casting/particulate leaching</i> , (rasio komposisi HAp:PMMA yaitu 50:50, 60:40, 70:30) dengan NaCl 70wt.% of PMMA	Porositas dan ukuran pori tertinggi pada 50HAp yaitu 75±2.1% dan 148±23 µm; Kuat tekan tertinggi pada 60HAp yaitu 6.52±0.45 MPa

Peneliti, Tahun dan Penerbit	Material	Metode dan Variasi	Hasil
Deb et al. (2019) Elsevier (Deb et al., 2019)	HAp, PMMA, NaCl (50-150 μm) sebagai porogen.	<i>Solvent casting/particulate leaching</i> , (rasio komposisi HAp:PMMA yaitu 60:40, 70:30, 80:20) dengan NaCl 70wt.% of PMMA	Porositas dan ukuran pori tertinggi pada 60HAp yaitu $78 \pm 2.1\%$ dan $150 \pm 11 \mu\text{m}$, interconnected pores pada kandungan 60 dan 70HAp, kuat tekan tertinggi $7,26 \pm 0,45 \text{ MPa}$ pada 70HAp, studi bioaktivitas dari <i>scaffold</i> 70HAp mengonfirmasi pembentukan tulang seperti apatit setelah 28 hari direndam dalam <i>simulated body fluid solution</i> .
Pinto et al. (2019) Elsevier (Pinto et al., 2020)	HAp, <i>Beta tricalcium phosphate</i> (β -TCP), <i>Chitosan</i> , glutaraldehyd .	<i>Freeze drying</i> , <i>GTA-crosslinking</i> chitosan (perbedaan konsentrasi GTA yaitu 0,2%, 0,5% dan 1%) dan CaP <i>spray-dried granules</i> (<i>Hydroxyapatite</i> (HAp) dan <i>Biphasic</i> (HAp + β -TCP 1:1wt ratio)	Rata-rata ukuran pori dan sifat mekanik <i>scaffold</i> meningkat seiring bertambahnya konsentrasi GTA, namun penilaian biologis menunjukkan <i>scaffold</i> dengan 0,2% GTA memiliki kinerja biologis terbaik, mengenai aktivitas metabolisme, morfologi sel, interaksi sel/ <i>scaffold</i> .

Peneliti, Tahun dan Penerbit	Material	Metode dan Variasi	Hasil
Rahman et al. (2019) Springer (Rahman et al., 2019)	HAp, collagen, chitosan	Col-Cs dicampur dengan HAp dengan perbandingan 40%:60% yang kemudian dikeringkan beku (<i>freeze dried</i>) dan dimodifikasi dengan 4 metode <i>crosslinking</i> yaitu HEMA, GTA, DHT, dan IR.	<i>Scaffold</i> HAp/Col/Cs dengan <i>crosslinking</i> GTA menunjukkan pertumbuhan akan tetapi gugus fungsi aldehid dari GTA memiliki dampak racun, hal ini disebabkan konsentrasi GTA yang terlalu besar yaitu 2,5%. Untuk tingkat selular komposit <i>scaffold</i> bertindak sebagai sel proliferasi hingga jaringan tulang baru beregenerasi sempurna dengan ukuran pori yaitu $273.43 \pm 49 \mu\text{m}$. Hasil SEM untuk Ha·Col1·Cs-GTA <i>scaffold</i> menunjukkan struktur berpori yang tidak beraturan dengan interkoneksi sedang di antara pori-pori (<i>medium interconnected</i>).
Jana et al. (2012) <i>Journal of Materials Chemistry</i> (Jana et al., 2012)	<i>Chitosan</i> dan asam asetat	Larutan kitosan dengan kandungan yang berbeda (4, 6, 8, dan 12%) dibuat dengan melarutkan bubuk kitosan dengan asam asetat yang kemudian diliofilisasi dalam pengering beku	Semakin tinggi kandungan kitosan sifat mekaniknya semakin baik terbukti pada 12 wt% Cs mempunyai kuat tekan tertinggi yaitu $1.74 \pm 0.08 \text{ MPa}$ dan kuat tarik sebesar 1.38 ± 0.02 , <i>scaffold</i> yang terbentuk mempunyai banyak pori dan saling terhubung yang mendukung dalam mempertahankan aliran nutrisi dan pertukaran metabolisme untuk proliferasi sel dan pertumbuhan jaringan, ukuran pori yang terbentuk 100 hingga $500 \mu\text{m}$ namun dengan meningkatkan kandungan Cs, porositas juga semakin menurun tetapi masih memenuhi syarat <i>scaffold</i> .



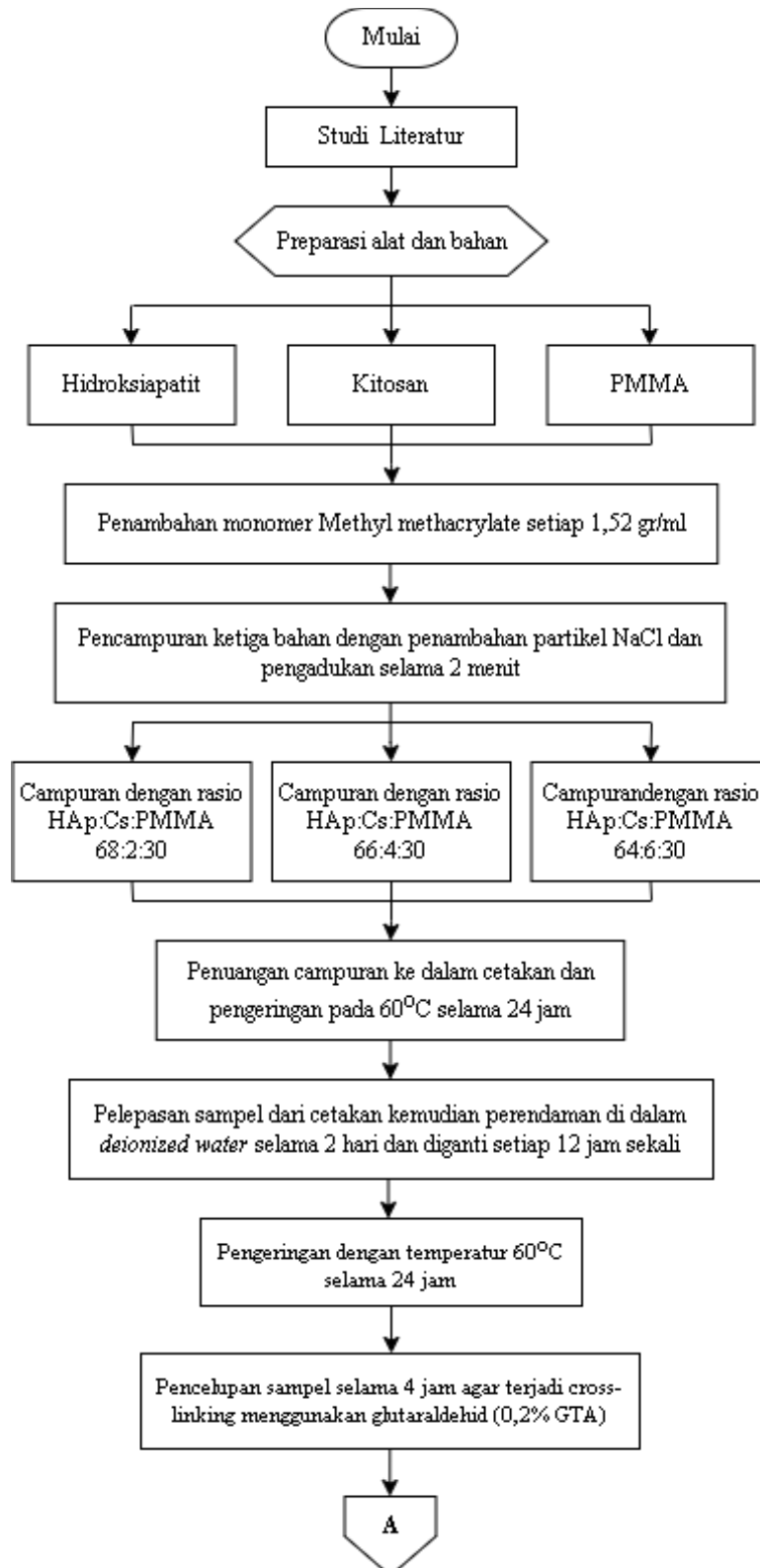
Peneliti, Tahun dan Penerbit	Material	Metode dan Variasi	Hasil
Setiyorini et al (2022) Elsevier (Setiyorini et al., 2022)	Chitosan dan Cr ⁶⁺	Metode yang digunakan untuk memproduksi kitosan adalah dengan memasukkan kulit keping yang telah dihancurkan pada <i>microwave</i> dengan daya 720 watt dan waktu 90 menit. Produk kitosan akan diuji in – vivo, pengukuran berat, radiografi, dan pengukuran konsentrasi kromium.	Hasil dari penelitian ini adalah kitosan yang dihasilkan memiliki berat molekul 385 Da. Selain itu kitosan ini sukses digunakan sebagai agen terapi untuk penyerapan ion Cr ⁶⁺ pada tubuh tikus putih serta kitosan ini juga mempercepat proses penyembuhan. Dengan berat molekulnya yang rendah, kitosan ini dapat menjadi bahan yang menjanjikan pada dunia kedokteran.
Fang et al (2019) <i>Journal of Orthopaedic Surgery and Research</i> (Fang et al., 2019)	<i>Tri-calcium phosphate</i> , PMMA dan chitosan	Komposisi fisiologis, yaitu, 65% berat komponen anorganik dan 35% berat organik, dari kandungan tri-kalsium fosfat dan kitosan dipilih sebagai aditif yang dapat terdegradasi untuk menggantikan semen tulang akrilik.	Tes proliferasi sel menunjukkan bahwa semen tulang bio-komposit adalah non-sitotoksik, dan tes in vivo mengungkapkan bahwa lebih banyak osteo-konduktif.

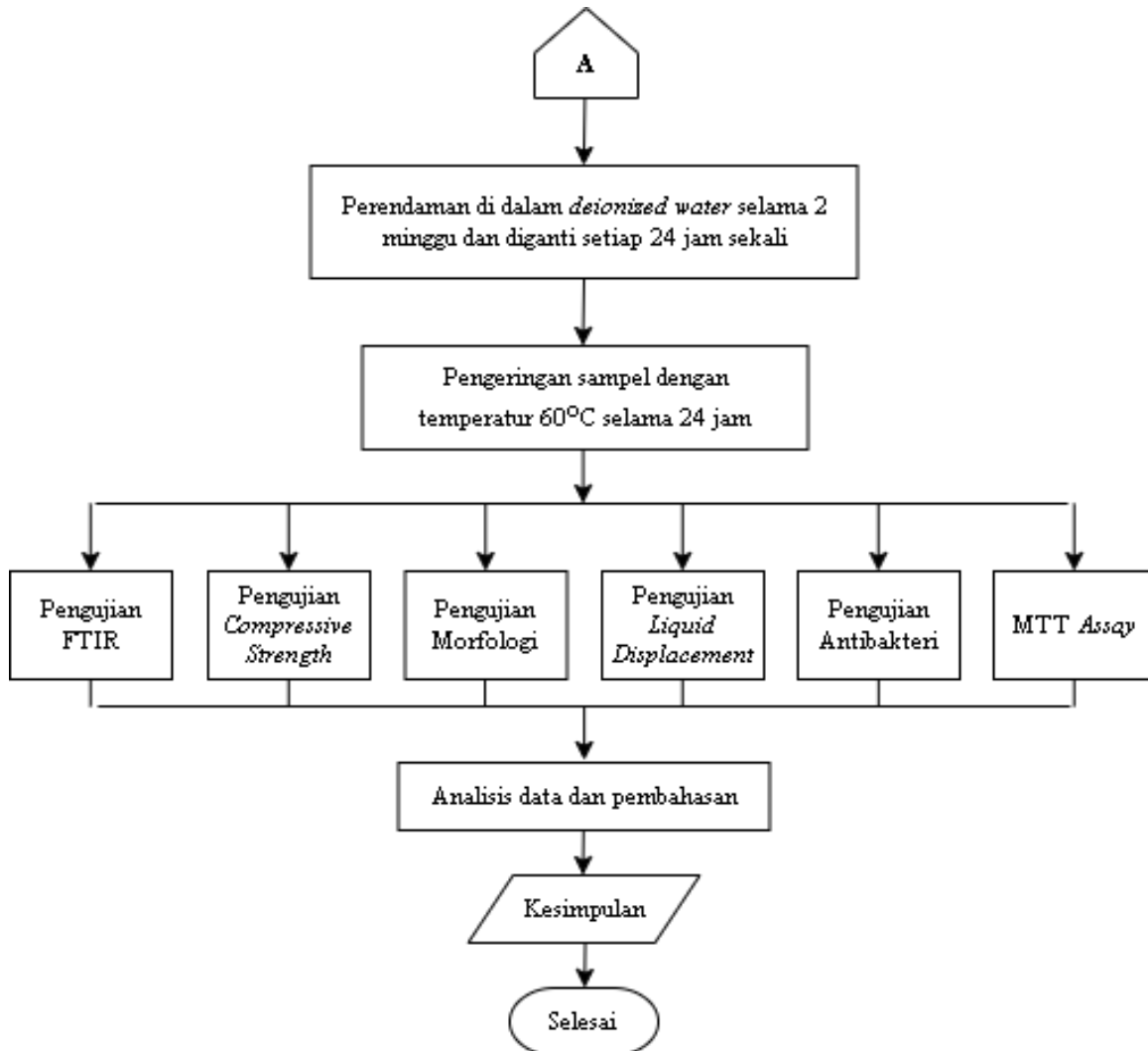


BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Diagram Alir

Adapun diagram alir pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3.1 sebagai berikut :





Gambar 3. 1 Diagram alir fabrikasi *scaffold*

3.2 Metode Penelitian

Metode yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Studi literatur

Pada tahapan ini dilakukan pencarian tinjauan melalui buku, jurnal, paper, paten maupun penelitian yang serupa mengenai *scaffold bone graft* berbahan dasar hidroksiapatit dengan campuran *poly(methyl methacrylate)* (PMMA) serta kitosan dengan metode *solvent casting particulate leaching*.

2. Diskusi

Tahapan ini dilakukan dalam upaya memperluas wawasan mengenai permasalahan dan menemukan solusi pada penelitian yang akan dilakukan, diskusi dilakukan bersama pihak yang bersangkutan dengan penelitian ini.

3. Eksperimental

Metode penelitian ini dilakukan dengan prosedur sintesis hidroksiapatit dari tulang sapi menggunakan *microwave* yang akan dilanjutkan dengan pembuatan campuran dari hidroksiapatit, PMMA, dan kitosan. *Scaffold* yang terbentuk akan diuji anti bakteri, FTIR, analisis morfologi menggunakan *Stereo Microscope*, *liquid displacement test*, *compressive strength*, dan *MTT assay*.

3.2.1 Preparasi Scaffold

Adapun langkah-langkah dalam pembuatan scaffold yaitu :

1. Bubuk HAp, kitosan dan bubuk PMMA dicampur sesuai rasio, selanjutnya ditambahkan monomer MMA sebanyak 1,52gr/ml dan ditambahkan partikel NaCl sebagai porogen, selanjutnya diaduk dengan kecepatan 600 rpm selama 2 menit.
2. Campuran dibuat dengan berbagai variasi penambahan kitosan yaitu 2,4,6 wt% dengan tetap mempertahankan perbandingan HAp/Cs:PMMA yaitu 70:30
3. Campuran dituangkan ke dalam cetakan *silicone rubber* dan dikeringkan dalam *muffle furnace* pada temperatur 60°C selama 24 jam.
4. Sampel dilepas dari cetakan kemudian direndam dalam *deionized water* untuk menghilangkan porogen selama 2 hari dan *deionized water* diganti setiap 12 jam sekali, kemudian dikeringkan pada temperatur 60°C selama 24 jam.
5. Sampel dilakukan *crosslinking* dengan dicelupkan dalam 0,2 w/v% glutaraldehid selama 4 jam, selanjutnya sampel direndam kembali dalam *deionized water* selama 2 minggu dan diganti setiap 24 jam sekali untuk menghilangkan sisa glutaraldehid yang tidak berikatan.
6. Selanjutnya sampel dikeringkan pada temperatur 60°C selama 24 jam.
7. *Scaffold* yang sudah terbentuk dilakukan beberapa pengujian untuk mengetahui morfologi, sifat mekanik dan biokompabilitasnya, yaitu dengan analisis morfologi menggunakan *Stereo Microscope*, uji FTIR, uji *compressive strength*, *liquid displacement test*, uji anti bakteri, dan *MTT assay*.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat Penelitian

1. *Magnetic stirrer*
Magnetic stirrer digunakan untuk mengaduk larutan secara otomatis sampai homogen.
2. Pipet tetes
Pipet tetes digunakan untuk mengambil larutan kimia dari wadah ke dalam *beaker glass*.
3. Spatula
Spatula digunakan untk mengambil bahan padat atau bubuk.
4. Gelas ukur
Gelas ukur digunakan untuk mengukur volume larutan.
5. Timbangan digital.
Timbangan digital digunakan untuk menimbang berat padatan.
6. *Muffle furnace*
Muffle furnace digunakan untuk mengeringkan tulang sapi sebagai pengganti matahari dan *scaffold*.
7. *Microwave*
Microwave digunakan untuk mensintesis bubuk *bovine hydroxyapatite* dan untuk mengeringkan *crucible*.
8. *Crucible*
Crucible digunakan sebagai wadah sintesis bubuk *bovine hydroxyapatite* didalam *microwave*.
9. Mesin crusher sentrifugal
Mesin crusher sentrifugal digunakan untuk menghaluskan tulang sapi menjadi bubuk.
10. *Beaker glass*
Beaker glass digunakan sebagai wadah pencampuran bahan utama.
11. *Sieve shaker machine dan Sieving*

Sieve shaker machine digunakan untuk memisahkan bubuk *bovine hydroxyapatite* dengan berbagai ukuran.

12. Gerinda tangan
Gerinda tangan digunakan untuk memperkecil ukuran tulang sapi agar cepat kering dan mudah diproses.
13. Cawan petri
Cawan petri digunakan sebagai wadah untuk uji dengan bakteri maupun sel.
14. Pinset
Pinset digunakan untuk mengambil *scaffold* dari larutan glutaraldehid (GTA).
15. Cetakan
Cetakan digunakan sebagai cetakan campuran sampai tersolidifikasi terbuat dari *silicone rubber* dan katalis.

3.3.2 Bahan Penelitian

1. *Bovine hydroxyapatite* (BHA)
BHA diperoleh dari sintesis tulang femur sapi menggunakan bantuan *microwave* pada daya 800 watt dengan waktu 70 menit dan digunakan sebagai bahan baku pembuatan *scaffold*.
2. Kitosan
Kitosan yang digunakan memiliki berat molekul rata-rata yaitu 385Da yang berukuran nanopartikel yang diproduksi di Laboratorium Pengolahan Mineral dan Material ITS dan digunakan sebagai campuran pembuatan *scaffold*.
3. *Poly(methyl methacrylate)* (PMMA)
Polimer untuk bahan tambahan pembuatan *scaffold* sebagai matriks yang dibeli di Sigma aldrich.
4. Monomer *methyl metacrylate*
Monomer MMA yang digunakan memiliki Mw 100,12 g/mol, mengandung ≤ 30 ppm MEHQ sebagai inhibitor.
5. Air deionized
Air deionized digunakan untuk mencuci *scaffold* setelah proses *crosslinking* oleh *glutaraldehyde* dan sebagai pencuci *scaffold* saat melakukan proses *particulate leaching*.
6. NaCl
NaCl digunakan sebagai porogen untuk membuat pori pada *scaffold*. NaCl yang digunakan memiliki ukuran 200-300 μm yang dibeli dari toko kimia rajawali Surabaya.
7. *Glutaraldehyde*
Glutaraldehyde digunakan sebagai agen *crosslinker*.

3.4 Pengujian

3.4.1 Pengujian Morfologi

Pengujian morfologi *scaffold bone graft* yang sudah berhasil di fabrikasi menggunakan alat berupa mikroskop stereo. Mikroskop stereo adalah jenis mikroskop yang paling sederhana dan digunakan lebih sedikit daripada jenis mikroskop lainnya. Berbagai panjang gelombang cahaya dapat memberikan pendaran atau fluoresensi dalam sampel, yang kemudian dapat dilihat dengan mikroskop stereo. Pada tingkat perbesaran yang ditemukan di mikroskop stereo (biasanya antara 2.5X dan sekitar 100X), analisis sebenarnya adalah deteksi atau pengujian dugaan. Fotografi dan videografi relatif mudah dengan mikroskop stereo. Instrumen digital camera kecil dan murah sekarang tersedia untuk digunakan di lapangan dan laboratorium.

Mikroskop stereo mengarahkan cahaya ke setiap mata dari dua jalur cahaya independen. Karena cahaya dari satu titik pada sampel bergerak secara independen melalui dua jalur berbeda

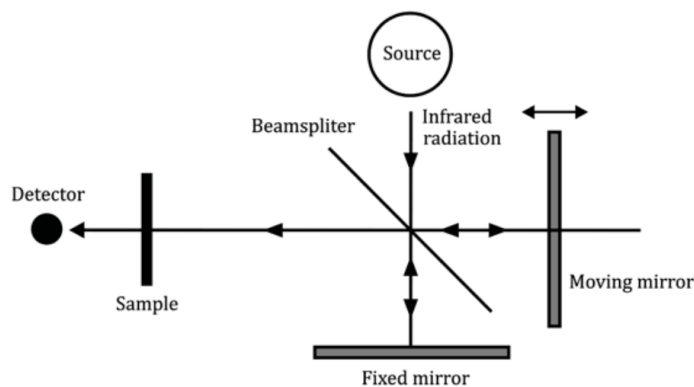
untuk mencapai setiap mata, sampel tampak tiga dimensi. Mikroskop stereo biasanya menggunakan cahaya yang dipantulkan dari sampel. Ini membuat mikroskop stereo berguna untuk melihat sampel yang terlalu tebal untuk dilewati cahaya. Kekuatan perbesaran mikroskop stereo seringkali lebih kecil daripada mikroskop majemuk. Lensa okuler dari mikroskop stereo biasanya difiksasi pada 10x dan lensa objektif biasanya berkisar dari 0,1 hingga 8x. Oleh karena itu, mikroskop stereo berguna untuk memeriksa struktur yang kasar. Gambar 3.2 merupakan alat mikroskop stereo



Gambar 3. 2 Mikroskop stereo

3.4.2 Pengujian Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

FTIR merupakan alat analisis kualitatif yang berfungsi untuk menganalisis ikatan kimia dan gugus fungsi dari spektra vibrasi suatu senyawa dengan panjang gelombang tertentu. FTIR dapat digunakan untuk mengidentifikasi material yang belum diketahui informasinya, menganalisis kualitas sampel, dan mengetahui jumlah komponen dalam suatu campuran. Salah satu radiasi gelombang yang digunakan pada FTIR adalah radiasi pancaran infra merah. Pada spektroskopi infra merah, sampel akan dipancarkan dengan radiasi infra merah. Prinsip kerja FTIR secara umum yaitu dengan memancarkan radiasi infra merah dari interferometer melalui sampel. Sebagian besar radiasi infra merah akan diserap dan sebagian lainnya akan ditransmisikan. Hasilnya akan ditangkap oleh detektor dan diubah menjadi spektrum oleh Interferogram. Hal tersebut menggambarkan penyerapan molekul dan transmisi yang mengindikasikan ciri khas suatu sampel. Tidak ada dua molekul yang memiliki hasil spektrum infra merah yang sama. Sehingga spektroskopi infra merah dinilai sangat berguna untuk menganalisis material. Prinsip kerja FTIR dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3. 3 Prinsip kerja FTIR

Pengujian gugus fungsi dilakukan pada bahan penyusun *bone graft* dan pada *scaffold* yang sudah terbentuk. FTIR dilakukan dengan alat Nicolet iS10 dengan region mid infrared

(MIR) yaitu $4000-400\text{ cm}^{-1}$, MIR seringkali digunakan untuk analisis klinis dan biomedis. Hasil FTIR berupa grafik transmitansi vs bilangan gelombang atau absorbansi vs bilangan gelombang, yang kemudian akan dibandingkan dengan data puncak transmitansi ataupun absorbansi yang sudah menjadi standar struktur molekul sebelumnya.

Menafsirkan spektrum FTIR dimulai dari ujung frekuensi tertinggi untuk mengidentifikasi kelompok fungsional yang ada. Daerah sidik jari kemudian dipelajari untuk mengidentifikasi senyawa yang ada secara pasti. Daerah Mid-IR *spectrum* dibagi menjadi 4, yaitu daerah ikatan tunggal ($2500-4000\text{ cm}^{-1}$), daerah ikatan rangkap tiga ($2000-2500\text{ cm}^{-1}$), daerah ikatan rangkap dua ($1500-2000\text{ cm}^{-1}$) dan daerah *fingerprint* ($600-1500\text{ cm}^{-1}$) (Nandiyanto et al., 2019)

3.4.3 Pengujian Anti Bakteri

Pengujian ini dilakukan untuk menganalisis sifat *antibacterial* dari *bone graft/scaffold* yang dihasilkan untuk menghindari risiko infeksi setelah implantasi *scaffold* yang dapat menggagalkan penyembuhan tulang hingga menyebabkan kematian. Pengujian dilakukan dengan metode *spread plate* dengan menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dibiarkan di media NA (Nutrien Agar) pada cawan petri dengan metode sumuran (Ghosh et al., 2021). Pengujian ini dilakukan di Laboratorium *Research Center* FKG Unair. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali repetisi setiap variasi.

3.4.3.1 Alat dan bahan

Pengujian ini menggunakan alat dan bahan antara lain :

1. Bahan :
 - a. Biakan murni *Staphylococcus Aureus*
 - b. *Scaffold* HAp/Cs/PMMA
 - c. *Brain Heart Infusion Broth*
 - d. Standar McFarland 0,5
2. Alat :
 - a. Inkubator
 - b. Ring steril
 - c. Jarum ose
 - d. Spreader
 - e. Micropipet
 - f. Cawan petri
 - g. Bunsen
 - h. Tabung reaksi 10 ml
 - i. Rak tabung
 - j. Korek api

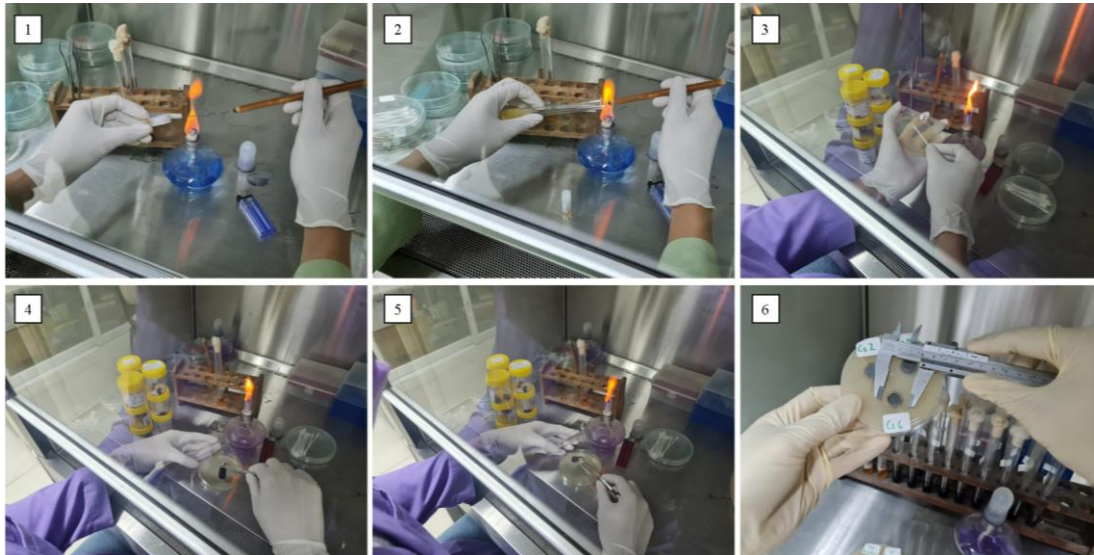
3.4.3.2 Prosedur pengujian

Berikut merupakan prosedur pengujian bakteri :

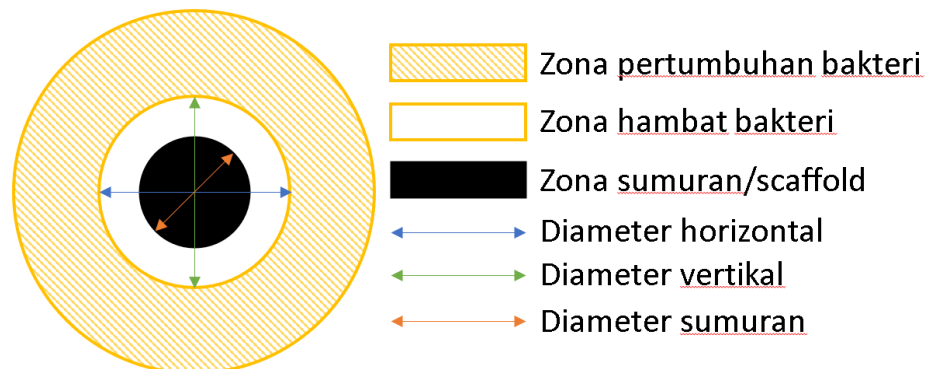
1. Stok bakteri ditanam dengan osse steril pada media *Brain Heart Infusion Broth* kemudian diinkubasi selama 48 jam.
2. Kekерuhan bakteri diamati, kemudian distandarkan dengan Standar McFarland 0,5.
3. Bakteri ditanam pada media agar muller hinton dengan teknik *spreading*
4. Sumuran dibuat pada media agar dengan dilubangi menggunakan ring steril sesuai dengan ukuran *scaffold*.
5. Perlakuan sampel uji diberikan dengan memasukkan sampel pada lubang sumuran kemudian diinkubasi selama 48 jam.

6. Diameter zona jernih yang timbul di sekitar sampel uji diamati dan diukur sesuai dengan ketentuan Gambar 3.5 dan Persamaan (3.1).

Gambar 3.4 dibawah ini merupakan prosedur dari pengujian anti bakteri dan Gambar 3.5 cara perhitungan diameter zona hambat anti bakteri



Gambar 3. 4 Prosedur Pengujian Anti bakteri



Gambar 3. 5 Cara menghitung diameter zona hambat untuk anti bakteri

Diameter zona hambat dapat ditentukan menggunakan Persamaan (3.1), Dimana D_v adalah diameter vertikal, D_h adalah diameter horizontal dan D_s adalah diameter sumuran. Satuan diameter dalam milimeter (mm).

$$D_{\text{zona hambat}} = \frac{(D_v - D_s) + (D_h - D_s)}{2} \quad (3.1)$$

Setelah dilakukan perhitungan diameter zona hambat, maka bisa diklasifikasikan sesuai Tabel 3.1 dibawah ini.

Tabel 3. 1 Kategori diameter zona hambat untuk anti bakteri (Puguh et al., 2015)

<u>Diameter</u>	<u>Kekuatan Daya Hambat</u>
$\leq 5\text{mm}$	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
$\geq 21\text{ mm}$	Sangat Kuat

3.4.4 Pengujian *Liquid Displacement*

Pengujian porositas dilakukan untuk menghitung persentase *porous* yang terbentuk pada sampel yaitu menggunakan pengujian *liquid displacement*/perpindahan cairan, LDT merupakan salah satu pengujian NDT. Porositas media berpori menggambarkan fraksi ruang hampa dalam scaffold, dimana rongga tersebut dapat berisi udara atau air. Porositas didefinisikan sebagai rasio volume rongga yang dinyatakan sebagai persentase dari total (bulk) volume scaffold, termasuk komponen padat dan rongga. Porositas dihitung dari rumus turunan pada persamaan (3.2).

$$N = \left(1 - \frac{\rho_d}{\rho_u}\right) \quad (3.2)$$

Dimana, N adalah porositas dalam persen (%), ρ_d adalah *bulk density* dari sampel kering dan ρ_u adalah *particle density*. Bulk density dapat ditentukan dari sampel *scaffold* dengan metode stereometri (Šperl & Trčková, 2008).

Volume sampel ditentukan oleh perbedaan antara massa sampel di udara dan sampel yang sama yang terendam dalam cairan. *Particle density* (ρ_u) sampel dihitung menurut persamaan (3.3).

$$\rho_u = \left(\frac{m_u}{m_u - m_s} \rho_w\right) \quad (3.3)$$

Dimana, ρ_w adalah density dari cairan, m_u adalah massa sampel di udara dan m_s adalah massa sampel di dalam cairan (Rabier et al., 2006).

3.4.5 Pengujian *Compressive Strength*

Uji kuat tekan dilakukan untuk mengetahui kuat tekan yang mampu diberikan pada sampel *bonegraft*. Pengujian *compressive strength* dilakukan menggunakan *universal testing machine* (UH-600kNI) Shimadzu di Laboratorium Uji Bahan PPNS dan menggunakan standar ASTM D695 dengan kecepatan uji, yaitu 1,3 mm/min sebelum *yield* dan 5 mm/min setelah *yield*. Sampel dipreparasi sesuai standar ASTM D 695 yaitu berbentuk tabung berdiameter 12,7 mm dan panjang 25,4 mm. Sisi dari *bonegraft* diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui diameternya. Setelah itu sampel dengan berbagai rasio komposisi secara bergantian diletakkan pada *material testing machine* untuk dilakukan penekanan hingga sampel hancur. Dari uji kuat tekan ini, hasil yang didapatkan berupa besarnya beban (F) yang digunakan untuk menekan sampel hingga hancur.

3.4.6 MTT Assay

Uji MTT assay atau uji sitotoksitas bertujuan untuk mengukur seberapa toksik *scaffold* terhadap sel tubuh. Pengujian ini dilakukan di Pusat Veteriner Farma, menggunakan sel fibroblas BHK-21 yang di distribusikan ke 96 *well-plate*. Alat yang digunakan dalam pengujian ini adalah ELISA reader. Prinsip kerja alat tersebut adalah menerjemahkan tingkat absorbansi tetrazolium sebagai hasil dari respirasi sel yang bereaksi dengan reagen MTT dengan parameter utama yakni intensitas warna ungu yang muncul. Dari pengujian ini akan didapatkan persentase sel hidup yang merepresentasikan sifat toksisitas suatu material.

3.4.6.1 Persiapan Kultur Sel

Berikut adalah langkah-langkah persiapan kultur sel fibroblas:

1. Sel fibroblas BHK-21 yang telah disimpan pada temperatur -80°C dicairkan dengan menggosok-gosokkan tabung *flash nunc* (tempat sel disimpan) dengan telapak tangan.

2. Setelah mencair, kultur sel diendapkan dengan cara diputar dengan centrifuge 1500 rpm selama 5 menit.
3. Endapan sel diambil dan disuspensikan dengan media *Eagle's MEM* yang mengandung *fetal bovine serum* 10% yang kemudian ditanam di dalam botol Roux.
4. Larutan Hepes diberikan untuk mempertahankan pH media dan kultur agar tetap netral pada nilai 7,2.
5. Kultur sel fibroblas BHK-21 diinkubasi pada temperatur 37°C selama satu minggu untuk mendapatkan kultur sel yang optimal dan terdistribusi merata pada media kultur.

3.4.6.2 Pembagian Kultur Sel

Adapun langkah-langkah pembagian kultur fibroblas adalah:

1. Media kultur dibuang apabila kultur sel di dalam botol Roux telah penuh.
2. Kultur sel dicuci dengan larutan PBS sebanyak 3 kali untuk merontokkan sel.
3. Kultur sel diberi larutan *Trypsin versene* 0,25% sebanyak 0,04 mL.
4. Kultur sel diinkubasi selama 3 menit.
5. Kultur sel ditambahkan media kultur sebanyak 10 mL.
6. Kultur sel dibagi ke dalam *Tissue Culture Plate (microplate)* 96 well.
7. Kultur sel diinkubator selama 24 jam pada temperatur 37°C.

3.4.6.3 Perlakuan Kultur Sel

Berikut adalah langkah-langkah pengujian dengan kultur sel fibroblas:

1. *Tissue Cultur Plate (microplate)* dikeluarkan dari inkubator dan diletakkan ke dalam *laminar flow* untuk dilakukan perlakuan uji.
2. Media yang ada di dalam *well* dibuang dengan pipet dan dicuci dengan PBS sebanyak 5 kali untuk membersihkan sisa hasil metabolisme dari sel yang menempel dari *well*.
3. Sampel *bone graft* dimasukkan ke dalam *microplate* sesuai dengan *well* yang ditentukan.
4. *Microplate* diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C untuk memulihkan kondisi sel.
5. Kultur sel dikeluarkan dan diamati dari inkubator setelah 24 jam. (Gunakan kultur sel dalam kondisi 80% kofluen untuk dipanen).
6. Media sel dibuang dengan membalikkan *plate* 180° di atas tempat buangan dengan jarak 15 cm, kemudian tekan *plate* secara perlahan diatas kertas tisu untuk menyerap sisa cairan.
7. 100 µL PBS dimasukkan ke dalam semua *well* yang terisi sel, kemudian PBS dibuang dengan membalik *plate* seperti langkah nomor 6.
8. Reagen MTT disiapkan untuk pengujian sebanyak 0,5 mg/mL, dengan 1 mL MTT dan PBS (5 mg/mL) dan diencerkan dengan media kultur dari 10 mL untuk 1 buah 96-well *plate*. (Gunakan sarung tangan, MTT bersifat karsinogenik).
9. Media sel dibuang, kemudian dicuci dengan PBS sebanyak 1 kali, dan ditambahkan reagen MTT 100 µL ke dalam setiap *well*, termasuk media kontrol tanpa sel. Sel diinkubasi selama 4 jam dalam inkubator CO₂ sampai terbentuk formazan.
10. Kondisi sel diperiksa dengan mikroskop inverted. Jika formazan terbentuk, stopper 100 µL SDS 10% ditambahkan dalam 1 N HCl.
11. Instrumen uji ELISA reader disiapkan, plate yang tertutup dimasukkan ke dalam ELISA reader. Absorbansi masing-masing well pada $\lambda = 550-600$ nm dibaca dan dianalisis. (Pastikan posisi ELISA reader tidak terbalik)
12. Instrumen uji ELISA reader dimatikan, data hasil pengujian dapat dianalisis.

6.5.6.4 Perhitungan Sitotoksitas

Setelah mendapatkan nilai absorbansi masing-masing *well*. Nilai *cell viability* dapat dihitung menggunakan persamaan (3.4) dibawah ini :

$$Cell\ viability\ (\%) = \frac{(absorbansi\ perlakuan - absorbansi\ kontrol\ media)}{(absorbansi\ kontrol\ sel - absorbansi\ kontrol\ media)} \times 100 \quad (3.4)$$

Kemudian setelah di dapatkan nilai *cell viability*, sifat toxic bisa di kategorikan menurut pembagian pada Tabel 3.2 dibawah ini.

Tabel 3. 2 Kategori sifat toxic material ditinjau dari persentase sel yang hidup pada uji MTT (Dahl et al., 2006)

Kategori	Cell viability (%)
<i>Non cytotoxic</i>	>90%
<i>Slightly cytotoxic</i>	60-90%
<i>Moderately cytotoxic</i>	30-59%
<i>Strongly cytotoxic</i>	<30%

3.5 Rancangan Penelitian

Dalam pengerjaan penelitian ini dilakukan rancangan pengujian sampel yang ditunjukkan pada Tabel 3.3 dan variabel penelitian ditunjukkan pada Tabel 3.4.

Tabel 3. 3 Rancangan penelitian

No	Perlakuan	Analisis Morfologi	Pengujian FTIR	Pengujian Tekan	Pengujian Liquid Displacement	Pengujian Anti bakteri	MTT Assay
1	Cs2HAp68	√	√	√	√	√	√
2	Cs4HAp66	√	√	√	√	√	√
3	Cs6HAp64	√	√	√	√	√	√

Tabel 3. 4 Variabel penelitian

Kode Sampel	Hidroksiapatit (wt%)	Chitosan (wt%)	PMMA (wt%)	NaCl (wt% dari PMMA)	GTA crosslinking (%)
Cs2HAp68	68	2	30	70	0,2
Cs4HAp66	66	4	30	70	0,2
Cs6HAp64	64	6	30	70	0,2

3.6 Jadwal Penelitian

Penelitian dilakukan selama 16 minggu dengan pembagian waktu seperti pada Tabel 3.5.

Tabel 3. 5 Jadwal penelitian

Kegiatan	Maret				April				Mei				Juni			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Studi Literatur																
Asistensi																
Penyusunan Laporan																
Persiapan alat dan bahan																
Preparasi Scaffold																
Analisis morfologi dengan <i>Stereo Microscope</i>																
Pengujian FTIR																
Pengujian <i>Compressive Strength</i>																
Pengujian <i>Liquid Displacement</i>																
Pengujian Anti bakteri																
MTT Assay																
Analisa data dan Pembahasan																

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

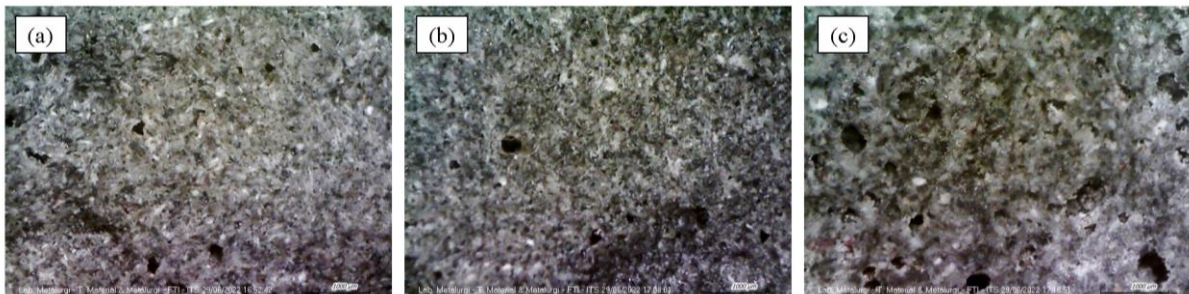
4.1 Hasil

1.1.1 Hasil Analisis *Morfologi*

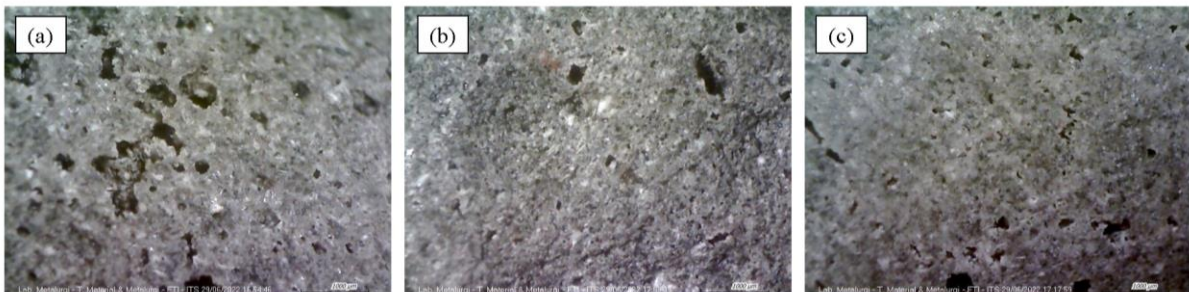
Analisis menggunakan *stereo microscope* dilakukan untuk mengetahui informasi terkait morfologi *scaffold bone graft* yang sudah difabrikasi dan dibantu oleh *digital camera* yang tersambung dari *stereo microscope* ke laptop. Pengujian ini dilakukan sebagai alternatif dari pengujian SEM. Pengujian dilakukan untuk melihat morfologi mulai dari bagian *cross section*, tampak atas dan tampak samping dari *scaffold* masing-masing variasi.



Gambar 4. 1 Hasil *stereo microscope scaffold bone graft* tampak *cross section* variasi (a) Cs2HAp68 (b) Cs4HAp66 (c) Cs6HAp64



Gambar 4. 2 Hasil *stereo microscope scaffold bone graft* tampak atas variasi (a) Cs2HAp68 (b) Cs4HAp66 (c) Cs6HAp64



Gambar 4. 3 Hasil *stereo microscope scaffold bone graft* tampak samping variasi (a) Cs2HAp68 (b) Cs4HAp66 (c) Cs6HAp64

Pada Gambar 4.1 dapat dilihat terbentuk pori-pori pada *scaffold* karena NaCl yang dipakai sebagai porogen telah terlarut saat proses *leaching*. Terbukti *deionized water* bekas *leaching* sedikit berwarna keruh dan saat *scaffold* dilakukan pemanasan muncul serbuk putih dengan

tekstur sedikit kasar yang menunjukkan NaCl berhasil keluar dan menguap saat proses *leaching* serta pemanasan dalam *furnace*, sehingga membentuk arsitektur berpori. *Scaffold* yang difabrikasi menunjukkan arsitektur berpori yang kompak dan utuh namun interkonektivitasnya masih medium seperti pada penelitian sebelumnya, tahun 2019 oleh Rahman dkk bahwa hasil SEM untuk *Ha·Coll·Cs-GTA scaffold* menunjukkan struktur berpori yang tidak beraturan dengan interkoneksi sedang di antara pori-pori (medium interconnected) (Rahman et al., 2019). Struktur ini menguntungkan untuk menahan beban karena pori-pori stabil yang saling berhubungan (*interconnected porous*) (H. Y. Huang et al., 2020). Ukuran pori masih belum bisa diketahui, namun secara visual ukurannya tidak jauh berbeda tiap variasi karena menggunakan *porous agent* atau NaCl yang sama. Sedangkan banyaknya pori yang terbentuk terlihat lebih banyak pada variasi *scaffold bone graft Cs6HAp64*, kemudian *Cs4HAp66* dan *Cs2HAp68*. Hal ini dapat terjadi karena adanya perbedaan kandungan penambahan hidroksiapatit, dengan peningkatan kandungan hidroksiapatit ukuran pori makro akan menurun begitupula untuk nilai porositasnya, yaitu terjadi pada variasi *Cs2HAp68* dengan kandungan hidroksiapatit 68% dan variasi *Cs6HAp64* dengan kandungan hidroksiapatit 64% dapat dilihat memiliki ukuran pori yang sedikit lebih besar daripada variasi yang lain dan dari perhitungan nilai porositas juga terbukti bahwa variasi *Cs6HAp64* mempunyai nilai porositas yang paling tinggi daripada sampel yang lain.

Peningkatan kandungan hidroksiapatit lebih dari 70% dalam bubur komposit menyebabkan aglomerasi partikel berlebih yang menyebabkan pori-pori terblokir, hal ini yang menyebabkan ukuran pori rata-rata dan porositas menurun. Ukuran pori makro minimal yang harus dimiliki *scaffold bone graft* yaitu 100 μm , ukuran pori tersebut cukup untuk pertumbuhan sel, migrasi dan transportasi nutrisi yang efisien. Penggabungan hidroksiapatit kurang dari 70% dalam *scaffold bone graft* tidak mempengaruhi ukuran pori, tetapi tekstur permukaan bagian dalam dari dinding pori menjadi lebih kasar, selain itu dengan meningkatnya hidroksiapatit integritas pori berkurang. Ketika kandungan hidroksiapatit mencapai 80%, *scaffold* memiliki kerangka polimer yang rapuh dengan beberapa retakan mikro, menunjukkan stabilitas yang buruk dan kombinasi struktur kontinu yang lemah (Mao et al., 2018; Pasha Mahammod et al., 2019).

Lebih lanjut pada Gambar 4.2 dan Gambar 4.3, yaitu tampak atas dan samping dari *scaffold* yang sudah difabrikasi, morfologi permukaan dari ketiga *scaffold* tersebut tampak kasar, jenis morfologi ini biasanya lebih disukai untuk aplikasi biomedis karena permukaan yang kasar meningkatkan kemampuan ikatan tulang dari biomaterial (Jana et al., 2012). Oleh karena itu, jelas dari hasil analisis *stereo microscope* ini *scaffold bone graft* yang dihasilkan dari proses fabrikasi *solvent casting particulate leaching* berhasil dan cocok untuk digunakan pada aplikasi rekayasa jaringan karena memiliki struktur yang berpori dengan *medium interconnected*, yang dapat mendukung aliran nutrisi yang baik serta pertukaran metabolisme untuk proliferasi sel dan pertumbuhan jaringan baru (Jana et al., 2012; Pasha Mahammod et al., 2019).

1.1.2 Hasil Pengamatan Gugus Fungsi

Pengujian FTIR dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa serta menganalisis gugus fungsi pada semua bahan baku yang digunakan dalam fabrikasi *scaffold*, yaitu hidroksiapatit, kitosan oligosakarida, PMMA bubuk, MMA *liquid*, dan *glutaraldehyde*. Pengujian FTIR juga dilakukan pada sampel *scaffold*, yaitu sampel *Cs2HAp68*, *Cs4HAp66* dan *Cs6HAp64* untuk menganalisis gugus fungsi yang terbentuk setelah proses fabrikasi terjadi. Hasil analisis FTIR dapat dilihat pada Gambar 4.4.

Hasil pengujian FTIR pada bahan baku menunjukkan *peak* yang sesuai dengan hasil FTIR pada senyawa yang sama dari berbagai referensi. Spektrum FTIR dari kitosan oligosakarida

yang digunakan pada penelitian ini menunjukkan beberapa puncak yaitu pada bilangan gelombang 3400-3500 cm^{-1} untuk regangan gugus -OH atau biasa disebut ikatan hidrogen dan NH_2 , pada 1682 cm^{-1} untuk amida I ($\text{C}=\text{O}$ stretching) dan amida II (N-H dengan C-N stretching) pada daerah absorbansi 1600-1410 cm^{-1} . N-O stretching pada 1558 cm^{-1} dan 1539 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 1410 cm^{-1} untuk O-H bending, amida III pada bilangan gelombang 1350 cm^{-1} untuk N-H dan 1020 cm^{-1} untuk C-N bending (Thomas et al., 2012; Winiati et al., 2013).

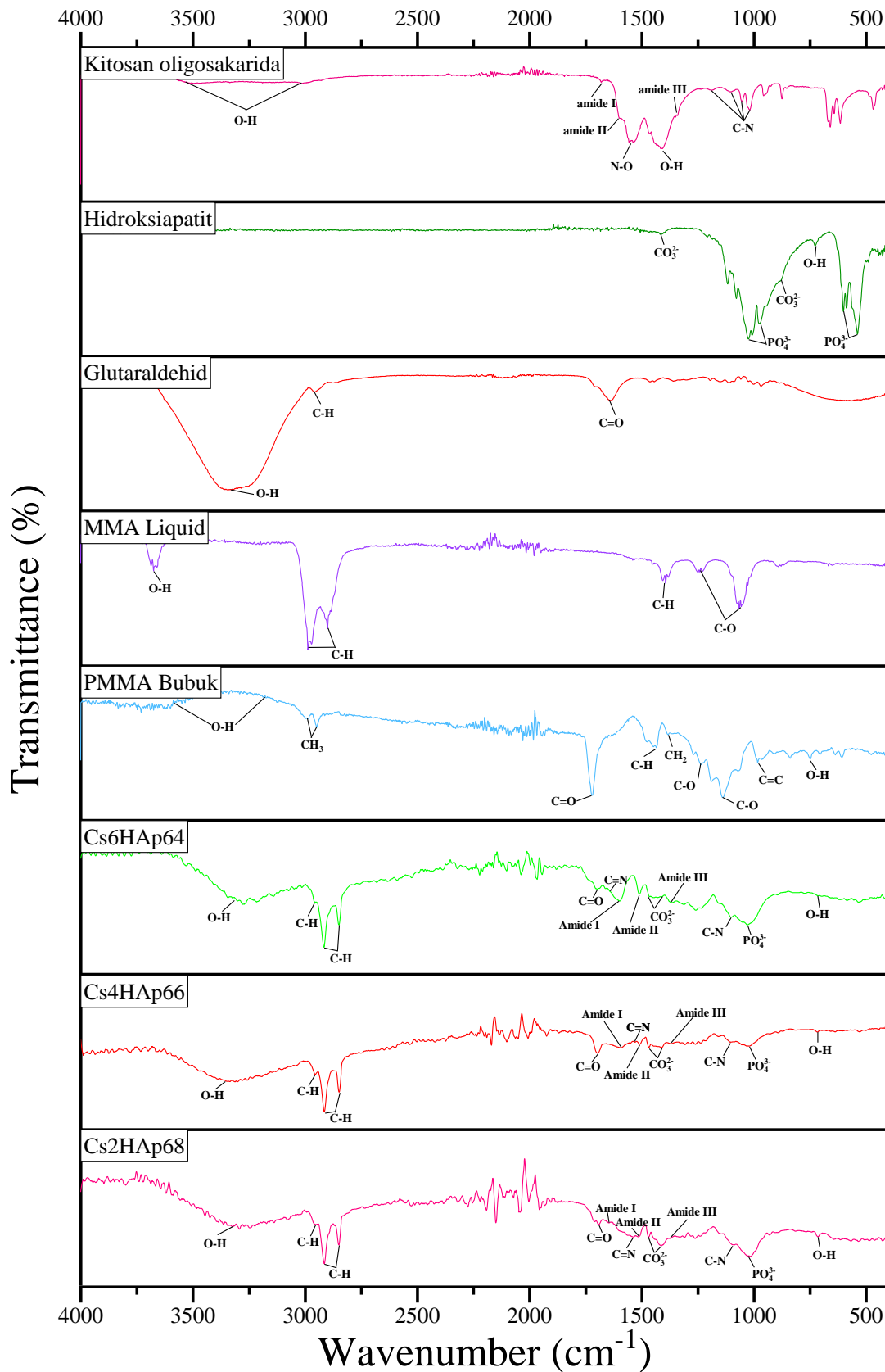
Spektrum FTIR dari *bovine* hidroksiapatit menunjukkan dua puncak yaitu gugus fungsi fosfat (PO_4^{3-}) dan gugus fungsi karbonat (CO_3^{2-}). Gugus fungsi fosfat terletak pada bilangan gelombang 540, 560, 588, 600, 960, 1025 dan 1080 cm^{-1} . Sedangkan gugus fungsi karbonat terletak pada bilangan gelombang 875, 1415 dan 1453 cm^{-1} . Pada *bovine* hidroksiapatit ini gugus fungsi hidroksil yang muncul mempunyai yang kecil yaitu pada bilangan gelombang 732 cm^{-1} dikarenakan proses sintesisnya menggunakan *microwave* yang menghasilkan hidroksiapatit dengan kemurnian tinggi (Kurniawan et al., 2019; Triyono et al., 2020).

Pada *glutaraldehyde* terdapat O-H stretching dari H-bonding pada bilangan gelombang 3350 cm^{-1} , C-H stretching pada bilangan gelombang 2955 cm^{-1} dan C=O stretching pada bilangan 1642 cm^{-1} . MMA liquid memiliki *peak* O-H stretching pada 3674 cm^{-1} , C-H stretching pada 2986 cm^{-1} dan 2900 cm^{-1} , C-H bending pada 1407 cm^{-1} , C-O stretching 1242 cm^{-1} dan 1059 cm^{-1} . Spektrum FTIR bubuk *poly(methyl methacrylate)* memiliki *peak stretch* O-H pada 3567 sampai 3056 cm^{-1} , kemudian pada 2949 dan 2996 cm^{-1} yang ditetapkan untuk puncak vibrasi dari $-\text{CH}_3$ stretching, sedangkan puncak 1730 cm^{-1} disebabkan oleh gugus akrilat karboksil (C=O). Puncak pada 1434 cm^{-1} ditentukan oleh pembengkokan ikatan C-H. Puncak kuat pada 1143 cm^{-1} dikaitkan dengan vibrasi C-O stretching pada gugus C-O-C. Pita FTIR pada 1386 cm^{-1} disebabkan oleh vibrasi tekuk O- CH_3 sedangkan puncak pada 1239 cm^{-1} ditetapkan untuk mode puntiran gugus $-\text{CH}_2$ di PMMA.

Adapun hasil pengujian FTIR sampel *scaffold bone graft* yang sudah berhasil di fabrikasi bisa dilihat pada Gambar 4.4 bagian Cs2HAp68, Cs4HAp66 dan Cs6HAp64. Sampel Cs2HAp68 memiliki *peak* O-H stretching pada 3550 sampai 3050 cm^{-1} , kemudian C-H stretching pada 2961, 2916 dan 2848 cm^{-1} , C=O stretching pada 1688 cm^{-1} , amida I pada 1653 cm^{-1} , amida II pada 1517 cm^{-1} , amida III pada 1369 cm^{-1} , C-N stretching pada 1096 cm^{-1} , C=N/imine bond pada 1542 cm^{-1} . Kemudian gugus karbonat, fosfat dan hidroksil pada 1411 dan 1467 cm^{-1} ; 1015 cm^{-1} dan 711 cm^{-1} . Sampel Cs4HAp66 memiliki *peak* O-H stretching pada 3550 sampai 3050 cm^{-1} , kemudian C-H stretching pada 2961, 2916 dan 2848 cm^{-1} , C=O stretching pada 1699 cm^{-1} , amida I pada 1596 cm^{-1} , amida II pada 1509 cm^{-1} , amida III pada 1364 cm^{-1} , C-N stretching pada 1106 cm^{-1} , C=N/imine bond pada 1532 cm^{-1} . Kemudian gugus karbonat, fosfat dan hidroksil pada 1412 dan 1471 cm^{-1} ; 1019 cm^{-1} dan 719 cm^{-1} . Sampel Cs6HAp64 memiliki *peak* O-H stretching pada 3550 sampai 3050 cm^{-1} , kemudian C-H stretching pada 2961, 2916 dan 2848 cm^{-1} , C=O stretching pada 1702 cm^{-1} , amida I pada 1608 cm^{-1} , amida II pada 1514 cm^{-1} , amida III pada 1372 cm^{-1} , C-N stretching pada 1104 cm^{-1} , C=N/imine bond pada 1640 cm^{-1} . Kemudian gugus karbonat, fosfat dan hidroksil pada 1408 dan 1468 cm^{-1} ; 1028 cm^{-1} dan 715 cm^{-1} .

Penurunan puncak amida II pada panjang gelombang sekitar 1550 cm^{-1} disebabkan oleh reaksi ikatan silang antara glutaraldehid dan kitosan, selain itu peningkatan pada puncak 2900 cm^{-1} yang merupakan puncak karakteristik C-H menunjukkan pengenalan glutaraldehid (Y. Li et al., 2013). Puncak serapan hidroksiapatit tulang sapi sebelum perlakuan menunjukkan serapan dengan puncak yang tajam untuk gugus fungsi fosfat dan karbonat, tetapi setelah terbentuk *scaffold bone graft* baik pada sampel Cs2HAp68, Cs4 maupun Cs6HAp64, puncak serapan dari hidroksiapatit berkurang intensitasnya dan agak melebar/broadening. Hal ini disebabkan karena adanya interaksi antar unsur penyusun *scaffold*, seperti ikatan hidrogen

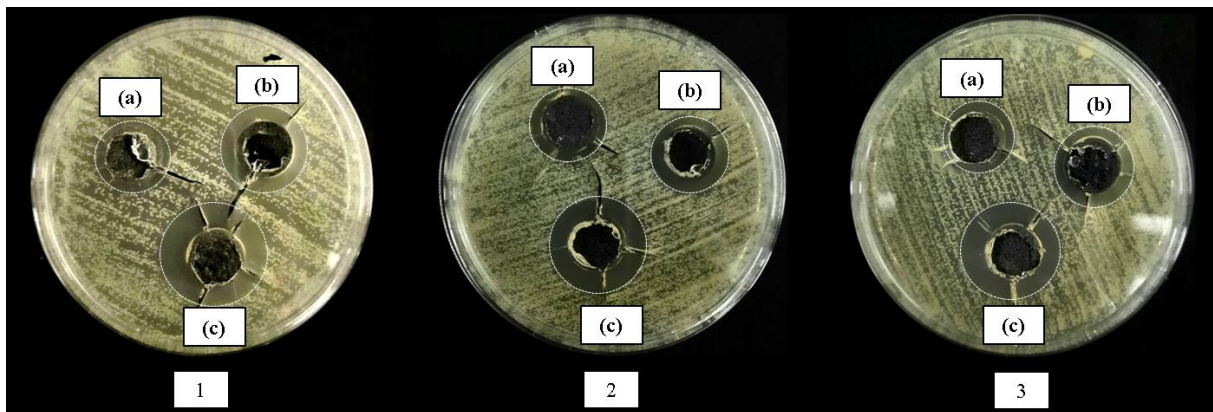
antara kitosan-hidroksiapatit. Gugus $-OH$ dan $-NH_2$ dari kitosan berikatan dengan gugus $-OH$ dari hidroksiapatit (YessyWarastuti et al., 2015)



Gambar 4. 4 Hasil pengujian FTIR bahan baku dan *scaffold* yang berhasil difabrikasi

1.1.3 Hasil Pengujian Anti Bakteri

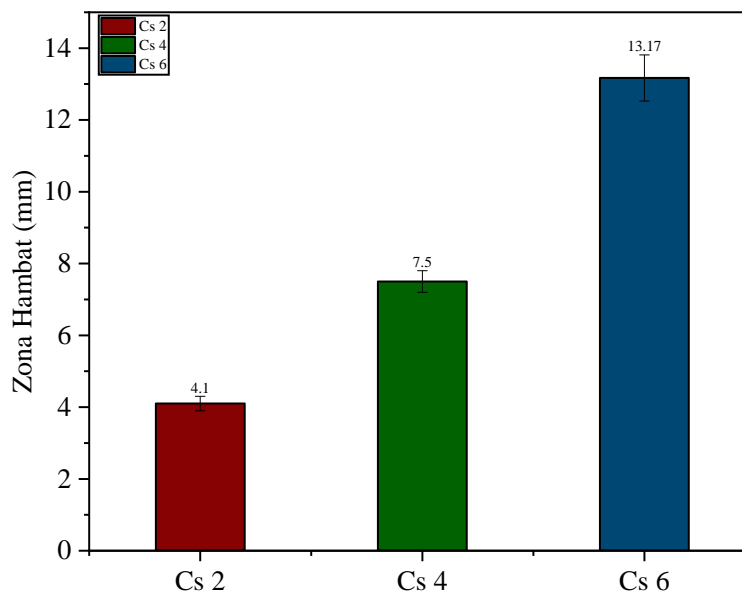
Banyak biomaterial yang ditanamkan menunjukkan kontaminasi bakteri karena prosedur pembedahan, yang mengarah pada respons imunogenik dan akhirnya mengakibatkan penolakan implan. Dengan demikian *scaffold* yang dibuat diharapkan memberikan karakteristik anti bakteri tambahan untuk mencegah proses yang tidak diinginkan dan mengakibatkan kegagalan implan. Pada pengujian aktivitas anti bakteri ini menggunakan bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* dipilih karena banyak terdapat pada pasien yang telah mengalami infeksi pasca implantasi tulang. Hasil pengujian aktivitas anti bakteri yang diinkubasi selama 48 jam menunjukkan variasi nilai diameter tiap perbedaan komposisi kitosan. Diameter zona hambat anti bakteri dihitung dengan persamaan (3.1). Zona hambat anti bakteri berupa zona bening yang ada disekitar daerah sumuran. Hasil pengujian anti bakteri secara visual bisa dilihat pada Gambar 4.5. Dari gambar tersebut bisa diketahui bahwa sampel Cs6HAp64 yang memiliki zona bening lebih besar diikuti dengan sampel Cs4HAp66 dan Cs2HAp68.



Gambar 4. 5 Hasil pengujian anti bakteri secara visual dari 3 kali repetisi (a) Cs2HAp68 (b) Cs4HAp66 (c) Cs6HAp64

Scaffold dengan penambahan presentase kitosan tertinggi memiliki diameter zona hambat terbesar yaitu pada sampel Cs6HAp64 dengan nilai 12,9; 13,9; 12,7 mm dan didapatkan nilai rata-rata yaitu 13,167 mm, kemudian terjadi penurunan diameter zona hambat pada sampel Cs4HAp66 yang memiliki nilai 7,8; 7,5; 7,2 mm dan didapatkan nilai rata-rata yaitu 7,5 mm, dan diameter zona hambat terkecil pada sampel Cs2HAp68 yang memiliki nilai 3,9; 4,1; 4,3 mm dan didapatkan nilai rata-rata diameter sebesar 4,1 mm. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Saxena pada tahun 2021 yaitu kitosan dilaporkan menunjukkan aktivitas anti bakteri pada kandungan yang lebih tinggi (Saxena et al., 2021).

Gambar 4.6 merupakan diagram batang yang merepresentasikan pengaruh kandungan kitosan pada *scaffold bone graft* pada nilai zona hambat



Gambar 4. 6 Pengaruh kandungan kitosan dalam *scaffold bone graft* pada nilai zona hambat dengan 3 kali repetisi

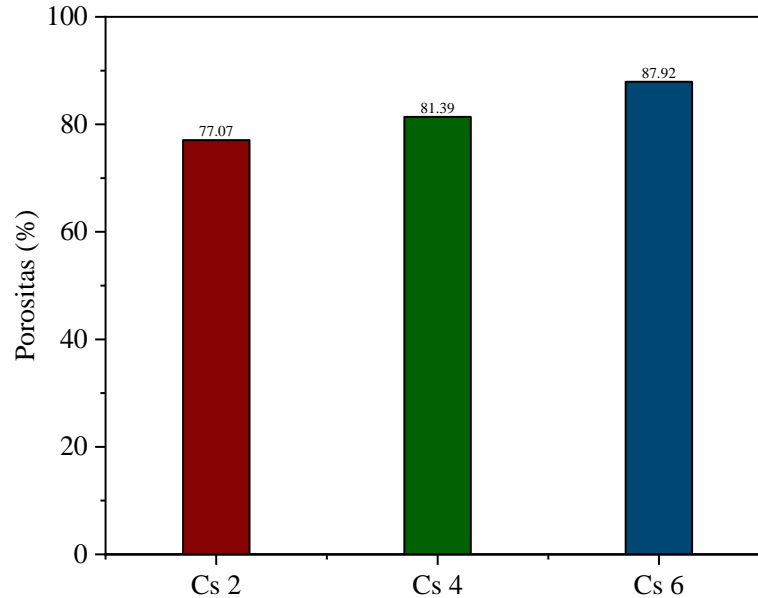
Menurut kategori diameter zona hambat pada Tabel 3.1 maka sampel Cs6HAp64 masuk dalam kategori kuat, Cs4HAp66 masuk dalam kategori sedang dan Cs2HAp68 masuk dalam kategori lemah. Maka dari itu terbukti bahwa penambahan komposisi kitosan berpengaruh pada tingkat proliferasi bakteri *Staphylococcus aureus* (D. Huang et al., 2011). Secara ilmu mikrobiologi pengujian anti bakteri ini dikatakan berhasil karena pada saat dilihat secara visual, semua sampel menghasilkan zona hambat atau zona bening disekitar sampel uji walaupun secara perhitungan sampel Cs2HAp68 yang memiliki komposisi presentase kitosan terendah kategori zona hambatnya masuk dalam rentang yang lemah, ini bisa disebabkan karena *scaffold* melalui proses *leaching* untuk menghilangkan NaCl agar terbentuk pori dan juga *scaffold* dilakukan perendaman selama 2 minggu setelah dilakukan *crosslinking* dengan glutaraldehid tujuannya untuk menghilangkan pengotor atau bahan yang tidak berikatan. Namun bisa saja proses tersebut membuat kitosan terlarut karena sifat kitosan oligosakarida yang dipakai pada penelitian ini mampu larut sempurna dalam air. Maka dari itu zona bening yang terbentuk menjadi lebih kecil dari yang diharapkan.

Maka dapat disimpulkan *scaffold bone graft* yang telah berhasil difabrikasi ini sesuai dengan syarat untuk rekayasa jaringan tulang karena memiliki zona hambat dengan kategori kuat pada sampel Cs6HAp64, diasumsikan bahwa aktivitas anti bakteri kitosan ditentukan oleh derajat protonasi gugus aminonya, yang bervariasi dan bergantung pada berat molekul (Mw) zat maupun pada pH media. Berbagai analisis penelitian menunjukkan bahwa kelarutan dalam air dan aktivitas biologis kitosan dengan berat molekul rendah (oligochitosan), terutama antivirus dan anti bakteri, serta biokompatibilitas, meningkat dengan penurunan berat molekul dibandingkan dengan kitosan dengan berat molekul yang tinggi (Researcher, 2021).

1.1.4 Hasil Perhitungan Porositas dengan *Liquid Displacement Test*

Scaffold untuk rekayasa jaringan harus memiliki struktur yang sangat berpori, persentase porositas optimal pada *scaffold bone graft* memiliki peran utama dalam proliferasi sel baik secara *in vitro* maupun *in vivo* selama proses osteogenesis, transportasi nutrisi, memfasilitasi migrasi sel, sirkulasi darah dan vaskularisasi. Maka dari itu porositas sangat penting dalam mengevaluasi struktur pori *scaffold*. Porositas yang lebih tinggi lebih menguntungkan secara biologis. Sedangkan, *scaffold* yang padat atau porositasnya rendah memfasilitasi kekuatan

mekanik yang lebih baik untuk kondisi pemuatan (Mao et al., 2018). Perhitungan porositas dihitung dari *liquid displacement test* menggunakan persamaan (3.2) dan (3.3), Diagram batang disajikan pada Gambar 4.7 untuk mengetahui tren dari penambahan kitosan pada porositas *scaffold bone graft*.

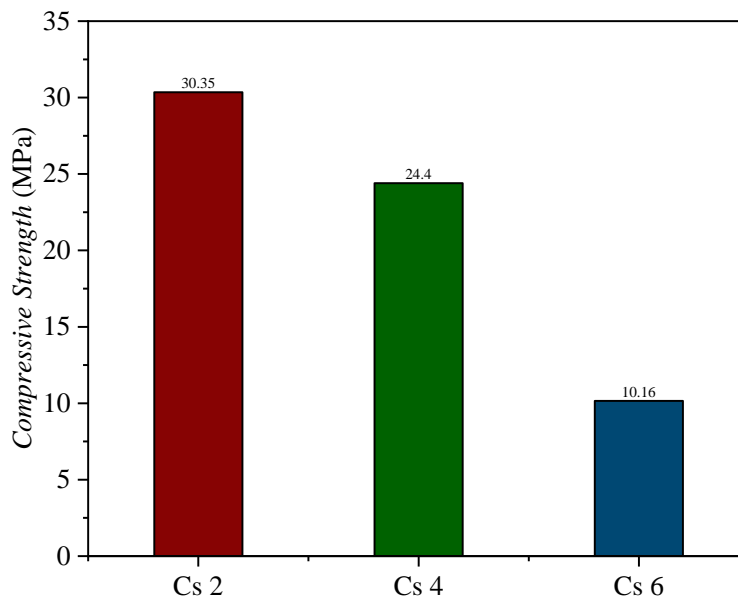


Gambar 4. 7 Efek penambahan kitosan pada nilai porositas *scaffold bone graft*

Porositas dihitung untuk *scaffold* Cs2HAp68, Cs4HAp66 dan Cs6HAp64 ditemukan masing-masing 77,07% ; 81,39% dan 87,92%. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa porositas *scaffold* meningkat dengan meningkatnya kandungan kitosan, namun porositas menurun dengan meningkatnya kandungan hidroksiapatit, yang dapat terjadi karena penyebaran partikel hidroksiapatit yang tidak merata karena penambahan hidroksiapatit yang berlebihan (Deb et al., 2019). Namun, *scaffold* Cs2HAp68, Cs4HAp66 dan Cs6HAp64 memiliki porositas tinggi yaitu lebih dari 75% dan cocok untuk rekayasa jaringan tulang.

1.1.5 Hasil Pengujian *Compressive Strength*

Kekuatan tekan menyatakan tegangan yang dibutuhkan untuk menghancurkan material dalam pengujian tekan. Pengujian ini dilakukan untuk menunjang data sifat mekanik *scaffold* yang sudah dibuat. Pengujian ini dilakukan pada sampel *scaffold* Cs2HAp68, Cs4HAp66 dan Cs6HAp64. Dari data yang telah didapat, dibuatlah diagram batang hubungan antara variasi *scaffold* dengan nilai *maximum strength* yang ditunjukkan pada Gambar 4.8. Berdasarkan diagram batang ini Cs2HAp68 dengan komposisi HAp:Cs:PMMA yaitu 68:2:30 memiliki nilai uji tekan tertinggi dengan nilai sebesar 30,35 MPa. Dan terjadi penurunan nilai kekuatan tekan menjadi sebesar 24,4 MPa pada sampel Cs4HAp66 dengan komposisi HAp:Cs:PMMA yaitu 66:4:30 dan 10,16 MPa untuk sampel Cs6HAp64 dengan komposisi HAp:Cs:PMMA yaitu 64:6:30. Dari ketiga nilai kuat tekan sampel tersebut masuk dalam range nilai kuat tekan untuk tulang karsinoma yaitu 1,5-45 MPa (Ginebra, 2009).



Gambar 4. 8 Diagram batang pengaruh komposisi HAp/Cs/PMMA terhadap nilai *compressive strength*

Di sisi lain, *scaffold* Cs2HAp68, Cs4HAp66 dan Cs6HAp64 memiliki porositas tinggi yaitu lebih dari 75% dan sesuai dengan penelitian Deb dkk pada tahun 2019 yaitu dengan penambahan hidroksiapatit sebanyak 60 sampai 70% membuat porositas yang memenuhi kebutuhan untuk rekayasa jaringan tulang yang dapat menawarkan ruang yang memadai untuk sejumlah besar sel yang memungkinkan adhesi dan pertumbuhan sel *in vitro* (Deb et al., 2019). Hasil nilai tekan sesuai dengan perhitungan nilai porositas, dimana dengan porositas yang rendah menghasilkan sifat mekanik yang baik, sedangkan jika nilai porositas baik maka akan menurunkan sifat mekaniknya (Deb et al., 2019).

1.1.6 Hasil Pengujian MTT Assay

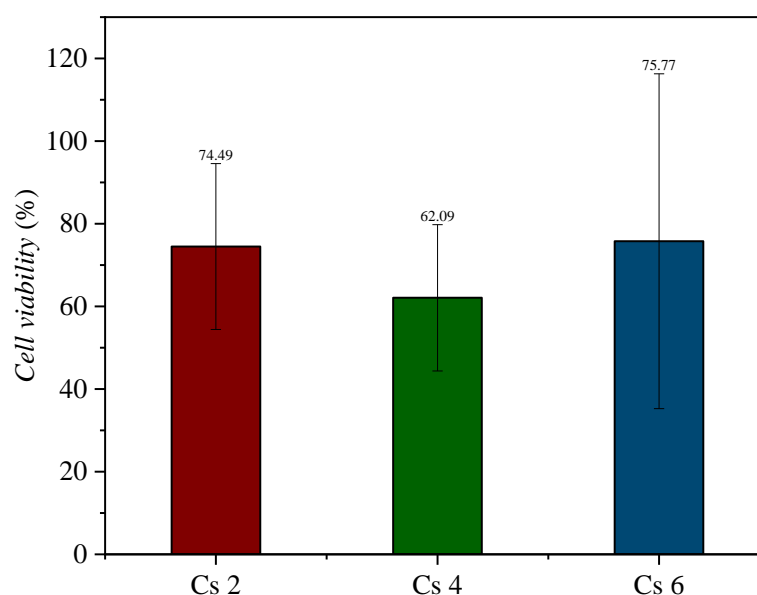
Pengujian MTT assay dilakukan untuk mengukur viabilitas, proliferasi dan aktivitas sel. Dasar uji enzimatik MTT adalah dengan mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel. Sel yang dipakai adalah sel fibroblas yang didistribusikan ke dalam sumuran pada 96-*well plate* dan diinkubasi selama 48 jam. Kemudian absorbansi dibaca dengan ELISA reader pada $\lambda=620$ nm, kemudian dikonversi ke dalam *cell viability* (%) menggunakan persamaan (3.4). Tingkat kekeruhan (*Optical Density*) yang terbaca melalui nilai absorbansi pada masing-masing sampel *scaffold bone graft* dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Nilai *optical density* (OD) yang diperoleh dari pengujian MTT Assay

Variasi	Rata-rata Nilai <i>Optical Density</i> (OD)
Cs2HAp68	0.565
Cs4HAp66	0.485
Cs6HAp64	0.574
Rata-rata Kontrol Sel	0.731
Rata-rata Kontrol Media	0.082

Dari hasil perhitungan *cell viability* untuk sampel Cs2HAp68 dengan 3 repetisi didapatkan nilai sebesar 95,21%; 73,15% dan 55,10%. Kemudian untuk sampel Cs4HAp66 dengan 3 repetisi didapatkan nilai sebesar 42,14%; 68,21% dan 75,93%. Dan untuk sampel Cs6HAp64 dengan 3 repetisi didapatkan nilai sebesar 54,17%; 122,52% dan 50,62%. Kemudian dihitung rata-rata dan didapatkan hasil sebesar 74,49% untuk sampel Cs2HAp68, 62,09% untuk sampel Cs4HAp66 dan 75,77% untuk sampel Cs6HAp64. Dari ketiga nilai *cell viability* tersebut dapat disimpulkan berdasarkan Tabel 3.2 bahwa semua sampel *scaffold* masuk pada kategori *slightly cytotoxic*.

Hasil perhitungan rata-rata viabilitas sel pada *scaffold bone graft* masing-masing variasi disajikan dalam diagram batang dibawah ini.



Gambar 4. 9 Hasil perhitungan rata-rata *cell viability* (%) tiap variasi

1.2 Pembahasan

1.2.1 Efek Rasio Komposisi *Bone Graft* Berbasis Hap/Cs/PMMA pada Sifat Mekanik *Scaffold*

Hidroksiapatit mempunyai kesamaan struktur kimia dengan tulang manusia. Hidroksiapatit mampu menunjukkan daya tarik sangat kuat pada tempat jaringan keras. Namun pada dasarnya hidroksiapatit mempunyai sifat mekanik yang rendah dan cenderung rapuh. Salah satu cara untuk memperbaiki sifat mekanik hidroksiapatit adalah dengan pelapisan logam, komposit dengan polimer maupun komposit dengan keramik (Hengky, 2011). Hasil uji kekuatan tekan menunjukkan penambahan kitosan sebagai polimer dalam *scaffold* ini meningkatkan kekuatan tekan hidroksiapatit, terbukti bahwa hasil pengujian tekan pada semua variasi masuk dalam rentang kuat tekan untuk tulang kancellus yaitu 1,5 sampai 45 MPa (Ginebra, 2009). Hal ini dikarenakan elastisitas yang dimiliki kitosan mampu memperbaiki sifat hidroksiapatit yang rapuh. Namun dengan penambahan kitosan diatas 2% dari total komposisi membuat nilai kuat tekannya menurun. Hal tersebut bisa saja terjadi karena sifat mekanik dipengaruhi banyak faktor. Diantaranya adalah bentuk partikel, ukuran partikel, serta distribusi partikel. Dan bisa saja dalam proses fabrikasi *scaffold* ke dalam *mold*/cetakan masih ada gas yang terperangkap dan membuat pori yang terlalu besar sehingga berpengaruh kepada hasil kuat tekannya (Indriani et al., 2014). Pada penelitian lain, kitosan juga menginduksi pori-pori

untuk osteokonduksi setelah degradasi. Semen tulang berpori memungkinkan pertumbuhan sel ke dalam, meningkatkan kompatibilitas dengan jaringan tulang di sekitarnya, yang diinginkan untuk penjangkaran struktural yang lebih stabil dari semen tulang dengan jaringan sekitarnya (Fang et al., 2019).

Kekuatan tekan juga dipengaruhi oleh interaksi antarmuka antara hidroksiapatit, kitosan dan PMMA. Penurunan kekuatan tekan akibat peningkatan jumlah kitosan dan kemungkinan diakibatkan adanya kitosan yang tidak berinteraksi dengan hidroksiapatit. Hal tersebut seiring dengan penelitian Indriani pada tahun 2014 (Indriani et al., 2014). Dalam penelitian yang dilakukan Deb dkk pada tahun 2019 yaitu membuat *scaffold bone graft* berbahan dasar hidroksiapatit dan PMMA menunjukkan bahwa penambahan hidroksiapatit hingga 70% meningkatkan kekuatan tekan *scaffold*, hal ini terjadi karena dengan bertambahnya jumlah partikel hidroksiapatit maka luas permukaan antara muka matriks hidroksiapatit dan PMMA meningkat. Namun kandungan hidroksiapatit diatas 70% kekuatan tekan akan menurun, dikarenakan nonhomogenitas, aglomerasi partikel hidroksiapatit dan pembasahan hidroksiapatit yang tidak sempurna dalam struktur dan adhesi yang buruk ke matriks PMMA. Titik-titik dimana aglomerasi hidroksiapatit terjadi, bertindak sebagai titik rapuh pada *scaffold* dan dapat dengan mudah pecah ketika beban diterapkan. Aglomerat yang rusak menyebabkan pembentukan *microcracks*, sehingga menurunkan kekuatan tekan *scaffold*. Dalam penelitian tersebut kuat tekan terbaik ada pada HAp 70% yaitu 7,26 MPa (Deb et al., 2019). Penambahan hidroksiapatit dapat meningkatkan sifat mekanik semen tulang dan mengurangi potensi panas berbahaya yang dihasilkan selama polimerisasi semen tulang PMMA [23]; namun, tingkat resorpsi terlalu lambat dalam lingkungan fisiologis dan dengan demikian menghasilkan efek antar permukaan jangka panjang yang tidak diinginkan antara keramik HA dan implan. Banyak penelitian lain dengan bahan dasar *bone graft* yang sama namun memiliki nilai kuat tekan yang sangat rendah, salah satunya penelitian Putri dkk pada tahun 2021 yang menggunakan bahan *chitosan-gelatin- β -tricalcium phosphate* dengan bantuan *crosslinking* menggunakan *glutaraldehyde* untuk komposit *scaffold*, hasil kuat tekannya hanya 1,7 MPa tanpa *crosslinking* GTA dan 3,3 MPa dengan *crosslinking* GTA. Konsentrasi GTA yang dipakai pada penelitian Tansza dkk ini adalah 0,25% sedangkan pada penelitian ini hanya 0,2%, hal ini membuktikan bahan dasar yang dipakai mempunyai keunggulan dikarenakan kandungan hidroksiapatit pada semua variasi tidak lebih dari 68% dan menghasilkan *scaffold* dengan kuat tekan yang masuk dalam *range* nilai tulang kanselus seperti yang sudah dituliskan pada Tabel 2.3 (Putri et al., 2021).

Terjadinya perbedaan pada nilai kuat tekan juga dipengaruhi oleh ikatan yang terjadi antara kitosan dengan agen *cross-linker* yaitu glutaraldehyd (GTA), karena terbentuk puncak yang tumpang tindih dari pita imina (C=N) dan pita amida I dapat menunjukkan reaksi ikatan silang dalam *scaffold bone graft* yang sudah terbentuk. Adanya imina ini merupakan hasil dari reaksi *crosslinking* dimana gugus aldehid dari glutaraldehyd membentuk jembatan yang berikatan dengan gugus amina kitosan. Ikatan yang dibuat oleh ikatan silang juga meningkatkan viskositas suatu campuran, yang mengarah pada pembentukan struktur padat dan kokoh (Putri et al., 2021). Penelitian yang lain banyak dilaporkan bahwa untuk ikatan silang kimia kitosan melalui molekul kecil seperti glutaraldehyd sebagai *crosslinker* dengan sifat sangat reaktif terhadap bahan polimer dengan gugus amino, menghasilkan ikatan imina (reaksi basa Schiff) yang memerlukan langkah reduksi untuk mengubahnya menjadi ikatan yang stabil, sifat mekanik yang diperoleh juga tergantung pada jumlah glutaraldehyd dan kandungan kitosan (Ibrahim et al., 2018). Oleh karena itu pada kitosan dengan kandungan yang lebih tinggi/*scaffold* Cs6HAp64 mempunyai nilai kuat tekan yang lebih rendah daripada yang lain yaitu 10,16 MPa, dikarenakan pada hasil pengujian FTIR pita imina (C=N) yang terbentuk mempunyai intensitas yang lebih kecil dibanding dengan *scaffold* Cs2HAp68 dan Cs4HAp66.

Namun semua nilai kuat tekan yang dihasilkan masing-masing *scaffold* tergolong cocok untuk rekayasa jaringan tulang terkhususnya pada tulang kanselus (Putri et al., 2021).

Hubungan antara nilai porositas yang didapat dengan nilai kuat tekan *scaffold* sudah sesuai dengan teori yaitu semakin tingginya nilai porositas maka nilai kuat tekan *scaffold* akan semakin rendah, karena banyaknya pori yang terbentuk membuat *scaffold* tidak padat dan cenderung cepat rusak jika dikenai pembebanan. *Scaffold* sebagai struktur biomimetik matriks ekstraseluler membutuhkan sifat mekanik tertentu untuk memberikan stabilitas struktural yang cukup dan harus mendukung perlekatan sel (Deb et al., 2019).

1.2.2 Efek Rasio Komposisi *Bone Graft* Berbasis Hap/Cs/PMMA pada Biokompatibilitas *Scaffold*.

Biokompatibilitas merupakan syarat penting yang harus diperhatikan dalam pengembangan biomaterial, terutama jika digunakan sebagai implan dalam tubuh manusia. Sifat ini bukan terdapat di dalam suatu material, tetapi lebih kepada bagaimana respon lingkungan atau daerah sekitar implan dalam mentolerir keberadaan dan berinteraksi dengan biomaterial tersebut. Pada penelitian ini sifat biokompatibilitas yang di analisis adalah sifat anti bakteri dan sitotoksitas *scaffold bone graft* yang sudah difabrikasi. Hidroksiapatit dianggap sebagai bahan anorganik yang paling cocok untuk rekayasa jaringan tulang karena sifat fisik dan kimianya yang mirip dengan tulang manusia (Yuliana et al., 2017). Namun, kurangnya aktivitas anti bakteri yang melekat tetap menjadi tantangan yang signifikan bagi peneliti biomaterial, untuk itu pada penelitian ini *scaffold* dibuat dengan penambahan kitosan yang diyakini mempunyai sifat anti bakteri (Magani et al., 2020). Namun pada penelitian lain, sintesis hidroksiapatit yang dilakukan dengan bantuan *microwave*, menghasilkan serbuk yang menunjukkan lebih sedikit aglomerasi dari hidroksiapatit yang dihasilkan dengan metode sintesis yang lain, hal ini terjadi karena radiasi gelombang mikro menghasilkan panas di dalam molekul dan menginduksi lebih banyak dispersi dari PO_4^{3-} , yang memiliki kemampuan polarisasi yang kuat dan dengan demikian berperan sebagai agen penyerap gelombang mikro yang sangat baik yang pada akhirnya menghasilkan bubuk hidroksiapatit dengan kristalinitas yang tinggi dan pada pengujian anti bakteri *scaffold* dari hidroksiapatit *microwave* ini memiliki zona hambat superior serta dikonfirmasi lewat pengujian XPS telah ditemukan spesies fosfat yang berbeda, dan ikatan fosfat ini mungkin menjadi sumber utama radikal yang mempengaruhi sifat anti bakteri (Lamkhao et al., 2019).

Kitosan sebagai anti bakteri dibedakan menjadi dua yaitu bakteriostatik yang menekan pertumbuhan bakteri atau perkembangan bakteri bersifat tetap (statis) dan bakterisidal yang dapat membunuh bakteri. Kemampuan kitosan yang diolah menjadi nanokitosan mampu melakukan adsorpsi yang lebih baik dikarenakan memiliki permukaan yang spesifik dan ukurannya lebih kecil. Nanokitosan yang berukuran kecil dapat dengan mudah masuk dalam sel bakteri (Magani et al., 2020). Oleh karena itu kitosan oligosakarida yang dipakai pada penelitian ini mampu berinteraksi dan melakukan pengerusakan struktur membran/dinding sel pada bakteri gram positif, membran sel tertutup dinding sel yang tersusun dari 30-40 lapisan peptidoglikan dimana muatan positif gugus amino ($-\text{NH}_2$) dari kitosan oligosakarida dapat terikat dan menyebabkan distorsi serta pemecahan dinding sel akibat *shock* osmotik dan eksudasi kandungan sitoplasma (Dewi & Fawzya, 2006). Dalam penelitian ini sampel $\text{Cs}_6\text{HA}_{p64}$ memenuhi kriteria untuk rekayasa jaringan tulang karena masuk dalam kategori zona hambat yang kuat.

Toksitas dapat dihubungkan dengan viabilitas sel yang merupakan faktor utama biokompatibilitas suatu biomaterial. PMMA biasa digunakan untuk kepentingan biomaterial karena sifat biokompatibilitas dan ketahanan mekaniknya. Namun jika proses polimerisasi dilakukan dalam waktu yang cukup singkat dan temperatur rendah, proses polimerisasi tidak

berjalan dengan sempurna, kandungan monomer sisa masih sangat tinggi dan mengakibatkan terjadinya nekrosis jaringan karena pelepasan panas selama polimerisasi dan terkadang monomer metakrilat yang tidak bereaksi terperangkap di dalam *bone graft* dan tidak hilang seiring waktu karena kelarutan MMA yang rendah. Hal ini menyebabkan sifat toksik pada *scaffold bone graft* (Yuliati, 2005). Dengan uji MTT Assay, menunjukkan nilai absorbansi yang sedikit lebih tinggi daripada sampel kontrol namun ada beberapa juga yang nilainya dibawah sampel kontrol. Nilai OD yang besar menunjukkan peningkatan progresif dalam kepadatan sel dan proliferasi sel selama periode pemeriksaan. Namun dari hasil rata-rata persen viabilitas sel membuktikan bahwa ketiga sampel bone graft ini bersifat *slightly cytotoxic*. Dan kurang cocok jika dilakukan implantasi ke tulang. Hal ini bisa dihindari dengan proses pencucian dan pengeringan vakum untuk mengurangi jumlah bahan kimia sisa sehingga tidak menjadi ancaman biologis ketika material bersentuhan dengan jaringan yang hidup (Linan et al., 2018). Penambahan hidroksiapatit, selain dapat meningkatkan sifat mekanik semen tulang, penambahan hidroksiapatit juga dapat mengurangi potensi panas berbahaya yang dihasilkan selama polimerisasi semen tulang PMMA. Namun, tingkat resorpsi terlalu lambat dalam lingkungan fisiologis dan dengan demikian menghasilkan efek antar permukaan jangka panjang yang tidak diinginkan antara keramik HA dan implan (Fang et al., 2019). Evaluasi mikroskop pada hasil uji MTT assay juga pernah dilakukan oleh yaitu untuk sel gingival dan periodontal ligamen fibroblas yang terpapar *methyl methacrylate*, *isobutyl methacrylate* dan *1,6-hexanediol dimethacrylate* setelah inkubasi 24 jam memperlihatkan karakteristik morfologi sel menjadi tidak normal. Sel terlihat pyknosis, membulat, membengkak, batas membran sel tidak teratur dan kehilangan perlekatan pada lempeng mikrotiter. MTT assay dapat menentukan aktivitas dehidrogenase mitokondria sel yang digunakan sebagai indikator dari viabilitas sel (Lai et al., 2004). Kitosan dalam hal biokompatibilitas menunjukkan semakin tinggi derajat deasetilasi dari kitin akan memberikan sifat kationik yang lebih besar. Selain itu, semakin tinggi derajat deasetilasi akan berpengaruh pada kemampuan biodegradasi yang semakin rendah. Kitosan yang bermuatan positif (kationik) dapat membentuk ikatan ion kompleks setelah berikatan dengan bahan lain. Sifat kationik ini dapat merangsang adhesi sel, modulator morfologi sel, diferensiasi, pergerakan sel, sintesa dan fungsi sel (Rahmitasari, 2016).

1.2.3 Perbandingan Karakteristik Bone Graft yang Sudah difabrikasi dengan Bone Graft Penelitian Lain

Berikut merupakan tabel perbandingan dari karakteristik bone graft yang sudah difabrikasi dengan syarat bone graft pada berbagai penelitian.

Tabel 4. 2 Perbandingan karakteristik *bone graft*

No.	Karakteristik <i>Scaffold</i>	Referensi	Hasil Penelitian
1.	Porositas (%)	>75% (Deb et al., 2019)	Cs2HAp68 : 77,07 Cs4HAp66 : 81,39 Cs6HAp64 : 87,92
2.	<i>Compressive Strength</i> (MPa)	1,5-45 MPa (Ginebra, 2009)	Cs2HAp68 : 30,35 Cs4HAp66 : 24,4 Cs6HAp64 : 10,16
3.	Viabilitas Sel (%)	>90% atau <i>non cytotoxic</i> (Dahl et al., 2006)	Cs2HAp68 : 74,49 Cs4HAp66 : 62,09 Cs6HAp64 : 75,77 (<i>slightly cytotoxic</i>)

4.	Zona Hambat Anti bakteri (mm)	>1 mm atau lemah (Laksono et al., 2020)	Cs2HAp68 : 4,1 (lemah) Cs4HAp66 : 7,5 (sedang) Cs6HAp64 : 13,17 (kuat)
5.	Arsitektur Pori	<i>Highly interconnected porous</i> (Rahman et al., 2019)	<i>Interconnected porous</i>

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan analisa data yang telah dilakukan, melalui penelitian ini didapat kesimpulan sebagai berikut :

1. Efek penambahan kandungan hidroksiapatit <70% mengakibatkan peningkatan nilai tekan maksimal pada *scaffold bone graft* yaitu sampel Cs2HAp68 dengan kandungan HAp 68% yang mempunyai nilai sebesar 30,35 MPa. Nilai kuat tekan tersebut juga sesuai dengan porositas yang terbentuk yaitu 77,07%. Hal ini disebabkan peningkatan kandungan kitosan, semakin tinggi kandungan kitosan maka nilai porositas yang terbentuk juga semakin tinggi. Nilai tekan dan porositas yang didapatkan sesuai dengan syarat aplikasi jaringan pada tulang kanselus yang mempunyai range nilai tekan 1,5-45 MPa dan porositas >75%.
2. Efek penambahan kandungan kitosan dapat meningkatkan diameter zona hambat pada pengujian anti bakteri. Zona hambat terbesar terdapat pada sampel Cs6HAp64 yaitu 13,167 mm dan masuk dalam kategori kuat. Kemudian dari pengujian MTT Assay didapatkan nilai *cell viability* tertinggi pada sampel Cs6HAp64 yaitu sebesar 75,77% , namun angka tersebut tergolong pada kategori *slightly cytotoxic* yang masih memiliki potensi besar untuk diimplankan ke tulang.

5.2 Saran

Adapun saran yang diperlukan untuk penelitian selanjutnya antara lain sebagai berikut :

1. Memperhatikan kecepatan saat melakukan fabrikasi ke dalam cetakan *silicone rubber* untuk menghindari terbentuknya pori yang besar yang akan mempengaruhi kuat tekannya.
2. Melakukan pengujian biodegradasi untuk mengetahui berapa lama *bone graft* terdegradasi seiring dengan pertumbuhan sel tulang baru.
3. Melakukan pengujian biokompatibilitas secara *in vivo* untuk menganalisis sifat biokompatibilitas lebih lanjut sebagai syarat aplikasi substitusi tulang.
4. Melakukan metode fabrikasi modern seperti *Thermally Induced Phase Separation* agar persebaran pori-pori lebih merata sehingga sifat mekanik memiliki hasil yang maksimal serta terbentuk *interconnected porous* yang lebih baik lagi sebagai tempat sel menempel dan membentuk jaringan baru.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A., Hasan, A., & Negi, Y. S. (2021). Effect of carbon based fillers on xylan/chitosan/nano-HAp composite matrix for bone tissue engineering application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 197(November 2021), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.012>
- Amini, A. R., Laurencin, C. T., & Nukavarapu, S. P. (2012). Bone tissue engineering: Recent advances and challenges. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 40(5), 363–408. <https://doi.org/10.1615/CritRevBiomedEng.v40.i5.10>
- Andronesu, E., Grumezescu, A. M., Gușă, M. I., Holban, A. M., Ilie, F. C., Irimia, A., Nicoară, I. F., & Ţone, M. (2016). Nano-hydroxyapatite: Novel approaches in biomedical applications. *Nanobiomaterials in Hard Tissue Engineering: Applications of Nanobiomaterials*, 189–213. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42862-0.00006-7>
- Anisah, A., Delina, M., Aisah, N., & Gustiono, D. (2018). Pembuatan Graft Tulang Dengan Proses Ekstraksi Senyawa Hidroksiapatit Dari Tulang Korteks Sapi. *Spektra: Jurnal Fisika Dan Aplikasinya*, 3(1), 31–36. <https://doi.org/10.21009/spektra.031.05>
- Ardhiyanto, H. B., Kedokteran, F., & Universitas, G. (n.d.). *Peran hidroksiapatit sebagai material*. 13–15.
- Chakraborty, R., & RoyChowdhury, D. (2013). Fish bone derived natural hydroxyapatite-supported copper acid catalyst: Taguchi optimization of semibatch oleic acid esterification. *Chemical Engineering Journal*, 215–216, 491–499. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.11.064>
- Collins, M. N., Ren, G., Young, K., Pina, S., Reis, R. L., & Oliveira, J. M. (2021). Scaffold Fabrication Technologies and Structure/Function Properties in Bone Tissue Engineering. *Advanced Functional Materials*, 31(21). <https://doi.org/10.1002/adfm.202010609>
- Dahl, J. E., Frangou-Polyzois, M. J., & Polyzois, G. L. (2006). In vitro biocompatibility of denture relining materials. *Gerodontology*, 23(1), 17–22. <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2006.00103.x>
- Daish, C., Blanchard, R., Fox, K., Pivonka, P., & Pirogova, E. (2018). The Application of fFindings. *Annals of Biomedical Engineering*, 46(4), 525–542. <https://doi.org/10.1007/s10439-018-1982-1>
- Deb, P., Barua, E., Deoghare, A. B., & Lala, S. Das. (2019). Development of bone scaffold using Puntius conchonus fish scale derived hydroxyapatite: Physico-mechanical and bioactivity evaluations. *Ceramics International*, 45(8), 10004–10012. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.02.044>
- Dewi, A. S., & Fawzya, Y. N. (2006). Kitosan Oligosakarida: Produksi dan Potensinya sebagai Anti bakteri. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 1(1), 29. <https://doi.org/10.15578/squalen.v1i1.75>
- Dunne, N. (2008). Mechanical properties of bone cements. *Orthopaedic Bone Cements*, 233–264. <https://doi.org/10.1533/9781845695170.3.233>
- Fang, C. H., Lin, Y. W., Sun, J. S., & Lin, F. H. (2019). The chitosan/tri-calcium phosphate bio-composite bone cement promotes better osteo-integration: An in vitro and in vivo study. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 14(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13018-019-1201-2>
- Farid, S. B. H. (2019). Osteoinduction, osteoconduction, and osseointegration. *Bioceramics: For Materials Science and Engineering*, 77–96. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102233-7.00003-3>
- Farzadi, A., Solati-Hashjin, M., Bakhshi, F., & Aminian, A. (2011). Synthesis and characterization of hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate nanocomposites using

- microwave irradiation. *Ceramics International*, 37(1), 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2010.08.021>
- Fathi, M. H., Hanifi, A., & Mortazavi, V. (2008). Preparation and bioactivity evaluation of bone-like hydroxyapatite nanopowder. *Journal of Materials Processing Technology*, 202(1–3), 536–542. <https://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2007.10.004>
- Fesseha, H., & Fesseha, Y. (2020). Bone Grafting, Its Principle and Application: A Review. *Osteol Rheumatol Open J*, 1(1), 43–50. <https://doi.org/10.17140/ORHOJ-1-113>
- Fiume, E., Magnaterra, G., Rahdar, A., Verné, E., & Baino, F. (2021). Hydroxyapatite for biomedical applications: A short overview. *Ceramics*, 4(4), 542–563. <https://doi.org/10.3390/ceramics4040039>
- Gautam, D., & Rao, V. K. P. (2021). Nondestructive Evaluation of Mechanical Properties of Femur Bone. *Journal of Nondestructive Evaluation*, 40(1), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s10921-021-00754-0>
- Ghassemi, T., Shahroodi, A., Ebrahimzadeh, M. H., Mousavian, A., Movaffagh, J., & Moradi, A. (2018). Current concepts in scaffolding for bone tissue engineering. *Archives of Bone and Joint Surgery*, 6(2), 90–99. <https://doi.org/10.22038/abjs.2018.26340.1713>
- Ghosh, T., Deveswaran, R., & Bharath, S. (2021). Copper crosslinked carboxymethyl chitosan–gelatin scaffolds: A potential antibacterial and cytocompatible material for biomedical applications. *Materials Today: Proceedings*, xxx. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.10.140>
- Ginebra, M. P. (2009). Cements as bone repair materials. In *Bone Repair Biomaterials*. Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9781845696610.2.271>
- Han, K.-S., Sathiyaseelan, A., Saravanakumar, K., & Wang, M.-H. (2022). Wound healing efficacy of biocompatible hydroxyapatite from bovine bone waste for bone tissue engineering application. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(1), 106888. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106888>
- Hengky, A. (2011). Peran hidroksiapatit sebagai bone graft dalam proses penyembuhan tulang. *Stomatognatik Jurnal Kedokteran Gigi*, 8(2), 6–9.
- Hi, A. M. (2019). *Femur*. Copyright 2016 - 2019 Earth's Lab All Rights Reserved. <https://www.earthslab.com/anatomy/femur/>
- Hong, Y., Fan, H., Li, B., Guo, B., Liu, M., & Zhang, X. (2010). Fabrication, biological effects, and medical applications of calcium phosphate nanoceramics. *Materials Science and Engineering R: Reports*, 70(3–6), 225–242. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2010.06.010>
- Hu, J., Wang, Z., Miszuk, J. M., Zhu, M., Lansakara, T. I., Tivanski, A. V., Banas, J. A., & Sun, H. (2021). Vanillin-bioglass cross-linked 3D porous chitosan scaffolds with strong osteopromotive and antibacterial abilities for bone tissue engineering. *Carbohydrate Polymers*, 271(March), 118440. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118440>
- Huang, D., Zuo, Y., Zou, Q., Zhang, L., Li, J., Cheng, L., Shen, J., & Li, Y. (2011). Antibacterial chitosan coating on nano-hydroxyapatite/polyamide66 porous bone scaffold for drug delivery. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 22(7), 931–944. <https://doi.org/10.1163/092050610X496576>
- Huang, H. Y., Fan, F. Y., Shen, Y. K., Wang, C. H., Huang, Y. T., Chern, M. J., Wang, Y. H., & Wang, L. (2020). 3D poly-ε-caprolactone/graphene porous scaffolds for bone tissue engineering. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 606(August), 125393. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125393>
- Ibrahim, N. A., Nada, A. A., & Eid, B. M. (2018). *Polysaccharide-Based Polymer Gels and Their Potential Applications* (Issue December). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6083-0_4
- Indriani, Arista, Aminatun, & Siswanto. (2014). Upaya Meningkatkan Kuat Tekan Komposit

- Ha-Kitosan Sebagai Kandidat Aplikasi Implan Tulang Kortikal. *Jurnal Fisika Dan Terapannya*, 1–15.
- Jana, S., Florczyk, S. J., Leung, M., & Zhang, M. (2012). High-strength pristine porous chitosan scaffolds for tissue engineering. *Journal of Materials Chemistry*, 22(13), 6291–6299. <https://doi.org/10.1039/c2jm16676c>
- Jusuf, A., Nurprasetio, I. P., & Prihutama, A. (2017). Macro Data Analysis of Traffic Accidents in Indonesia. *Journal of Engineering and Technological Sciences*, 49(1), 133–144. <https://doi.org/10.5614/j.eng.technol.sci.2017.49.1.8>
- Kazemi-Aghdam, F., Jahed, V., Dehghan-Niri, M., Ganji, F., & Vasheghani-Farahani, E. (2021). Injectable chitosan hydrogel embedding modified halloysite nanotubes for bone tissue engineering. *Carbohydrate Polymers*, 269(March), 118311. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118311>
- Kurniawan, A. M., Hartini, S., & Cahyanti, M. N. (2019). Pengaruh Konsentrasi Fosfat Terhadap Perbandingan Ca/P Hidroksiapatit dari Limbah Gypsum Industri Keramik. *EKSAKTA: Journal of Sciences and Data Analysis*, 19(1), 46–56. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol19.iss1.art5>
- Lai, Y. L., Chen, Y. T., Lee, S. Y., Shieh, T. M., & Hung, S. L. (2004). Cytotoxic effects of dental resin liquids on primary gingival fibroblasts and periodontal ligament cells in vitro. *Journal of Oral Rehabilitation*, 31(12), 1165–1172. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2004.01355.x>
- Laksono, A. D., Amatosa, Jr, T. A., Sitorus, H. P. O., Asih, W. P. K., & Sulistijono, S. (2020). Study on Antibacterial of Chitosan/Hydroxyapatite Doped Magnesium Composite as a Material for Bone Graft Applications. *Makara Journal of Technology*, 23(3), 119. <https://doi.org/10.7454/mst.v23i3.3755>
- Lamkhao, S., Phaya, M., Jansakun, C., Chandet, N., Thongkorn, K., Rujijanagul, G., Bangrak, P., & Randorn, C. (2019). Synthesis of Hydroxyapatite with Antibacterial Properties Using a Microwave-Assisted Combustion Method. *Scientific Reports*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40488-8>
- Laporan Nasional Riskesdas 2018 (pp. 254–255). (2019). Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. <https://www.litbang.kemkes.go.id/laporan-riset-kesehatan-dasar-riskesdas/>
- Li, J., Qin, L., Yang, K., Ma, Z., Wang, Y., Cheng, L., & Zhao, D. (2020). Materials evolution of bone plates for internal fixation of bone fractures: A review. *Journal of Materials Science and Technology*, 36(January 2020), 190–208. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2019.07.024>
- Li, Y., Liu, T., Zheng, J., & Xu, X. (2013). Glutaraldehyde-crosslinked chitosan/hydroxyapatite bone repair scaffold and its application as drug carrier for icariin. *Journal of Applied Polymer Science*, 130(3), 1539–1547. <https://doi.org/10.1002/app.39339>
- Linan, L. Z., Lima, N. M. N., Benatti, C., Xavier, M., Rodrigues, A. A., Manenti, F., Jardini, A., Filho, R. M., & Gilioli, R. (2018). Cytotoxicity assessment of a poly(methyl methacrylate) synthesized for the direct fabrication of bone tissues. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 61, 1–13. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2018160526>
- Liu, Y., Lim, J., & Teoh, S. H. (2013). Review: Development of Clinically Relevant Scaffolds for Vascularised Bone Tissue Engineering. *Biotechnology Advances*, 31(5), 688–705. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.10.003>
- Ma, P., Wu, W., Wei, Y., Ren, L., Lin, S., & Wu, J. (2021). Biomimetic gelatin/chitosan/polyvinyl alcohol/nano-hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. *Materials and Design*, 207, 109865. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2021.109865>

- Madhally, S. V., & Matthew, H. W. T. (1999). Porous chitosan scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*, 20(12), 1133–1142. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(99\)00011-3](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(99)00011-3)
- Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. (2020). Uji Anti bakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. *Jurnal Bios Logos*, 10(1), 7. <https://doi.org/10.35799/jbl.10.1.2020.27978>
- Mahammod, B. P., Barua, E., Deb, P., Deoghare, A. B., & Pandey, K. M. (2020). Investigation of Physico-mechanical Behavior, Permeability and Wall Shear Stress of Porous HA/PMMA Composite Bone Scaffold. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 45(7), 5505–5515. <https://doi.org/10.1007/s13369-020-04467-w>
- Manoukian, O. S., Sardashti, N., Stedman, T., Gailiunas, K., Ojha, A., Penalosa, A., Mancuso, C., Hobert, M., & Kumbar, S. G. (2019). Biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine. In *Encyclopedia of Biomedical Engineering* (Vols. 1–3). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64098-9>
- Mao, D., Li, Q., Bai, N., Dong, H., & Li, D. (2018). Porous stable poly(lactic acid)/ethyl cellulose/hydroxyapatite composite scaffolds prepared by a combined method for bone regeneration. *Carbohydrate Polymers*, 180(July 2017), 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.031>
- Mucalo, M. R. (2015). Animal-bone derived hydroxyapatite in biomedical applications. In *Hydroxyapatite (Hap) for Biomedical Applications*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-1-78242-033-0.00014-6>
- Nandiyanto, A. B. D., Oktiani, R., & Ragadhita, R. (2019). How to read and interpret ftir spectroscopy of organic material. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 4(1), 97–118. <https://doi.org/10.17509/ijost.v4i1.15806>
- Naveed, M., Phil, L., Sohail, M., Hasnat, M., Baig, M. M. F. A., Ihsan, A. U., Shumzaid, M., Kakar, M. U., Mehmood Khan, T., Akabar, M. D., Hussain, M. I., & Zhou, Q. G. (2019). Chitosan oligosaccharide (COS): An overview. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 827–843. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.192>
- Noorisa, R., Aprilwati, D., Aziz, A., & Bayusentono, S. (2017). The Characteristic Of Patients With Femoral Fracture In Department Of Orthopaedic And Traumatology Rsud Dr. Soetomo Surabaya. *Journal of Orthopaedi & Traumatology Surabaya*, 6(8.5.2017), 1–8.
- Oryan, A., Kamali, A., Moshiri, A., Baharvand, H., & Daemi, H. (2018). Chemical crosslinking of biopolymeric scaffolds: Current knowledge and future directions of crosslinked engineered bone scaffolds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107(PartA), 678–688. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.184>
- Pasha Mahammod, B., Barua, E., Deoghare, A. B., & Pandey, K. M. (2019). Permeability quantification of porous polymer scaffold for bone tissue engineering. *Materials Today: Proceedings*, 22, 1687–1693. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.02.186>
- Pinto, R. V., Gomes, P. S., Fernandes, M. H., Costa, M. E. V., & Almeida, M. M. (2020). Glutaraldehyde-crosslinking chitosan scaffolds reinforced with calcium phosphate spray-dried granules for bone tissue applications. *Materials Science and Engineering C*, 109(September 2019), 110557. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110557>
- Prasad, A., Sankar, M. R., & Katiyar, V. (2017). State of Art on Solvent Casting Particulate Leaching Method for Orthopedic Scaffolds Fabrication. *Materials Today: Proceedings*, 4(2), 898–907. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.01.101>
- Putri, T. S., Rianti, D., Rachmadi, P., & Yulianti, A. (2021). Effect of glutaraldehyde on the characteristics of chitosan–gelatin– β -tricalcium phosphate composite scaffolds. *Materials Letters*, 304(April), 130672. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2021.130672>
- Rabier, F., Temmerman, M., Böhm, T., Hartmann, H., Daugbjerg Jensen, P., Rathbauer, J., Carrasco, J., & Fernández, M. (2006). Particle density determination of pellets and

- briquettes. *Biomass and Bioenergy*, 30(11), 954–963. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2006.06.006>
- Rahman, M. S., Rana, M. M., Spitzhorn, L.-S., Akhtar, N., Hasan, M. Z., Choudhury, N., Fehm, T., Czernuszka, J. T., Adjaye, J., & Asaduzzaman, S. M. (2019). Fabrication of biocompatible porous scaffolds based on hydroxyapatite/collagen/chitosan composite for restoration of defected maxillofacial mandible bone. *Progress in Biomaterials*, 8(3), 137–154. <https://doi.org/10.1007/s40204-019-0113-x>
- Rahmitasari, F. (2016). *Rahmitasari 2016 Scaffold3D kitosan dan kolagen sebagai graft*. 150, 1–7.
- Researcher, L. (2021). *Oligochitosan and Oligochitosan Ascorbat: Preparation and Properties*. 10(2), 1244–1262.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 31(7), 603–632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- Ripamonti, U., Crooks, J., Khoali, L., & Roden, L. (2009). The induction of bone formation by coral-derived calcium carbonate/hydroxyapatite constructs. *Biomaterials*, 30(7), 1428–1439. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.10.065>
- Sampath, U. G. T. M., Ching, Y. C., Chuah, C. H., Sabariah, J. J., & Lin, P. C. (2016). Fabrication of porous materials from natural/synthetic biopolymers and their composites. *Materials*, 9(12), 1–32. <https://doi.org/10.3390/ma9120991>
- Sari, Y. W., Saputra, A., Bahtiar, A., & Nuzulia, N. A. (2021). Effects of microwave processing parameters on the properties of nanohydroxyapatite: Structural, spectroscopic, hardness, and toxicity studies. *Ceramics International*, 47(21), 30061–30070. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.07.182>
- Sarwono, R. (2010). Pemanfaatan Kitin / Kitosan Sebagai Bahan Anti Mikroba. *JKTI*, 12(1), 32–38.
- Saxena, V., Hasan, A., & Pandey, L. M. (2021). Antibacterial nano-biocomposite scaffolds of Chitosan, Carboxymethyl Cellulose and Zn & Fe integrated Hydroxyapatite (Chitosan-CMC-FZO@HAp) for bone tissue engineering. *Cellulose*, 28(14), 9207–9226. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04072-6>
- Setiadiputri, J. N. (2018). Sintesis dan Karakterisasi Biokomposit Hidroksiapatit-Alginat-Zinc Sebagai Bone graft Untuk Penanganan Bone Defect. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. <file:///C:/Users/User/Downloads/fvm939e.pdf>
- Setiyorini, Y., Anggraeni, A., & Pintowantoro, S. (2022). In-Vivo study of nano chitosan as therapeutic agent for toxic metal implant. *Results in Engineering*, 13(January), 100352. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2022.100352>
- Sola, A., Bertacchini, J., D'Avella, D., Anselmi, L., Maraldi, T., Marmioli, S., & Messori, M. (2019). Development of solvent-casting particulate leaching (SCPL) polymer scaffolds as improved three-dimensional supports to mimic the bone marrow niche. *Materials Science and Engineering C*, 96, 153–165. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.10.086>
- Soleymani Eil Bakhtiari, S., Bakhsheshi-Rad, H. R., Karbasi, S., Tavakoli, M., Hassanzadeh Tabrizi, S. A., Ismail, A. F., Seifalian, A., RamaKrishna, S., & Berto, F. (2021). Poly(methyl methacrylate) bone cement, its rise, growth, downfall and future. In *Polymer International* (Vol. 70, Issue 9). <https://doi.org/10.1002/pi.6136>
- Šperl, J., & Trčková, J. (2008). Permeability and porosity of rocks and their relationship based on laboratory testing. *Acta Geodynamica et Geomaterialia*, 5(1), 41–47.
- Tariverdian, T., Sefat, F., Gelinsky, M., & Mozafari, M. (2019). Scaffold for bone tissue engineering. In *Handbook of Tissue Engineering Scaffolds: Volume One*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102563-5.00010-1>
- Thavornnyutikarn, B., Chantarapanich, N., Sitthiseripratip, K., Thouas, G. A., & Chen, Q.

- (2014). Bone tissue engineering scaffolding: computer-aided scaffolding techniques. In *Progress in Biomaterials* (Vol. 3, Issues 2–4). <https://doi.org/10.1007/s40204-014-0026-7>
- Thomas, V., Yallapu, M. M., & Sreedhar, B. (2012). *Journal of Biomaterials Science , Fabrication , Characterization of Chitosan / Nanosilver Film and Its Potential Antibacterial Application. February 2013*, 37–41.
- Tihan, T. G., Ionita, M. D., Popescu, R. G., & Iordachescu, D. (2009). Effect of hydrophilic-hydrophobic balance on biocompatibility of poly(methyl methacrylate) (PMMA)-hydroxyapatite (HA) composites. *Materials Chemistry and Physics*, 118(2–3), 265–269. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2009.03.019>
- Triyono, J., Tantomu Christiawan, B., & Masykur, A. (2020). Karakterisasi dan Laju Biodegradasi Biokomposit Serbuk Tulang Sapi/Shellac/Tepung Tapioka sebagai Material Pengisi Tulang. *Mekanika: Majalah Ilmiah Mekanika*, 19(1), 22–28. <https://doi.org/10.20961/mekanika.v19i1.39913>
- Verma, K., & Chauhan, K. (2020). Femur Shaft Fractures (Broken Thighbone) an Overview. *The Research Reservoir*, 6(1), 7–16. <https://doi.org/10.47211/trr.2020.v06i01.002>
- Winiati, W., Septiani, W., & Tekstil, B. B. (2013). Aktifitas Biodegradasi in Vitro Dan in Vivo Serat Plastisisasi in Vitro and in Vivo Biodegradation Activities of Chitosan Fiber After Receiving Dehydration and Plasticizer. *Jurnal Ilmiah Arena Tekstil*, 28(1), 29–37.
- Wu, S. C., Hsu, H. C., Wu, Y. N., & Ho, W. F. (2011). Hydroxyapatite synthesized from oyster shell powders by ball milling and heat treatment. *Materials Characterization*, 62(12), 1180–1187. <https://doi.org/10.1016/j.matchar.2011.09.009>
- YessyWarastuti, Budianto, E., & Darmawan. (2015). Jurnal Sains Materi Indonesia SINTESIS DAN KARAKTERISASI MEMBRAN KOMPOSIT HIDROKSIAPATIT TULANG SAPI-KHITOSAN-POLI (VINIL Bahan dan Alat. *Sains Materi Indonesia*, 16(3000), 83–90.
- Yuliana, R., Rahim, E. A., & Hardi, J. (2017). Sintesis Hidroksiapatit Dari Tulang Sapi Dengan Metode Basah Pada Berbagai Waktu Pengadukan Dan Suhu Sintering. *Kovalen*, 3(3), 201. <https://doi.org/10.22487/j24775398.2017.v3.i3.9329>
- Yuliati, A. (2005). Viabilitas sel fibroblas BHK-21 pada permukaan resin akrilik rapid heat cured (Viability of fibroblast BHK-21 cells to the surface of rapid heat cured acrylic resins). *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 38(2), 68. <https://doi.org/10.20473/j.djmg.v38.i2.p68-72>
- Zhang, X., Tiainen, H., & Haugen, H. J. (2019). Comparison of titanium dioxide scaffold with commercial bone graft materials through micro-finite element modelling in flow perfusion. *Medical and Biological Engineering and Computing*, 57(1), 311–324. <https://doi.org/10.1007/s11517-018-1884-2>
- Zilm, M. E., Chen, L., Sharma, V., McDannald, A., Jain, M., Ramprasad, R., & Wei, M. (2016). Hydroxyapatite substituted by transition metals: Experiment and theory. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(24), 16457–16465. <https://doi.org/10.1039/c6cp00474a>

LAMPIRAN

Lampiran 1 : Hasil Pengujian Tekan

a. Scaffold Cs2HAp68

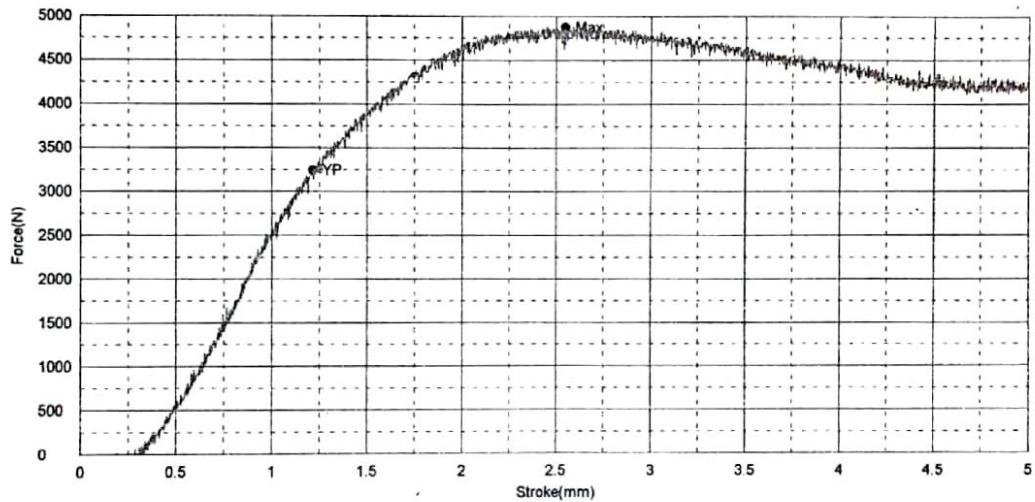
POLITEKNIK PERKAPALAN NEGERI SURABAYA LABORATORIUM UJI BAHAN

Shape: Rod

	Diameter	Height
Units	mm	mm
Cs2-2	14,3000	25,8000

Name	Yield Force	Max_Force	Yield Stress	Max_Stress	Elastic strain
Parameter	0,1 %/FS		0,1 %/FS		
Units	N	N	MPa	MPa	mm/mm
Cs2-2	3243,75	4875,00	20,20	30,35	,003

Name	Modulus of Elasticity
Units	MPa
Cs2-2	6733,33



Comment

SPK No. :37-V/PL19/BJP/2022
 Customer : Yulindarika Nur A. - ITS
 Project Name : -
 Specimen : Cs2-2
 Material : Komposit organik (HAp+Cs+PMmA)
 Test Method : ASTM D 695:15

Surabaya, May 30, 2022



b. Scaffold Cs4HAp66

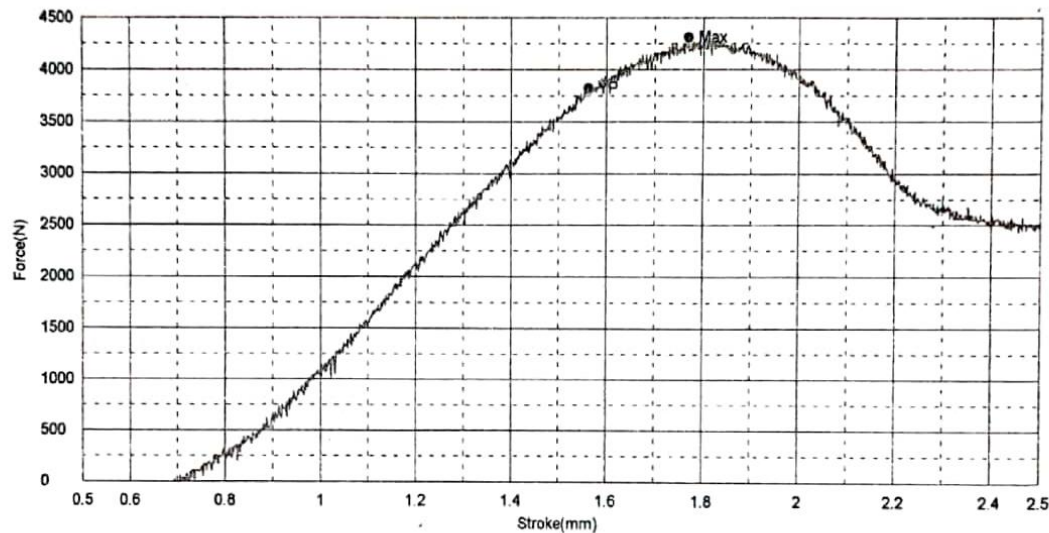
**POLITEKNIK PERKAPALAN NEGERI SURABAYA
LABORATORIUM UJI BAHAN**

Shape: Rod

	Diameter	Height
Units	mm	mm
Cs4-2	15,0000	26,3000

Name	Yield Force	Max_Force	Yield Stress	Max_Stress	Elastic strain
Parameter	0,1 %/FS		0,1 %/FS		
Units	N	N	MPa	MPa	mm/mm
Cs4-2	3825,00	4312,50	21,6451	24,4038	,00452

Name	Modulus of Elasticity
Units	MPa
Cs4-2	4788,74



Comment

SPK No. :37-V/PL19/BJP/2022
Customer : Yulindarika Nur A. - ITS
Project Name : -
Specimen : Cs4-2
Material : Komposit organik (HAp+Cs+PMMA)
Test Method : ASTM D 695:15

Surabaya, May 30, 2022



(*M. H. A. L. O. R.*)

c. Scaffold Cs6HAp64

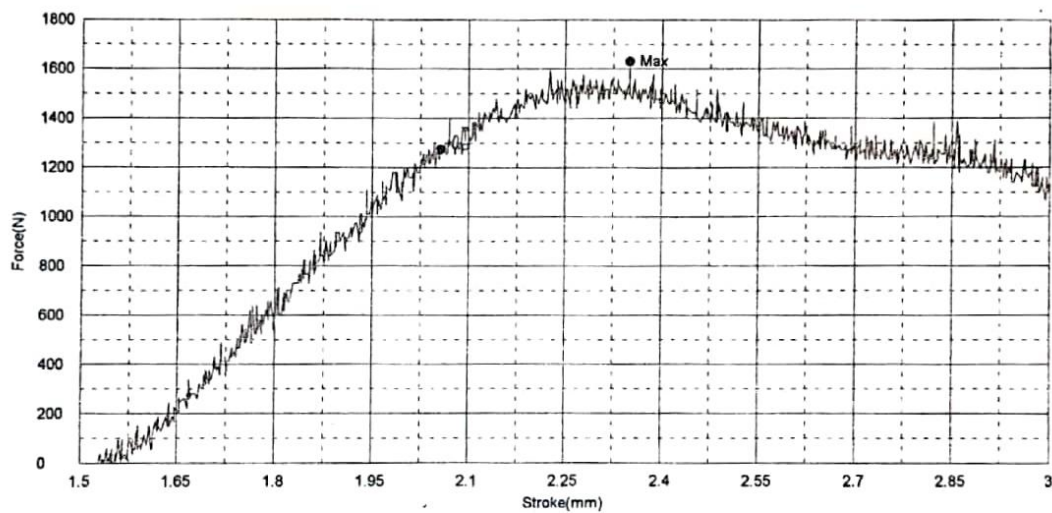
**POLITEKNIK PERKAPALAN NEGERI SURABAYA
LABORATORIUM UJI BAHAN**

Shape: Rod

	Diameter	Height
Units	mm	mm
Cs6-2	14,3000	24,2000

Name	Yield Force	Max_Force	Yield Stress	Max_Stress	Elastic strain
Parameter	0,1 %/FS		0,1 %/FS		
Units	N	N	MPa	MPa	mm/mm
Cs6-2	1275,00	1631,25	7,93868	10,1568	,00355

Name	Modulus of elasticity
Units	MPa
Cs6-2	2236,25



Comment

SPK No. :37-V/PL19/BJP/2022
Customer : Yulindarika Nur A. - ITS
Project Name : -
Specimen : Cs6-2
Material : Komposit organik (HAp+Cs+PMmA)
Test Method : ASTM D 695:15

Surabaya, May 30, 2022



Lampiran 2 : Hasil Pengujian Anti bakteri

a. Pengukuran diameter total sebanyak 4 kali masing-masing repetisi

Pengukuran Diameter Total Anti bakteri				
Variasi	Cs2HAp68			
Diameter ke-	d1	d2	d3	d4
Repetisi 1	18,1	17,7	18,3	17,5
Repetisi 2	18,3	17,8	18,5	17,7
Repetisi 3	18,2	18,4	18,5	18,1
Variasi	Cs4HAp66			
Diameter ke-	d1	d2	d3	d4
Repetisi 1	21,9	21,7	22	21,6
Repetisi 2	21,5	21,4	21,7	21,3
Repetisi 3	21,2	21,3	21,4	21
Variasi	Cs6HAp64			
Diameter ke-	d1	d2	d3	d4
Repetisi 1	27	26,8	27,1	26,7
Repetisi 2	27,9	28	28	27,8
Repetisi 3	26,8	26,7	26,9	26,5

b. Perhitungan rata-rata diameter (diameter terpanjang+diameter terpendek)/2

RATA RATA DIAMETER		
Cs2HAp68	Cs4HAp66	Cs6HAp64
17,9	21,8	26,9
18,1	21,5	27,9
18,3	21,2	26,7

c. Hasil perhitungan zona hambat/zona bening



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
RESEARCH CENTER

Jalan Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60132 Telp. (031) 5030255, Fax (031) 5020256
Website : <http://www.fkg.unair.id> – E-mail : fkgua.skrt@gmail.com

Menearangkan bahwa mahasiswa tersebut dibawah ini telah melakukan penelitian di Laboratorium

Research Center FKG Unair.

Nama : Edric Livanrio

NIM : 0251184000049

Penelitian : Uji Daya Hambat Metode Difusi Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.

TABEL HASIL PENELITIAN

No.	CS 2	CS 4	CS6
1.	3,9	7,8	12,9
2.	4,1	7,5	13,9
3.	4,3	7,2	12,7



Ph.D., Sp.KGA(K)
2005012001

Mengetahui :
Eta Radhianto, A.Md

Lampiran 3 : Perhitungan Porositas

Keterangan	Cs2HAp68	Cs4HAp66	Cs6HAp64
Density of liquid (ρ_w)		1	
Massa sampel di udara (m_u)	6,1904	5,7275	6,0913
Massa sampel di liquid (m_s)	5,0304	4,9461	5,5092
Bulk density (ρ_d)	1,22332452	1,36363103	1,263362592
Particle density sampel (ρ_u)	5,3365517241	7,33	10,46
Porositas (N)	77,07649839	81,39604912	87,92698825

a. Perhitungan porositas untuk *scaffold* Cs2HAp68

$$\rho_u = \left(\frac{m_u}{m_u - m_s} \rho_w \right) = \left(\frac{6,1904}{6,1904 - 5,0304} 1 \right) = \left(\frac{6,1904}{1,16} 1 \right) = 5,3365517241$$

$$N = \left(1 - \frac{\rho_d}{\rho_u} \right) \times 100 = \left(1 - \frac{1,22332452}{5,3365517241} \right) \times 100$$

$$= (1 - 0,229235016) \times 100 = 77,07649839$$

b. Perhitungan porositas untuk *scaffold* Cs4HAp66

$$\rho_u = \left(\frac{m_u}{m_u - m_s} \rho_w \right) = \left(\frac{5,7275}{5,7275 - 4,9461} 1 \right) = \left(\frac{5,7275}{0,7814} 1 \right) = 7,3297926798$$

$$N = \left(1 - \frac{\rho_d}{\rho_u} \right) \times 100 = \left(1 - \frac{1,36363103}{7,3297926798} \right) \times 100$$

$$= (1 - 0,18860395088) \times 100 = 81,39604912$$

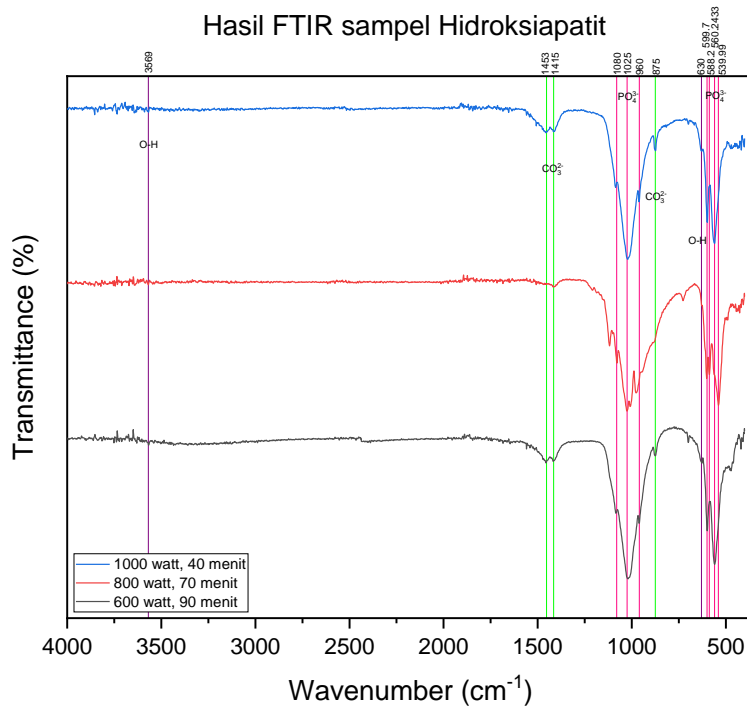
c. Perhitungan porositas untuk *scaffold* Cs6HAp64

$$\rho_u = \left(\frac{m_u}{m_u - m_s} \rho_w \right) = \left(\frac{6,0913}{6,0913 - 5,5092} 1 \right) = \left(\frac{5,7275}{0,7814} 1 \right) = 10,4643532039$$

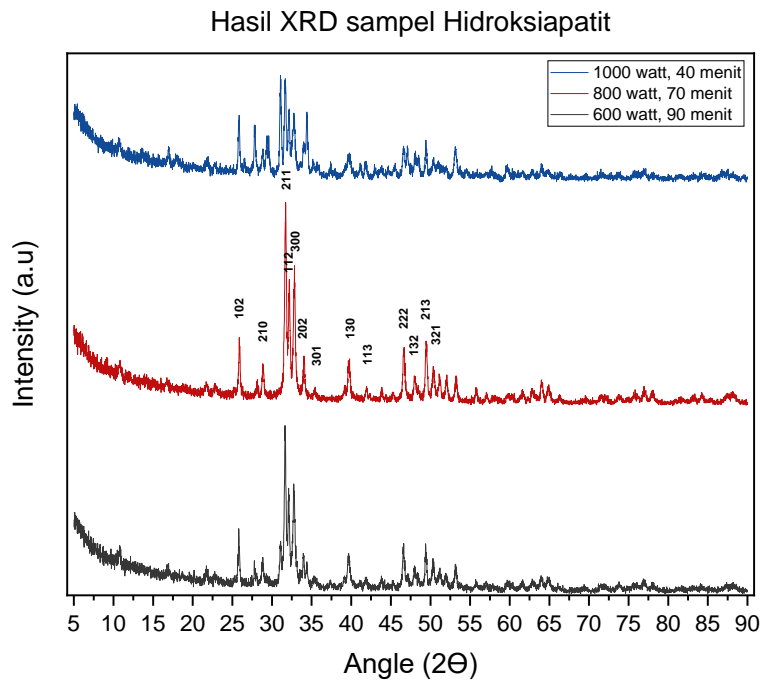
$$N = \left(1 - \frac{\rho_d}{\rho_u} \right) \times 100 = \left(1 - \frac{1,263362592}{10,4643532039} \right) \times 100$$

$$= (1 - 0,1207301175) \times 100 = 87,92698825$$

Lampiran 4 : Hasil uji FTIR sampel hidroksiapatit



Lampiran 5 : Hasil uji XRD sampel hidroksiapatit

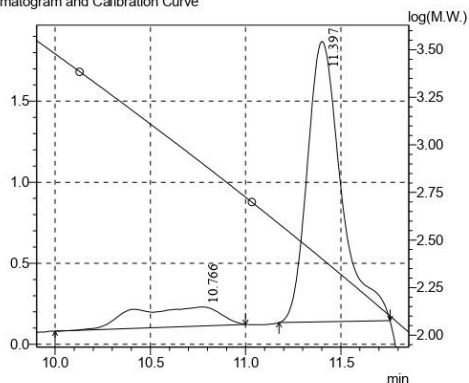


Lampiran 6 : Hasil uji *molecular weight* kitosan rajungan

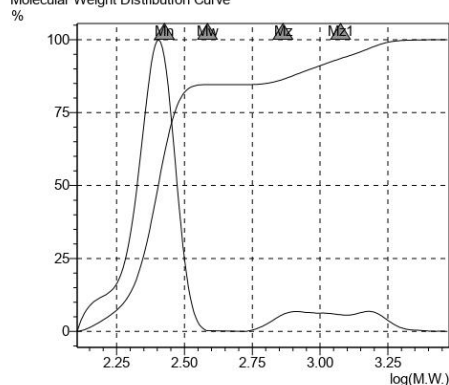
==== Shimadzu LabSolutions GPC Analysis Report ====

Acquired by : System Administrator
Sample Name : Chitosan Rajungan
Sample ID : Chitosan Rajungan
Vial# : 4
Injection Volume : 20 uL
Data Filename : Chitosan Rajungan.lcd
Method Filename : GPC CALIB ok_160221.lcm
Batch Filename : Batch 160221.lcb
Report Filename : DEFAULT.Isr
Date Acquired : 16/02/2021 14:31:14
Data Processed : 16/02/2021 14:51:17

Chromatogram and Calibration Curve
mV



Molecular Weight Distribution Curve



Peak Report

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.766	3916	117	15.369	6.354
2	11.397	21562	1730	84.631	93.646
Total		25478	1848	100.000	100.000

GPC Calculation Results

Peak# 1 (Detector A Channel 1)

[Peak Information]

	Time(min)	Volume(mL)	Molecular Weight	Height
Start	10.000	10.000	3009	81
Top	10.766	10.766	809	117
End	11.000	11.000	531	123

Area : 3916
Area% : 15.3691

[Average Molecular Weight]

Number Average Molecular Weight(Mn)	1047
Weight Average Molecular Weight(Mw)	1160
Z Average Molecular Weight(Mz)	1282
Z+1 Average Molecular Weight(Mz1)	1401
Mw/Mn	1.10791
Mv/Mn	0.00000
Mz/Mw	1.10459

Peak# 2 (Detector A Channel 1)

[Peak Information]

	Time(min)	Volume(mL)	Molecular Weight	Height
Start	11.175	11.175	385	134
Top	11.397	11.397	254	1730
End	11.758	11.758	126	146

Area : 21562
Area% : 84.6309

[Average Molecular Weight]

Number Average Molecular Weight(Mn)	235
Weight Average Molecular Weight(Mw)	244
Z Average Molecular Weight(Mz)	251
Z+1 Average Molecular Weight(Mz1)	258
Mw/Mn	1.03605
Mv/Mn	0.00000
Mz/Mw	1.03098

Detector A Channel 1

[Average Molecular Weight(Total)]

Number Average Molecular Weight(Mn)	267
Weight Average Molecular Weight(Mw)	385
Z Average Molecular Weight(Mz)	729
Z+1 Average Molecular Weight(Mz1)	1190
Mw/Mn	1.44044
Mv/Mn	0.00000
Mz/Mw	1.89642

Lampiran 7 : Hasil pengujian MTT Assay
a. Data hasil pengujian



Nomor : 08209/PK.310/F4.H3/07/2022 08 Juli 2022
Lampiran : -
Hal : Uji MTT

HASIL UJI MTT.

Pengirim : Ganang Wasono
Tgl. Penerimaan Sampel : 01 Juli 2022
Tgl. Selesai Pemeriksaan : 08 Juli 2022
Jenis Sampel : Bone Cement Berbasis hidroksiapatit/Kitosan/Pmma

Nilai Optical Density												
Measurement count: 1 Filter: 620												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,751	0,088	0,395	0,323	0,356	0,625	0,322	0,526	0,072	0,081	0,332	0,198
B	0,777	0,07	0,218	0,239	0,3	0,655	0,481	0,557	0,061	0,066	0,065	0,092
C	0,79	0,078	0,558	0,422	0,585	0,311	0,561	0,655	0,067	0,083	0,461	0,297
D	0,829	1,032	0,7	0,557	0,44	0,209	0,407	0,303	0,119	0,121	0,109	0,137
E	0,728	0,856	0,356	0,525	0,575	0,314	0,462	0,188	0,058	0,1	0,152	0,621
F	0,75	0,958	0,434	0,877	0,411	0,335	0,308	0,269	0,091	0,319	0,289	0,496
G	0,766	0,105	0,148	0,175	0,156	0,184	0,09	0,204	0,122	0,172	0,073	0,237
H	0,802	0,083	0,087	0,082	0,078	0,085	0,094	0,081	0,073	0,089	0,109	0,178

Keterangan :

A2 : Kontrol Sampel HAP 56	G3 : Kontrol sampel HA 100	A,B,C 10 : Kitosan Crab 50
A3-A5 : HAP 56	G3-G5 : HA 100	A12 : KS Kitosan Crab 50
B2 : Kontrol Sampel HAP 61	A6-A8 : Gng 3	A,B,C 11 : Kitosan Shrimp 50
B3-B5 : HAP 61	A9 : Kontrol sampel Gng 3	B12 : KS Kitosan Shrimp 50
C2 : Kontrol Sampel HAP 66	B6-B8 : Gng 4	E,F,G 10 : Kitosan Crab 100
C3-C5 : HAP 66	B9 : Kontrol sampel Gng 4	C12 : KS Kitosan Crab 100
D2 : Kontrol Sampel CS2	C6-C8 : Gng 5	E,F,G 11 : Kitosan Shrimp 100
D3-D5 : CS2	C9 : Kontrol sampel Gng 5	D12 : KS Kitosan Shrimp 100
E2 : Kontrol Sampel CS4	D6-D8 : Jo1	G10 : CS Crab Kompres
E3-E5 : CS4	D9 : Kontrol sampel Jo1	H10 : KS CS Crab Kompres
F2 : Kontrol Sampel CS6	E6-E8 : Jo2	G11 : CS Shrimp Kompres
F3-F5 : CS6	E9 : Kontrol sampel Jo2	H11 : KS CS Shrimp Kompres
Light Blue : Kontrol Sel	F6-F8 : Jo3	G12 : HAP Kompres
Pink : Kontrol Media	F9 : Kontrol sampel Jo3	H12 : KS HAP Kompres
	G6-G8 : HA 50	
	G9 : Kontrol sampel HA 50	

Demikian hasil yang dapat kami sampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,
Koordinator
Pelayanan Pengujian Mutu dan Pengembangan Produk



drh. Sapto Rini Budi P. M.Imun.
196812281994032001

Pemeriksa Laboratorium,



Putriani Endah Wijayanti, A.Md
NIP. 198107012011012006



Hewan Sehat, Rakyat Selamat, Negara Kuat

b. Perhitungan nilai viabilitas

Nilai viabilitas sel dihitung sesuai dengann persamaan (3.4) menggunakan data *Optical Density* (OD) hasil pengujian.

Variasi	Nilai <i>Optical Density</i> (OD)			Rata-rata
	Repetisi 1	Repetisi 2	Repetisi 3	
Cs2HAp68	0.7	0.557	0.44	0.56566667
Cs4HAp66	0.356	0.525	0.575	0.48533333
Cs6HAp64	0.434	0.877	0.411	0.574
Rata-rata Kontrol Sel	0.731			
Rata-rata Kontrol Media	0.082875			

$$Cell\ viability\ (\%) = \frac{(absorbansi\ perlakuan - absorbansi\ kontrol\ media)}{(absorbansi\ kontrol\ sel - absorbansi\ kontrol\ media)} \times 100$$

Adapun untuk OD_{kontrol sel} dan OD_{kontrol media} menggunakan nilai rata-rata OD terkait

- **Rata-rata nilai OD_{kontrol sel}**

$$Avr\ OD = \frac{(0,751+0,777+0,79+0,829+0,728+0,75+0,766+0,802)}{8} = 0,731$$

- **Rata-rata nilai OD_{kontrol media}**

$$Avr\ OD = \frac{(0,083+0,087+0,082+0,078+0,085+0,094+0,081+0,073)}{8} = 0,082875$$

- **Viabilitas sel Cs2HAp68**

Sampel 1

$$Cell\ viability\ (\%) = \frac{0,7-0,082875}{0,731-0,082875} \times 100 = 95,21\%$$

Sampel 2

$$Cell\ viability\ (\%) = \frac{0,557-0,082875}{0,731-0,082875} \times 100 = 73,15\%$$

Sampel 1

$$Cell\ viability\ (\%) = \frac{0,44-0,082875}{0,731-0,082875} \times 100 = 55,10\%$$

Rata-rata

$$Avr\ Viabilitas\ sel\ Cs2HAp68\ (\%) = \frac{(95,21+73,15+55,10)}{3} = 74,49\%$$

- **Viabilitas sel Cs4HAp66**

Sampel 1

$$Cell\ viability\ (\%) = \frac{0,356-0,082875}{0,731-0,082875} \times 100 = 42,14\%$$

Sampel 2

$$Cell\ viability\ (\%) = \frac{0,525-0,082875}{0,731-0,082875} \times 100 = 68,21\%$$

Sampel 1

$$Cell\ viability\ (\%) = \frac{0,575-0,082875}{0,731-0,082875} \times 100 = 75,93\%$$

Rata-rata

$$Avr\ Viabilitas\ sel\ Cs4HAp66\ (\%) = \frac{(42,14+68,21+75,93)}{3} = 62,09\%$$

- **Viabilitas sel Cs6HAp64**

Sampel 1

$$Cell\ viability\ (\%) = \frac{0,434-0,082875}{0,731-0,082875} \times 100 = 54,17\%$$

Sampel 2

$$\text{Cell viability (\%)} = \frac{0,877 - 0,082875}{0,731 - 0,082875} \times 100 = 122,52\%$$

Sampel 1

$$\text{Cell viability (\%)} = \frac{0,411 - 0,082875}{0,731 - 0,082875} \times 100 = 50,62\%$$

Rata-rata

$$\text{Avr Viabilitas sel Cs6HAp64 (\%)} = \frac{(54,17 + 122,52 + 50,62)}{3} = 75,77\%$$

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam mengerjakan laporan penelitian tugas akhir, penulis juga mendapatkan dukungan dari berbagai pihak, Hal ini membuat penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada pihak-pihak yang telah mendukung dan membantu, diantaranya :

1. Kedua orang tua penulis yaitu Bapak Sulchan dan Ibu Solikhah serta kakak penulis, yaitu Alfi dan Erick dan juga keponakan tercinta Khayla, Kahfi yang senantiasa mendoakan dan menyemangati hingga saat ini,
1. Seluruh guru dan dosen yang telah memberikan ilmu, nasihat dan doa sehingga penulis sampai di tahap ini,
2. Bovine Team terkhususnya Edric Livanrio yang telah menjadi partner penulis pada tugas akhir dan Ganang, Jojo sebagai anak bimbingan Bu Yuli yang telah kebersamai selama satu tahun mengerjakan penelitian tugas akhir ini,
3. Keluarga “Matahati Family” yang selalu menemani penulis saat suka maupun duka khususnya Adityo Nugroho, Afrizul Wienar dan Adzon Nugraha yang senantiasa memberikan dukungan, motivasi, doa dan teman bercerita penulis selama masa perkuliahan,
4. Bu Eri dan Alles (Elok, Lilah, Retno dan Nurin) yang selalu siap sedia mendengarkan segala keluh kesah dan teman bercerita selama masa perkuliahan,
5. Sukses Bareng (Intan, Firaditia dan Fia) terkhususnya Nisa Uswah Hasanah sebagai sahabat yang selalu ada 24/7 dan selalu mendoakan penulis disetiap langkahnya,
6. Pak Bas, Pak Eko, Mas Fahny, Mbak Anggra serta anggota Laboratorium Pengolahan Mineral dan Material/Ekstraksi, yaitu Akbar, Ojil, Rehan, Zafi, Fadlan dan Rachmat yang telah menemani penulis saat bekerja di Laboratorium,
7. Keluarga PSDM Serasi, LKKI AK Ghuroba dan Anshor, Pemandu Pamungkas yang banyak memberikan pengembangan kepada penulis selama masa perkuliahan,
8. Keluarga besar MT-20 yang selalu ada menemani selama proses perkuliahan ini,
9. Serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat untuk pengembangan penelitian lebih lanjut dan siapapun yang membutuhkan di masa mendatang,

Surabaya, 10 Juli 2022

Penulis

Yulindarika Nur Anggraini

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BIODATA PENULIS



Penulis lahir di Pasuruan, Jawa Timur pada 2 Juli 1999 sebagai anak kedua dari dua bersaudara, Penulis menempuh pendidikan formal dari SD Negeri 1 Kidul Dalem pada 2006-2012, SMP Negeri 1 Bangil pada 2012-2015 dan SMA Negeri 1 Bangil pada 2015-2018, Pada tahun 2018, penulis melanjutkan perkuliahan jenjang sarjana di Departemen Teknik Material dan Metalurgi Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) melalui jalur SNMPTN dengan beasiswa bidikmisi, Selama perkuliahan, penulis aktif dalam kegiatan organisasi diantaranya yaitu menjadi Pengajar pada program FTI Mengajar, Staf Pengembangan Sumber Daya Mahasiswa

HMMT Serasi, Staf Kaderisasi dan Bendahara Umum LKKI Ash-Haabul Kahfi, Penulis juga aktif di bidang manajerial yaitu menjadi Pemandu LKMM FTIRS ITS 2019-2021 serta pernah menjadi Asisten Laboratorium Pengolahan Mineral dan Material 2021, Penulis juga memiliki pengalaman kerja praktik di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia pada tahun 2021, Dalam menyelesaikan pendidikan sarjana, penulis melakukan penelitian dalam bidang biomaterial dengan tugas akhir berjudul “Efek Rasio Komposisi *Bone Graft* Berbasis Hidroksiapatit/Kitosan/PMMA pada Sifat Mekanik dan Biokompatibilitas *Scaffold*”, Penulis dapat dihubungi melalui email : yulindarika@gmail.com atau instagram : @yulindarika dan nomor telepon 0895378107889.

