

TUGAS AKHIR – TL184834

PENGEMBANGAN KOMPOSIT BONE GRAFT BERBASIS KITOSAN - PMMA - HIDROKSIAPATIT SCAFFOLD PADA PROPERTIES

EDRIC LIVANRIO
NRP. 0251184000049

Dosen Pembimbing
Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D Eng.
NIP. 197907242005012003
Sungging Pintowantoro, S.T., M.T., Ph.D Eng.
NIP. 196208201989031004

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)



TUGAS AKHIR – TL184834

PENGEMBANGAN KOMPOSIT BONE GRAFT BERBASIS KITOSAN - PMMA - HIDROKSIAPATIT SCAFFOLD PADA PROPERTIES

EDRIC LIVANRIO
NRP. 0251184000049

Dosen Pembimbing
Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D Eng.
NIP. 197907242005012003
Sungging Pintowantoro, S.T., M.T., Ph.D Eng.
NIP. 196208201989031004

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

**DEVELOPMENT OF CHITOSAN-PMMA-HYDROXYAPATITE
SCAFFOLD BASED BONE GRAFT COMPOSITE TO
PROPERTIES**

EDRIC LIVANRIO
NRP. 0251184000049

Advisor

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

NIP. 197907242005012003

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

NIP. 196208201989031004

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

PENGEMBANGAN KOMPOSIT BONE GRAFT BERBASIS KITOSAN – PMMA – HIDROKSIAPATIT SCAFFOLD PADA PROPERTIES

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 : **EDRIC LIVANRIO**
NRP. 0251184000049

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

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.



Pembimbing

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Yuli Setiyorini'.

Ko-Pembimbing

Penguji

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Sungging Pintowantoro'.

Penguji

SURABAYA
Juli, 2022

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

APPROVAL SHEET

DEVELOPMENT OF CHITOSAN-PMMA-HYDROXYAPATITE SCAFFOLD BASED BONE GRAFT COMPOSITE TO PROPERTIES

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 : **EDRIC LIVANRIO**
NRP. 0251184000049

Approved by Final Project Examiner Team :

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

Advisor

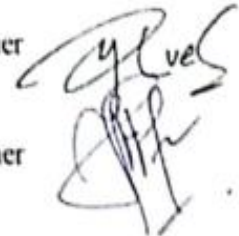


2. Sungging Pintowantoro, S.T., M.T., Ph.D Eng.

Co-Advisor

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

Examiner



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

Examiner



SURABAYA
July, 2022

(This page is intentionally blank)

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama mahasiswa/NRP : Edric Livanrio/0251184000049
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 “PENGEMBANGAN KOMPOSIT BONE GRAFT BERBASIS KITOSAN – PMMA – HIDROKSIAPATIT SCAFFOLD PADA PROPERTIES” 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, Tanggal 2022

Mengetahui
Dosen Pembimbing

Mahasiswa


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


(Edric Livanrio)
NRP. 0251184000049

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

STATEMENT OF ORIGINALITY

The undersigned below:

Name of student/NRP : Edric Livanrio/ 0251184000049
Departement : Material and Metallurgy 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 "DEVELOPMENT OF CHITOSAN – PMMA – HYDROXYAPATITE SCAFFOLD BASED BONE GRAFT COMPOSITES TO PROPERTIES" 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, Tanggal 2022

Acknowledged
Advisor

Student


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


(Edric Livanrio)
NRP.0251184000049

(This page is intentionally blank)

PENGEMBANGAN KOMPOSIT BONE GRAFT BERBASIS KITOSAN – PMMA – HIDROKSIAPATIT SCAFFOLD PADA PROPERTIES

Nama Mahasiswa / NRP : Edric Livanrio/02511840000049
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

Bone graft scaffold merupakan salah satu solusi yang digunakan untuk penyembuhan tulang dari fraktur yang disebabkan kecelakaan ataupun dari osteoporosis. Selain itu, scaffold sekarang telah menjadi salah satu pemasukan besar pada pasar global dan banyak dikembangkan dengan bahan-bahan alami. Bahan scaffold yang digunakan berupa hidroksiapatit tulang sapi yang difabrikasi sendiri menggunakan microwave dengan daya 800 watt selama 70 menit, kitosan dan PMMA, dimana setiap bahan yang memiliki keunggulan masing – masing. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui dampak penambahan dari PMMA serta HAp terhadap sifat dari scaffold. Dari hasil pengujian yang dilakukan diketahui bahwa teknik solvent casting particulate leaching dapat digunakan dalam pembuatan scaffold berpori yang dapat dilihat pada hasil pengamatan pada mikroskop stereotype, yang mana terbentuk pori dengan menggunakan porogen NaCl. Pori – pori yang terbentuk ini kemudian diukur porositasnya dengan menggunakan metode liquid displacement test, dimana seiring dengan kenaikan PMMA menyebabkan penurunan pada nilai porositas. Penurunan nilai porositas ini juga mempengaruhi sifat tekan dari scaffold. Dengan penurunan nilai porositas ini akan menyebabkan kenaikan pada nilai kekuatan tekan dari scaffold, yang secara berurutan dengan rasio scaffold HAp:PMMA:kitosan 56:40:4; 61:35:4; 66:30:4 menghasilkan kekuatan tekan sebesar 38,39; 37,61; 35,61 N/mm². Walaupun sifat mekanik dari scaffold menurun seiring dengan penurunan Hidroksiapatit, tetapi sifat antibakteri dari scaffold meningkat seiring dengan kenaikan hidroksiapatit, dan juga dengan penambahan dari HAp ini dapat memberikan peningkatan nilai viabilitas dari scaffold, yang didapatkan rasio scaffold HAp:PMMA:kitosan 66:30:4 memiliki nilai viabilitas tertinggi yaitu 64,18%.

Kata Kunci: *Hidroksiapatit, kitosan, PMMA, Scaffold, Solvent casting/Particulate Leaching*

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DEVELOPMENT OF CHITOSAN – PMMA – HYDROXYAPATITE SCAFFOLD BASED BONE GRAFT COMPOSITE TO PROPERTIES

Student Name / NRP : Edric Livanrio/0251184000049
Departement : Material and Metallurgy Engineering INDSYS-ITS
Advisor : Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D Eng.

Abstract

Bone graft scaffold is one of the solutions used for healing bones from fractures caused by accidents. In addition, scaffold has now become one of the largest revenues in the global market and is widely developed with natural materials. The scaffold material used are consist of self-fabricated bovine hydroxyapatite using a microwave with a power of 800 watts for 70 minutes, chitosan and PMMA, where each material has its own advantages. The purpose of this research was to determine the impact of the addition of PMMA and HAp on the nature of the scaffold. From the results of the tests carried out, it is known that the solvent casting particulate leaching technique can be used in the manufacture of porous scaffolds which can be seen in the results of observations on stereotyped microscopes, which form pores using porogen NaCl. The pores formed are then measured by porosity using the liquid displacement test method, which along with the increase in PMMA causes a decrease in the porosity value. This decrease in porosity value also affects the compressive properties of the scaffold. With a decrease in the value of porosity this will cause an increase in the value of the compressive strength of the scaffold, which is in order with the ratio of the scaffold HAp:PMMA:chitosan 56:40:4; 61:35:4; 66:30:4 yielded a compressive density of 38.39; 37,61; 35.61 N/mm². Although the mechanical properties of the scaffold decrease along with the decrease in hydroxyapatite, the antibacterial properties of the scaffold increase along with the increase in hydroxyapatite, and also with the addition of this HAp can provide an increase in the viability value of the scaffold, which obtained the ratio of scaffold HAp: PMMA: chitosan 66: 30: 4 has the highest viability value of 64.18%.

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

(This page is intentionally blank)

KATA PENGANTAR

Puji syukur dan Terima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa karenanya penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan tugas akhir yang berjudul “Pengembangan Komposit Bone Graft Berbasis Kitosan-PMMA-Hidroksiapatit Scaffold pada Properties” dengan lancar tanpa halangan dan hambatan. Hal ini tidak luput dari dukungan dari banyak pihak. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih sebanyak – banyaknya kepada:

1. Ibu Yuli Setiyorini, S.T., M.Phil., Ph.D. Eng. Dan Bapak Sungging Pintowantoro, S.T., M.T., Ph.D. Eng. Sebagai dosen pembimbing tugas akhir atas segala bimbingan dan ilmu yang telah diberikan selama tugas akhir hingga selesai
2. Bapak Sigit Tri Wicaksono, S.Si., M.Si., Ph.D, selaku Kepala Departemen Teknik Material dan Metalurgi FTIRS- ITS
3. Orang Tua, Keluarga, dan sahabat penulis yang selalu memberikan dukungan secara moral
4. Bapak/Ibu dan Tenaga Pendidik yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan memberikan bantuan selama perkuliahan

Penulis menyadari penelitian tugas akhir masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun dari pembaca. Semoga laporan ini dapat memberikan kemanfaatan untuk kehidupan manusia kedepannya

Surabaya, 30 Juni 2022

Edric Livanrio
NRP. 0251184000049

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR ISI

Abstrak	xiii
Abstract	xv
KATA PENGANTAR	xvii
DAFTAR ISI	xix
DAFTAR GAMBAR	xxi
DAFTAR TABEL	xxiii
1 BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat	3
2 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tulang Femur	5
2.2 Scaffold	6
2.2.1 Solvent Casting dan Particle Leaching	8
2.2.2 Gas Foaming	8
2.2.3 Freeze-Drying	9
2.3 Hidroksiapatit	9
2.4 Kitosan	11
2.5 Polymethyls Methacrylate	12
2.6 Glutaraldehyd	13
2.7 Penelitian Sebelumnya	14
3 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	19
3.1 Diagram Alir	19
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	21
3.2.1 Alat Penelitian	21
3.2.2 Bahan Penelitian	22
3.3 Metode Penelitian	22
3.3.1 Preparasi hidroksiapatit	23
3.3.2 Preparasi scaffold	23
3.4 Pengujian	23
3.4.1 Pengujian FTIR	23
3.4.2 Pengujian mikroskop stereotype	24
3.4.3 Liquid Displacement Test (LDT)	24
3.4.4 Pengujian Tekan	24
3.4.5 Pengujian Bakteri	24
3.4.6 MTT Assay	25
3.5 Rancangan Penelitian	26
3.6 Jadwal Penelitian	27
BAB IV ANALISIS DATA dan Pembahasan	29
4.1 Analisis Data	29
4.1.1 Analisis pengujian mikroskop stereotype	29
4.1.2 Analisis Pengujian FTIR	30
4.1.3 Analisis Pengujian Liquid Displacement Test (LDT)	33
4.1.4 Analisis Uji Tekan	34
4.1.5 Analisis Uji Bakteri	35
4.1.6 Analisis MTT Assay	37

4.2 Pembahasan.....	37
4.2.1 Pengaruh Hidroksiapatit terhadap bone graft.....	37
4.2.2 Pengaruh PMMA terhadap bone graft	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Negara yang mengembangkan rekayasa jaringan	2
Gambar 2.1 Tulang femur	5
Gambar 2.2 Syarat Scaffold	6
Gambar 2.3 Particulate Leaching	8
Gambar 2.4 Siklus Freeze-drying	9
Gambar 2.5 (a) Struktur Molekul HAp dan (b) Struktur Kristal HAp dalam 1 Menit	10
Gambar 2.6 Deaktilisasi Kitin menjadi Kitosan	11
Gambar 2.7 Struktur kimia PMMA	13
Gambar 3.1 Diagram Alir penelitian.....	20
Gambar 3.2 Uji Antibakteri zona hambat	24
Gambar 4.1 Tampilan HAp 56 di bawah stereotipe microscope (A) cross section, (B) Tampak Atas (C) tampak Samping.....	29
Gambar 4.2 Tampilan HAp 61 di bawah stereotipe microscope (A) cross section, (B) Tampak Atas (C) tampak Samping	29
Gambar 4.3 Tampilan HAp 66 di bawah stereotipe microscope (a) cross section, (b) tampak atas, (c) tampak samping	29
Gambar 4.4 FTIR scaffold pada range 0-2500 cm-1	30
Gambar 4.5 FTIR bahan dan scaffold (a) HAp 56, (b) HAp 61, (c) HAp 66, (d) bubuk PMMA, (e) MMA Cair, (f) hidroksiapatit, (g) glutaraldehid, (h) kitosan.....	32
Gambar 4.6 Diagram batang porositas scaffold dari tiga variasi	33
Gambar 4.7 Hasil Pengujian Tekan	34
Gambar 4.8 Diagram batang dari zona hambat dari ketiga variasi	35
Gambar 4.9 Pengujian antibakteri zona hambat	35
Gambar 4.10 Diagram batang hasil MTT assay	37

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Statistik Kecelakaan 2015 - 2019	1
Tabel 2.1 Sifat mekanik tulang femur	6
Tabel 2.2 Perbandingan Produk Scaffold	7
Tabel 2.3 Kategori diameter zona hambat	12
Tabel 2.4 Kategori hasil viabilitas	12
Tabel 2.5 Metode crosslinking.....	13
Tabel 2.6 Penelitian sebelumnya	14
Tabel 3.3 Rancangan penelitian.....	26
Tabel 3.4 Jadwal penelitian.....	27
Tabel 4.3 Perbandingan kategori zona hambat tiap variasi	36

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Femur (tulang paha) adalah tulang bagian kaki yang paling dekat dengan badan (Proksimal) pada manusia yang umumnya digunakan untuk berjalan atau melompat. Femur merupakan tulang terpanjang dan terbesar tahan pada pembebanan kompresi (Nareliya & Kumar, 2011). Femur merupakan sambungan dengan *acetabulum* di atas untuk membentuk sendi pinggul dan di bawah tibia dan patella untuk membentuk sendi lutut. Bagian ujung atas dari femur memiliki kepala, leher, dan *trochanter* yang besar dan lebih rendah, sedangkan untuk bagian bawah ujung femur memiliki 2 *condyles* (lateral dan medial) yang dipisahkan posterior oleh takik *intercondylar* (Alturki et al., 2019).

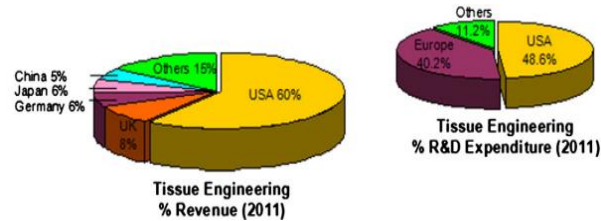
Tulang dapat mengalami gangguan. Yang diberi istilah fraktur. Fraktur merupakan suatu kondisi dimana terjadi diskontinuitas pada jaringan tulang, atau bagian tulang rawan yang mengalami patah sempurna atau sebagian. Fraktur dapat mengganggu aktivitas seseorang, selain itu, fraktur juga dapat menyebabkan seseorang mendapatkan biaya tambahan untuk merawat fraktur (Purnaning et al., 2020). Fraktur disebabkan karena adanya faktor luar seperti kecelakaan yang umumnya terjadi pada orang muda atau kerusakan karena faktor internal seperti umur pada orang – orang tua yang disebabkan bersamaan dengan *osteoporosis* (Lu et al., 2020).

Berdasarkan Badan Pusat Statistik (BPS) dalam kurun waktu 2015 – 2019 terjadi kenaikan rata – rata pada angka kecelakaan sebesar 4,87% per tahun. Dimana kenaikan angka kecelakaan termasuk korban yang meninggal sebesar 1,41% dan luka ringan sebesar 6,26%. Selain itu terdapat juga data dari Kepolisian Republik Indonesia yang merincikan jumlah kecelakaan pada tahun 2015 hingga 2019 yang dapat dilihat pada **Tabel 1.1**

Tabel 1.1 Statistik kecelakaan 2015 – 2019 (Badan Pusat Statistik, 2020)

Rincian	2015	2016	2017	2018	2019	Pertumbuhan per Tahun (%)
Jumlah kecelakaan	96233	1066444	104327	109215	116411	4,87
Korban meninggal	24275	31262	30694	29472	25671	1,41
Luka berat	22454	20075	14559	13315	12475	-13,67
Luka ringan	107743	120532	121575	130571	137342	6,26
Kerugian materi	215892	229137	217031	213866	254779	4,23

Kecelakaan disebabkan beberapa faktor yaitu hilangnya konsentrasi saat berkendara (55%), mengantuk dan lelah (45%), dikarenakan alkohol (30%), kecepatan melebihi batas (30%), cuaca (15%), dan komponen yang rusak (10 – 14%)(Zuraida, 2015). Dan berdasarkan yang dikutip dari laporan nasional kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada 2018 terdapat beberapa bagian tubuh yang cedera yang diantaranya terjadi pada bagian kepala (11,9%), dada (2,6%), punggung (6,5%), perut (2,2%), anggota gerak atas (32,7%), dan anggota gerak bawah (67,2%) (Laporan Nasional Riskesdas, 2018)



Gambar 1.1 Negara yang mengembangkan rekayasa jaringan
(Liu et al, 2013)

Untuk menangani masalah *bone defect* yang disebabkan oleh kecelakaan lalu lintas, scaffold dapat digunakan sebagai solusinya. Pada tahun 2012, Amerika Serikat memberikan kontribusi pemasukan pasar global di bidang rekayasa jaringan sebesar 48.6% dan merupakan negara yang terkemuka mendedikasikan 60% dari pengeluaran rekayasa jaringan global untuk penelitian dan pengembangan (**Gambar 1.1**) (Liu et al., 2013). Untuk sekarang, berdasarkan yang dikutip dari Grand View Search, pada tahun 2020 pasar teknologi *scaffold* dalam industri farmasi dan bioteknologi memberikan pemasukan terbesar yaitu 46.7%. pertumbuhan ini dikarenakan penggunaan aplikasi scaffold yang terus menerus tumbuh pada rekayasa jaringan digunakan untuk pembentukan tulang, perbaikan tendon, pertumbuhan tulang rawan, katup jantung, dan perbaikan malformasi hidung dan auricular

Tulang merupakan bagian yang sering ditransplantasikan setelah darah dengan jumlah lebih dari 2.2 juta bone graft telah dilakukan. Salah satu bone graft yang paling sering digunakan adalah scaffold (Varton et al., 2021). Pada tulang femur, tulang *cortical* merupakan wilayah bantalan utama, dan tulang *cancellous* memiliki kekuatan rendah sehingga cocok menggunakan sifat mekanik yang tinggi porositasnya yang tidak dapat menahan beban yang kuat, sehingga perbaikan scaffold pada *cancellous* lebih menekankan pada sifat biologinya. *scaffold* merupakan biokeramik, dimana memiliki sifat degradasi dan memiliki aktivitas biologi yang lebih tinggi dibandingkan material logam (Wang et al., 2021).

Scaffold yang dibuat harus memiliki sifat yang sesuai dengan tulang yang akan diimplan, dan harus biokompatibel dan tidak menyebabkan respon yang merugikan pada inang secara fisiologis, serta memiliki porositas yang sesuai dengan tulang, memiliki pori terinterkoneksi yang mana juga kondusif untuk pertumbuhan sel, serta permukaan kimia yang cocok untuk sel (Liu et al., 2013). Terdapat beberapa teknik dalam fabrikasi scaffold yang terdiri dari *solvent casting*, *particle leaching*, *gas foaming*, *electrospinning*, *thermal – induced phase separation*, *freeze- drying* dan lainnya (Eltom et al., 2019).

Untuk mendapatkan sifat biologi yang diinginkan maka scaffold dapat ditambahkan material seperti *hydroxyapatite* (HA) untuk meningkatkan sifat mekanik (Nitti et al., 2021). HA adalah kalsium fosfat, dimana merupakan komponen pembangun jaringan keras manusia dalam baik dalam morfologi maupun komposisi kimia (Sözüğeçer & Bayramgil, 2021). Akan tetapi, HA akan memberikan sifat getas dan kesusahan dalam memprosesnya (Wei & Ma, 2004). HA bisa didapatkan dengan mengekstraksinya melalui tulang ternak (Zhu et al., 2018).

Kitosan adalah polimer biomaterial yang serbaguna. Kitosan membangkitkan respon tubuh terdapat benda asing dan enkapsulasi berserat (Levengood & Zhang, 2014). Kitosan memiliki sifat yang sesuai untuk aplikasi pada biomedikal seperti *biodegradable*, *biocompatible*, *biomimetic*, dan antibakteri. Kitosan didapatkan dari *N-deacetylation* dari kitin, dimana kitin umumnya ditemukan pada invertebrate seperti, kulit krustasea atau kutikula serangga, dan beberapa jamur seperti, sel dinding alga hijau, dan ragi (Jennings, 2017).

Polimer yang dipakai pada aplikasi medis tidak selamanya harus memiliki sifat *biodegradable*, salah satunya adalah *polymethyl methacrylate* atau PMMA, merupakan polimer yang *non-biodegradable* yang memiliki tingkat kompatibilitas yang bagus pada jaringan manusia, dan telah banyak digunakan sebagai material *scaffolding* (Singh Jessy & Hakimi

Ibrahim, 2014). PMMA selain memiliki biokompabilitas yang bagus, PMMA juga memiliki *processability* dan harga murah dan menjanjikan untuk substitusi tulang. PMMA juga merupakan bioinert dan hidrofobik, serta merupakan salah satu solusi terbaik dalam pelapisan permukaan (Matbouei et al., 2019).

Scaffold yang dihasilkan akan dimodifikasi menggunakan *cross-linking* yaitu glutaraldehid (GTA). Setelah *cross-linking*, scaffold akan dilakukan 6 pengujian yaitu uji tekan, uji FTIR, mikroskop *stereotype*, uji porositas, uji bakteri dan MTT *assay* untuk mengetahui sifat dari scaffold yang dibuat

1.2 Perumusan Masalah

Dari latar belakang yang disampaikan maka terdapat rumusan masalah seperti berikut :

1. Bagaimana efek rasio dari Hidroksiapatit-PMMA-kitosan terhadap sifat mekanik dari *scaffold bone graft*?
2. Bagaimana dampak dari penambahan hidroksiapatit-PMMA-kitosan terhadap biokompatibilitas dari *scaffold bone graft*?

1.3 Batasan Masalah

Adapun Batasan masalah yang dibuat dalam percobaan ini agar tidak terjadi penyimpangan:

1. Temperatur ruangan dianggap konstan
2. Lingkungan penelitian dianggap steril dari kontaminanan
3. pH aquadest dianggap netral

1.4 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian yang dilakukan yaitu sebagai berikut:

1. Menganalisis efek kitosan-PMMA-hidroksiapatit terhadap sifat mekanik pada *scaffold bone graft*
2. Menganalisis efek kitosan-PMMA-hidroksiapatit terhadap sifat biokompatibilitas pada *scaffold bone graft*.

1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat dalam memberikan informasi mengenai Pengembangan komposit bone graft serta fabrikasi dari scaffold dengan *solvent casting* menggunakan bahan lokal, serta mengetahui dampak dari penambahan konsentrasi hidroksiapatit terhadap 3D scaffold yang dibuat apakah efektif dan efisien untuk aplikasinya.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tulang Femur

Tulang merupakan jaringan mineral yang kompleks serta tersusun secara teratur. Tulang merupakan komposit dari hidroksiapatit dengan kolagen tipe I. tulang diproduksi oleh *osteoblast* yang mana merupakan sel yang berbeda dari sel induk *mesenchymal* hadir dalam sumsum tulang. Terdapat dua jenis tulang dewasa: yaitu *cancellous* dan *cortical*. Yang mana mengandung sumsum tulang kaya sel induk yang penting untuk pertumbuhan jaringan ikat baru dan memproduksi sel darah. Tulang lunak dikelilingi oleh tulang *cancellous* dan membentuk kulit luar, dan memberikan bentuk pada tulang. Pada tulang terutama pada bantalan beban (*load bearing*) seperti femur, komponen *cortical* dari tulang ditandai dengan adanya penebalan untuk membentuk poros yang kuat (Brydone et al., 2010).

Femur merupakan tulang bagian atas dari kaki pada manusia. Leher pada femur menghubungkan gagang (*shaft*) dan kepala pada sudut 125°, yang mana efisien untuk berjalan. Perkembangan tulang busur yang disebut *trabecular* disusun secara efisien untuk mengirimkan tekanan dan menahan stress. Femur pada manusia mempunyai kemampuan untuk menahan gaya tekan 800 – 1100 kg (1800 – 2500 pound) (Kara Rogers Senior Editor, 2010).

Panjang rata rata dari femur pria dewasa adalah 48 cm dan memiliki diameter yaitu 2,34 cm. Tulang femur pada manusia mengandung mineral inorganik sebesar 66.8% yang terdiri dari kalsium 39%, kalium 0,2%, natrium 0,7%, magnesium 0,5%, karbonat 9,8%, fosfat 17%., selain itu tulang juga mengandung zat organik terdiri dari 27,5% yang hampir kebanyakan adalah kolagen. (Quelch et al., 1983) Femur juga dapat menopang berat badan 30 kali dari berat badan dari orang dewasa dan bertujuan untuk menahan persentasi terbesar dari berat badan ketika menahan berat normal. Femur merupakan tulang paling proksimal (paling dekat dengan badan) dari kaki pada vertebrata yang mampu digunakan untuk berjalan atau lompat dan kebanyakan dari berat badan bagian atas ditahan oleh femur. (Arun & Jadhav, 2016).



Gambar 2.1 Tulang femur (Karthik et al, 2018)

Tulang femur terdiri dari 3 bagian yaitu titik terjauh, badan dan batas bawah yang mana dapat dilihat pada **Gambar 2.1**. Bagian atas (*Proximal*) terdiri atas kepala dimana ditutupi oleh *cartilage*, dan *fovea* pada bagian tengah, leher yang memiliki Panjang 5 cm dan menghubungkan kepala dengan *shaft*, *greater* dan *lesser trochanters*. Badan adalah bagian terpanjang dan relatif memiliki bentuk tabung. Bagian bawah titik terjauh, memiliki bentuk sedikit *cuboids* (Karthik et al., 2018; N & Shaik, 2014)

Adapun sifat mekanik dari tulang femur ini yang ditunjukkan pada **Tabel 2.1** (Gautam & Rao, 2021; S. Lee et al., 2012)

Tabel 2.1 Sifat mekanik tulang femur (Gautam & Rao, 2021, S. Lee et al, 2012)

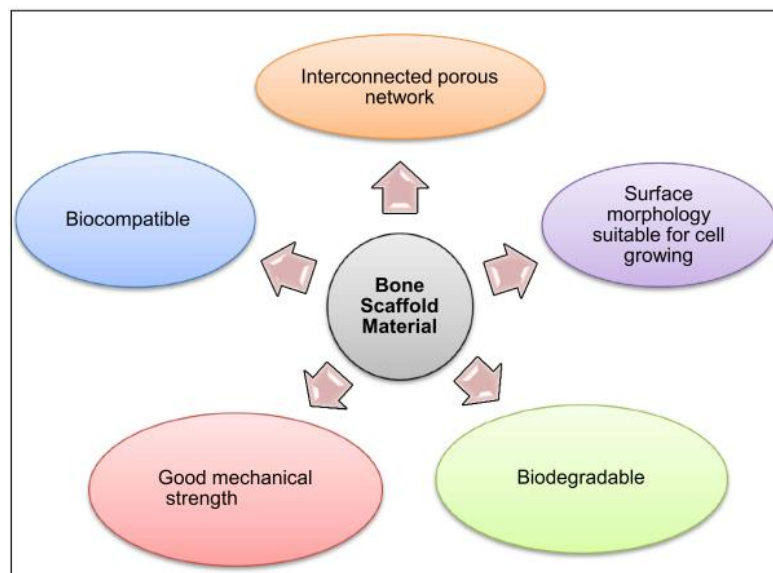
Parameter	Cortical Bone	Cancellous
Porositas (%)	5 - 10	75 - 85
Pore Size (μm)	10 - 50	300 - 600
Young's Modulus (MPa)	18155	3195.3
Kekuatan tekan (MPa)	110 - 150	2 - 6

Tulang Panjang yang mengalami *critical-size bones defects* (CSBD) susah untuk disembuhkan secara spontan, yang mana diperkirakan cacat dapat lebih besar daripada 2 kali dari diameter diafisis tulang panjang. Sehingga penyembuhan CSBD ini menjadi tantangan dalam rekonstruksinya. Cacat ini dapat direkonstruksi Kembali dengan menggunakan *scaffold* untuk mendukung tulang dari beban *bearing*, serta mendorong respon penyembuhan pada tulang aposional yang mengarah ke *interface* implan tulang yang stabil dan untuk penyembuhan berikutnya (Kelly et al., 2021).

Pada tulang femur, lebih tepatnya pada *femoral head* Langka untuk terjadi luka dibandingkan pada femur proximal. Dimana patah pada femoral head dapat hadir dengan pola yang bervariasi dengan atau tanpa hadirnya patahan disekitar pinggul. Jumlah kerusakan pada tulang rawan (*articular cartilage*) *femoral head* adalah faktor utama yang mempengaruhi hasil fraktur *femoral head* setelah dislokasi pinggul traumatis. Luka pada tulang rawan menjadi suatu tantangan juga dalam merekonstruksinya, yang mana sekarang ini digunakan *scaffold* 3D sebagai penanggulangan yang menjanjikan (Casiraghi et al., 2021)

2.2 Scaffold

Bone grafting adalah prosedur operasi yang mana menggantikan tulang yang hilang dengan material dari tubuh pasien itu sendiri, dari sintesis, buatan atau substitusi natural. *Bone grafting* dapat dilakukan dikarenakan jaringan tulang memiliki kemampuan regenerasi sepenuhnya jika disediakan ruang untuk tumbuh (Prasanna Kumar et al., 2013)



Gambar 2.2 Syarat Scaffold (Hutama & Mugroho, 2020)

Bone graft dibagi menjadi beberapa kategori seperti *autograft*, *allograft*, dan *xenograft* yang masing masing kategori memiliki kekurangan dan kelebihan masing masing. Ilmuan

melakukan eksperimen untuk menghasilkan *bone graft* baru dengan hasil regeneratif yang lebih dapat diprediksi serta komplikasi yang minimal (Asaad et al., 2016)

Kapasitas regenerasi jaringan dari *bone graft* ini diukur dalam hal potensi osteogenik, osteokonduktif, dan osteoinduktif (Polo-Corrales et al., 2014). *Scaffold* yang diimplankan ke jaringan tulang juga harus memenuhi syarat, seperti kemampuan permukaan dijadikan tempat adesi sel, biokompatibel dimana scaffold dapat diterima di dalam tubuh dan tidak menyebabkan efek yang berbahaya, *biodegradable*, memiliki porositas yang cukup tinggi untuk memberi ruang yang cukup untuk adhesi sel, regenerasi matriks ekstraselular, dan memiliki struktur pori yang memungkinkan untuk pemerataan sel melalui *scaffold* untuk memfasilitasi pembentukan jaringan yang homogen serta pori yang terinterkoneksi yang memungkinkan semua nutrisi hingga sel dapat tumbuh secara konsisten, gas, adesi sel, proliferasi sel diferensiasi dan dapat mengeliminasi zat buangan produk selama proses, serta memiliki sifat mekanik yang kuat (**Gambar 2.2**) (Hutama & Nugroho, 2020)

Tabel 2.2 Perbandingan Produk Scaffold (X. Zhang et al, 2019)

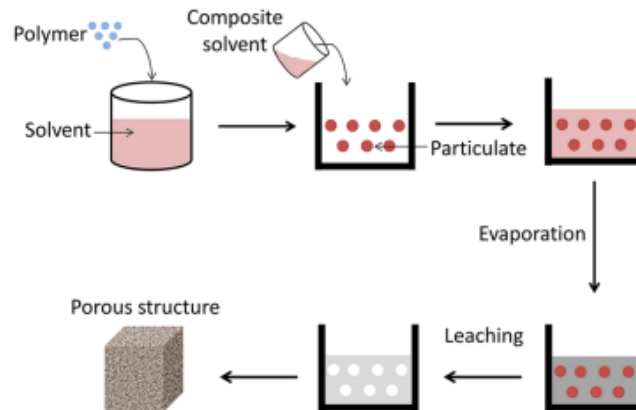
Nama Produk	Produsen	Material	Modulus Young (GPa)	Rasio Poisson	Ketebalan Struktur rata – rata (μm)	Rata – rata diameter pori (μm)	Porositas (%)
Titanium Dioxide Bio-Oss®	Corticalis AS	TiO ₂	230	0,29	50,4±4,9	320±35,1	86,0±4,5
Spongiosa Granules	Geistlich Pharma AG	Tulang sapi	15	0,3	158,5±15,3	320±56,7	60,1±3,4
Crabone®	Botish Dental GmbH	Hidroksiapatit Tulang sapi	83	0,28	117,4±11,8	300±43,2	69,0±3,8
Maxresorb®	Botish Dental GmbH	60% HA dan 40% β -TCP	102	0,276	62,3±5,6	140±33,6	67,5±3,6

Adapun perbandingan berbagai produk seperti sifat mekanik dan porositas dengan material yang berbeda (**Tabel 2.2.**) (X. Zhang et al., 2019). Scaffold yang dibuat ini dapat diaplikasikan pada pengimplanan pada tulang manusia salah satunya adalah *cancellous bone*. Pada saat dilakukan pengimplanan scaffold dipastikan memiliki sifat yang hampir sama dengan tempat yang akan diimplankan. Scaffold yang diimplankan diharapkan dapat terdegradasi dari tubuh pasien secara perlahan setelah dilakukannya operasi. Dimana, dalam jangka waktu 6 bulan scaffold yang telah ditanamkan nantinya akan memiliki kesamaan terhadap lingkungan di sekitar cancellous, serta tidak menuebabkan adanya dampak negatif pada lingkungan sekitar tulang (Faour et al., 2011).

Dalam memfabrikasi scaffold terdapat banyak pendekatan dalam pembuatannya yaitu *solvent casting* dengan *particulate leaching*, *thermally induced phase separation (TIPS)*, *freeze drying* dan lainnya, yang mana porositasnya dapat dikendalikan (P. Zhao et al., 2018)

2.2.1 Solvent Casting dan Particle Leaching

Geometri makro dari scaffold ini ditentukan dari rongga cetakan pengecoran, yang mana struktur porositasnya ini dikendalikan dari kandungan porogen yang ditambahkan serta ukuran dan bentuk dikendalikan dari porogen (Mi et al., 2014). Pada dasarnya, polimer akan dilarutkan dalam pelarut yang tepat dan kemudian garam yang tidak larut dicairkan dengan larutan polimer. Pelarut akan menguap akan menjadi tempat untuk komposit garam-polimer, yang mana akan dicuci untuk menghilangkan partikel garam. SCPL ini dipilih karena sederhana, tanpa membutuhkan alat alat mahal (Sola et al., 2019)



Gambar 2.3 Particulate Leaching (Liao et al, 2002)

Campuran dari partikel larutan garam dalam larutan polimer *biodegradable* akan dituangkan ke dalam cetakan dan pelarut akan dihilangkan dengan menggunakan pengering vacuum (*vacuum drying*) dan *lyophilization*, partikel garam yang larut dalam air kemudian dicuci dengan air untuk meninggalkan struktur berpori, dimana proses dapat dilihat pada **Gambar 2.3** (Liao et al., 2002).

Polimer yang paling umum digunakan adalah *poly(lactic acid)* (PLA) dikarenakan memiliki sifat yang baik seperti biokompatibilitasnya, biodegradasi, dan kemudahannya dalam membentuk struktur berpori. Garam yang digunakan pada campuran berfungsi sebagai porogen. Porogen yang digunakan juga dapat berupa sodium klorida (NaCl), kristal gula, gelatin, dan polimer (Bencherif et al., 2013; Sampath et al., 2016) Pada metode ini, ukuran pori, ketebalan dapat diatur dengan megubah besar partikel dari porogen (Park et al., 2015). Dengan meningkatkan ukuran partikel dari garam dapat menyebabkan meningkatnya diameter rata – rata, selain itu fraksi berat dari garam juga dapat meningkatkan porositas (Tessmar et al., 2005).

Kekurangan dari Teknik ini adalah terdapatnya sisa *cytotoxic* dari pelarut dan partikulat dan pengendalian yang rendah terhadap geometri spasial, serta rendahnya *interconnectivity* dari pori (Perić Kačarević et al., 2020).

2.2.2 Gas Foaming

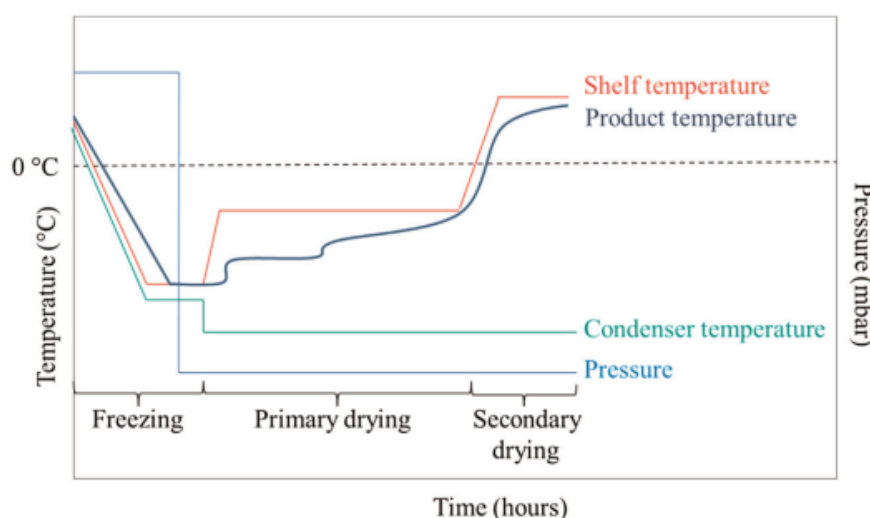
Gas foaming merupakan teknik pembuatan *scaffold* yang menggunakan gas karbon dioksida bertekanan tinggi untuk mendapatkan pori yang tinggi, yang mana stuktur pori dan porositas *scaffold* tergantung dengan jumlah gas yang terlarut di dalam polimer (Subia et al., 2010). Teknik ini bergantung pada penggabungan *blowing agent* untuk menghasilkan gelembung gas dalam sampel polimer padat dan akibatnya dapat pori – pori dapat terbentuk (Rey & St-Pierre, 2019).

Untuk membuat *interconnectivity* yang lebih bagus antar pori, maka teknik ini akan dikombinasikan dengan metode *salt-leaching*. Teknik hybrid ini pertama membuat komposit polimer dengan menggunakan porogen, komposit akan diletakkan dengan gas bertekanan tinggi

agar polimer bercampur dengan gas. Setelah itu scaffold akan dicelupkan pada air deionisasi untuk melarutkan partikel porogen, serta membuat lebih banyak pori dan meningkatkan *interconnectivity* pada pori (Carter & Bhattarai, 2013; Delivery & Plga, 2006).

2.2.3 Freeze-Drying

Freeze-drying atau *lyophilization* adalah teknik pembuatan *scaffold* 3D, dimana dapat membuat scaffold dengan geometri yang kompleks dan juga mendapatkan morfologi pori yang merata (Capuana et al., 2021). *Freeze – drying* terdiri dari 3 tahap yaitu pembekuan, pengeringan primer dan pengeringan sekunder yang dapat dilihat pada **Gambar 2.4** (Morais et al., 2016). Pada tahap pertama, senyawa akan diberikan perlakuan agar siap untuk diproses, yang mana terdiri dari *mixing* dengan agen tertentu untuk menghasilkan stabilitas yang lebih bagus pada senyawa dalam *freeze – drying*, seperti meningkatkan ketahanan pada tekanan rendah, atau meningkatkan sifat dari 3D *scaffold* baik sifat biologi maupun mekanik

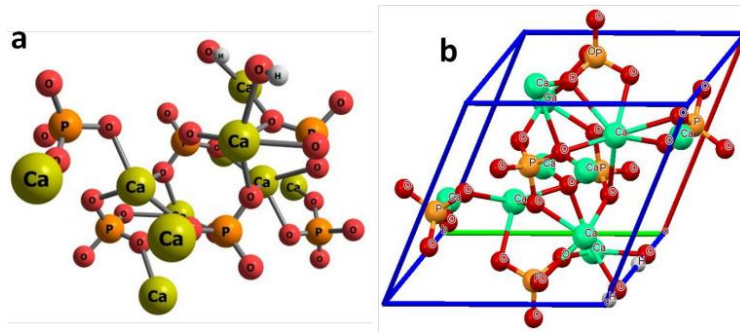


Gambar 2.4 Siklus Freeze-drying (Morais et al, 2016)

Pada tahap pembekuan, preparasi senyawa akan diletakkan pada cetakan khusus dan akan didinginkan dengan menggunakan nitrogen, kulkas mekanik atau dengan larutan metanol. Pada tahap ini temperatur harus dipertahankan dibawah *triple point* dari pelarut (Fereshteh, 2018) Pada tahap ketiga, es dan air yang tidak membeku akan diekstraksi dengan sublimasi dan desorpsi. Selain itu dengan menggunakan freeze – drying porositas yang dihasilkan pada *scaffold* sekitar 90% dan ukuran dari porinya adalah 20 hingga 200 μm , dimana ukuran pori dikendalikan dari kecepatan pendinginan, konsentrasi polimer serta temperatur. Untuk memperkuat *interconnectivity* serta porositas yang tinggi maka diperlukan vacuum (Collins et al., 2021).

2.3 Hidroksiapatit

Hidroksiapatit (HA) merupakan kalsium apatit biokeramik yang menjadi komponen utama pada jaringan tulang dan gigi. Hidroksiapatit memiliki rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (Fitriawan, 2016) Hidroksiapatit memiliki sifat mekanik dengan kekerasan 500 – 800 vickers, kekakuan tarik 40 – 100 MPa, kekuatan tekan 100 -900 MPa, *bend strength* sebesar 20 – 80 MPa, dan modulus young sebesar 70 – 120 GPa (Al-Sanabani et al., 2013). Bentuk molecular dari HAp yang mana dapat dilihat pada **Gambar 2.5 (a)**, merupakan analogi dari apatit



Gambar 2.5 (a) Struktur Molekul HAp dan (b) Struktur Kristal HAp dalam 1 Menit (Manuscript, 2020)

Konfigurasi molecular dari HAp mengandung 40% Ca, 18.5% P dan 3.38 % OH radikal yang memiliki berat dengan rasio 1.67 Ca/P. satu uni dari HAp terdiri dari struktur kristal hexagonal dengan parameter *lattice a* sebanding dengan 0.942 nm dan *c* adalah 0.688 nm dengan kelompok space $P6_3/m$ yang dapat dilihat pada **Gambar 2.5 (b)**. 1 unit sel particular dari HAp menggambarkan 14 ion kalsium yang mana terdapat 6 ion didalam unit sel sedangkan 8 sisanya berada pada tepi, yang berbagi dengan sel unit yang bersebelahan. Terdapat juga total 10 unit ion fosfat, 2 berada di dalam sel unit dan 8 berada di tepi. Untuk 8 ion hidroksida berada pada tepi dengan berbagi sel 4 unit masing masing. Sehingga jika dihitung 1 unit HAp terdapat 10 ion kalsium, 6 ion fosfat dan 2 ion hidroksida (**Gambar 2.5 (b)**) (Manuscript, 2020)

Hidroksiapatit dapat disintesis secara kimiawi ataupun dari diekstraksi dari sumber alam. Hidroksiapatit natural dapat diekstrak dari sumber biologikal atau limbah seperti tulang mamalia (contoh tulang sapi, unta, dan kuda), sumber biota laut (contoh tulang ikan dan sisik ikan), kulit (kerrang, kulit telur), tanaman dan/atau alga serta dapat juga dari sumber mineral (Mohd Pu'ad et al., 2019).

Dalam mengekstraksi hidroksiapatit dari tulang sapi, harus melalui beberapa tahap yaitu tulang akan dipotong menjadi bagian kecil dan dicuci, kemudian tulang akan direbus dengan air distilasi selama 5 jam, dimana air akan diubah setiap 1 jam sekali untuk mencegah lemak jenuh dan protein, kemudian tulang akan dikeringkan setelah itu tulang akan dikalsinasi menggunakan tungku selama 2 jam (Setiya Budiatin et al., 2020).

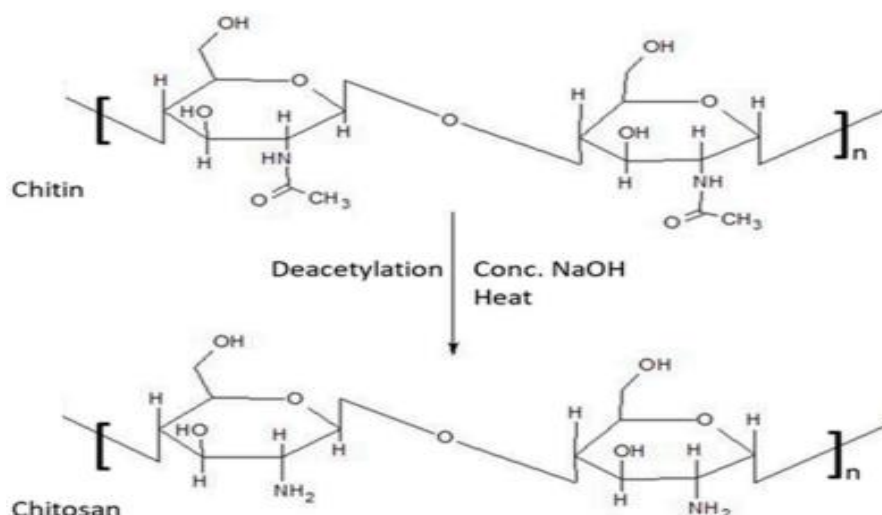
Selain dengan menggunakan tungku, dalam waktu dekat ini penggunaan *microwave* dalam pembuatan biomaterial sering dilakukan untuk proses pemanasan. Hal ini dikarenakan sintering dengan menggunakan *microwave* memberikan keuntungan lebih banyak dibandingkan metode pemanasan konvensional. Dengan menggunakan pemanasan *microwave* energi yang dikeluarkan cukup besar untuk menyelesaikan reaksi dalam menit ataupun detik, yang mana yang awalnya akan menghabiskan waktu berjam – jam ataupun berhari hari dengan pemanasan konvensional. Selain itu energi diserap secara langsung oleh molekul, sehingga pemanasan cepat dan merata didapatkan dan reaksi semakin cepat terjadi (Hassan et al., 2016; Türk et al., 2017).

Selain itu dengan menggunakan *microwave* dalam pembuatannya dapat memberikan dampak pada gugusnya juga. Dimana dengan menggunakan bantuan *microwave* akan menghasilkan hidroksiapatit dengan gugus fosfat yang banyak. Hal ini terjadi karena temperature dari *microwave* yang tinggi mempercepat proses hidrolisis dari biomolekul (Fu et al., 2016).

Hidroksiapatit banyak sebagai bahan biokeramik pada aplikasi bone graft, hal ini dikarenakan memiliki kemiripan pada komposisi kimia dengan tulang. Selain itu, hidroksiapatit memiliki sifat biokompatibel dan tidak menimbulkan pembengkakan/inflamasi (Rahmawati et al., 2020).

2.4 Kitosan

Kitosan merupakan derivatif penting dari kitin, yang mana dapat diproduksi dengan menghilangkan asetat dari kitin yang mana dapat dilihat pada **Gambar 2.6** (Mohammed et al., 2017). Kitosan adalah kopolimer yang mengandung β -(1 \rightarrow 4)-dihubungkan dengan 2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose dan 2-amino-2deoxy-D-glucopyranose (Ahmed & Ikram, 2016).



Gambar 2.6 Aksitilisasi Kitin menjadi Kitosan (Mohammed et al, 2017)

Derajat asetilasi (DA) menunjukkan persentase dari M-acetyl-D-glukosamin yang berhubungan dengan jumlah total dari 2 unit yang menjelaskan dua, kitin dan kitosan, dan mempengaruhi kelarutannya terhadap medium asam encer ($2 < \text{pH} < 6$). Umumnya, derajat asetilasi (DA) dari kitosan diperkirakan dibawah 50%, sedangkan chitosan larut dalam *buffer* asam encer (D. W. Lee et al., 2013). Namun Chitosan oligosakarida biasanya diidentifikasi dengan memiliki derajat aktilisasi lebih dari 90%, derajat polimerisasi yang urang dari 20 dan berat molekul rata – rata kurang dari 3900 DA (Naveed et al., 2019).

Dengan nilai berat molekul yang rendah dapat memberikan meningkatkan sifat antibakteri, serta biokompabilitas dari oligokitosan. Selain itu oligokitosan juga meningkatkan solubilitasnya, sehingga dapat larut dalam air, sedangkan untuk kitosan dengan berat molekul yang tinggi hanya dapat larut pada larutan asam (Researcher, 2021). Oligokitosan saat dilakukan FTIR, dapat ditemukan beberapa gugus yaitu amide I yang terletak pada 1620 cm^{-1} dan amide II pada 1514 cm^{-1} , selain itu juga dapat ditemukan OH dan amine yang telah mengalami *overlapping* pada vibrasi yang berbeda yaitu pada $3200 - 3500 \text{ cm}^{-1}$. Serta terdapat pelebaran CH da deformasi dari CH_3 yang dapat ditemukan pada 2890 cm^{-1} dan 1380 cm^{-1} (Venkatesan et al., 2010).

Berat molekul dari oligokitosan juga memberikan dampak pada sifat biologinya. Dimana jika berat molekul semakin rendah maka juga dapat membuat proses degradasi dari kitosan mejadi lebih cepat. Selain itu kitosan dengan berat molekul yang rendah juga memberikan sifat solubilitas yang tinggi hal ini dikarenakan menurunnya interaksi molekular seperti ikatan hidrogen ataupun gaya Van der Waals (Nguyen et al., 2017). Selain itu ada penelitian juga yang menyatakan bahwa dengan meningkatnya derajat aktilisasi serta menurunnya berat molekul dapat meningkatkan sifat antibakteri dari oligokitosan.

Efek antibakteri dari oligokitosan ini berasal dari gugus amidanya yang didapatkan dari hasil hidrolisis parsial. dimana molekul dari oligokitosan akan menyerang permukaan dari sel bakteri dengan cara membuat membrane polimer untuk mencegah terjadinya transportasi

nutrisi terhadap sel, sehingga membrane sel dari bakteri *s. aureus* menjadi rusak dan mati (Lillo et al., 2008). Sifat antibakteri dapat dikategorikan dalam beberapa, yaitu menjadi lemah, sedang kuat, dan sangat kuat. Kategori ini dapat dilihat pada **Tabel 2.3**

Tabel 2.3 Kategori diameter zona hambat (Surjowardojo et al., 2015)

Diameter (mm)	Kekuatan daya hambat
≤ 5	Lemah
6 – 10	Sedang
11 – 20	Kuat
≥ 21	Sangat kuat

Kitosan yang dilarutkan di dalam larutan asetat menunjukkan penipisan *shear* dan peningkatan viskositas dengan meningkatkan konsentrasi. Akan tetapi viskositas dari kitosan dalam asam asetat dapat berkurang seiring dengan kenaikan dari temperature (El-Hefian et al., 2010). Viskositas yang telah dihitung dapat dikategorikan menjadi beracun atau tidak yang dapat dilihat pada **Tabel 2.4**

Tabel 2.4 Kategori hasil viabilitas (Dahl et al., 2006)

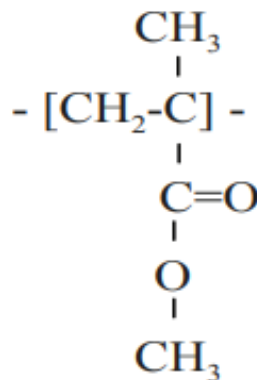
Kategori	%Sel Hidup
Non cytotoxic	>90%
Slightly cytotoxic	60 – 90%
Moderately cytotoxic	30 – 59%
Strongly cytotoxic	<30%

kitin dan kitosan memiliki sifat yaitu biokompatibel, *biodegradable*, *nontoxic*, antimicrobial dan merupakan agen *hydrating*. Dikarenakan sifat ini, kitin dan kitosan memiliki sifat biokompabilitas yang bagus serta memiliki efek positif terhadap penyembuhan luka (Jayakumar et al., 2011) Kitin dapat diproduksi oleh beberapa organisme hidup seperti tumbuhan dan binatang, contohnya adalah dari krustasea seperti kepiting, udang dan udang karang ataupun organisme lain seperti fungi (Elieh-Ali-Komi & Hamblin, 2016) Kitosan dapat diproduksi dengan menggunakan bantuan radiasi dari microwave, dimana jika dengan menggunakan bantuan radiasi microwave dapat memberikan ekspansi pada kitosan sebagai absorban untuk menghilangkan logam berat (Yang et al., 2010)

2.5 Polymethyls Methacrylate

Poly(methyl methacrylate) (PMMA) merupakan polimer termoplastik yang memiliki biokompabilitas yang bagus dengan lingkungan biologi (Radha et al., 2017). PMMA juga menjadi pilihan utama sebagai modifikasi untuk biopolimer yang mana dapat memberikan sifat yang diinginkan seperti sifat mekanik, termal yang dapat diterima stabilitas, kompabilitas, *biological inertness* dan *non-toxicity* yang mengarah untuk aplikasi untuk rekayasa jaringan tulang (Vedhanayagam et al., 2020).

Keuntungan dari penggunaan PMMA tidak mengandung zat – zat berbahaya seperti bisphenol-A yang dapat ditemukan pada polikarbonat, akan tetapi PMMA memiliki kecepatan degradasi yang rendah (Manoukian et al., 2019). Selain itu PMMA memiliki beberapa kelemahan seperti *non-bioactive*, *non-unifiable* dengan tulangnya inang, *impermeable* dengan faktor pertumbuhan dan merupakan agen kemoterapis, non-osteo konduktif, dan tidak cocok/kompatibel secara biologi terhadap lingkungan (Komang-Agung et al., 2018)



Gambar 2.7 Struktur kimia PMMA (Hogabri et al , 2009)

PMMA memiliki kekuatan tekan sebesar 44,1 MPa dan massa jenis sebesar 2.34 g/cm³ (Jeffrey et al., 2015). Umumnya PMMA ini dibuat dengan bubuk PMMA yang nanti akan dicampurkan dengan monomernya yaitu MMA. Dimana MMA ini beracun dan dapat membuat kulit manusia mengalami iritasi. MMA tidak bewarna serta memiliki bau yang kuat , serta memiliki sifat mudah terbakar (Kuehn et al., 2005). Bubuk PMMA memiliki bentuk butiran bulat dengan ukuran partikel sebesar 4 µm. untuk monomer MMA dipersiapkan dengan mencampurkan monomer dengan N,N-dimethyl-p-toluidine yaitu sebagai akselelator (Kamimura et al., 2002).

PMMA pada saat dilakukan FTIR memiliki peak pada panjang gelombang C – H 729 cm⁻¹, 956 cm⁻¹, C – O 1145 cm⁻¹, CH₃ 1395 cm⁻¹, CH₂ 1437 cm⁻¹, C=O 1729 cm⁻¹, C – H 2935 cm⁻¹. Hasil FTIR ini sesuai dengan struktur rantai yang ditampilkan dengan **Gambar 2.8** (Hogabri et al., 2009)

MMA yang memiliki sifat beracun ini dapat diketahui dengan melakukan pengujian MTT assay, dimana dilakukan perhitungan terhadap jumlah sel yang mati dengan menggunakan kontrol positive (Priti Kumar et al., 2018). PMMA beracun ini dikarenakan adanya sisa MMA yang tidak terjadi polimerasi secara sempurna. Dimana monomer MMA ini memiliki sifat beracun dikarenakan adanya kelompok hidroksil dan metakrilat yang meningkatkan sifat beracunnya. MMA ini dapat menyebabkan terjadinya *pyknosis* yang ditandai dengan membrane sel yang membengkak dan tidak beraturan serta kehilangan kekuatan menempelnya pada lempeng microtiter (Yuliati, 2005).

2.6 Glutaraldehid

Cross – linking merupakan salah satu cara untuk meningkatkan sifat mekanik dari suatu material organik. Dimana glutaraldehid adalah *cross-linking* paling sering digunakan (H. Zhao et al., 2021). Crosslinking dapat didefinisikan sebagai induksi kimia atau tautan fisik yang terjadi antara rantai pilmer, yang mana dapat berguna untuk memodifikasi sifat mekanik, biologis dan sifat degradasi. Selain meningkatkan sifat mekanik, cross-linking juga harus tidak memberikan efek beracun. Dalam melakukan cross – linking terdapat beberapa metode yang dapat dilihat pada **Tabel 2.5** (Oryan et al., 2018)

Tabel 2.5 Metode crosslinking

Metode	Kelebihan	Kekurangan
Fisik	1. Aman	1. Ikatan lebih lemah dibandingkan crosslinker kimia
	2. Kurang beracun untuk sel daripada metode kimia	2. Dapat merubah sifat dari material

	3. Murah	3. Reaksi kinetik crosslinking yang kurang terkontrol
	4. Reaksi jaringan yang minimum setelah proses crosslinking	4. Memerlukan durasi yang lebih lama untuk crosslinking
Enzim	1. Lebih aktif pada kondisi reaksi <i>mild aqueous</i>	5. Crosslinking dengan derajat rendah
	2. Proses dapat dikontrol dengan memodifikasi temperature, pH atau kekuatan ion	1. Crosslinking termahal
Kimiawi	1. Membentuk ikatan yang sangat kuat	2. Spesifisitas substrat
		1. Hampir sangat beracun untuk sel
		2. Perlu dilakukan pencucian untuk membersihkan cross-linker beracun yang bersisa
		3. Lebih mahal dibandingkan <i>cross – linker</i> fisik

Glutaraldehid banyak digunakan karena dapat meningkatkan kekuatan mekanik serta ketahanan. Glutaraldehid sendiri bereaksi dengan kelompok amino yang terdapat pada molekul protein. Cross – linking dengan glutaraldehid dapat membuat scaffold menjadi non-resorbable dan non-amenable untuk kemampuannya menahan matriks metalloproteinase, tetapi tidak dapat menahan etalase (Ma et al., 2014). Dalam *cross – linking*, glutaraldehid memiliki gugus fungsi aldehyd bebas, dimana dari gugus aldehyd ini dapat berikatan dengan kitosan, sehingga dapat meningkatkan kekuatan dari scaffold. Walaupun dengan bereaksinya gugus aldehyd dengan rantai polimer pada kitosan, hal ini tidak menginduksi atau menyebabkan efek sitotoksik, hal ini banyak terjadi pada konsentrasi glutaraldehyde sebesar 0,2% (Pinto et al., 2020)

Glutaraldehyde yang tersisa setelah proses cross-linking dapat menyebabkan sitotoksik yang dapat menginduksi kematian sel endotel. Detoksifikasi dapat dilakukan dengan menetralkan aldehyd bebas dengan menggunakan asam amino. Asam amino karboksil dapat digunakan sebagai preparasi aldehyde dalam jaringan biologis.

Konsentrasi glutaraldehyde yang digunakan adalah dalam jangkauan 0.2 – 0.6%. yang mana dengan konsentrasi aldehyde yang rendah tidak efektif dalam sterilisasi terhadap mycobacteria, sedangkan untuk konsentrasi tinggi dapat menyebabkan jaringan menjadi kaku (Ma et al., 2014). konsentrasi glutaraldehyde dengan konsentrasi 0.2%, akan menyebabkan kelompok fungsi aldehyde akan crosslinking dengan kerangka polimer, yang mana meninduksi tidak terjadinya efek sitotoksik dan akan meningkatkan fungsional sel (Pinto et al., 2020).

2.7 Penelitian Sebelumnya

Banyak Riset yang telah dilakukan sebelumnya untuk mengkaji pembuatan komposit bone graft scaffold dengan berbahan hidroksiapatit-kitosan serta pengembangannya yang dapat dilihat pada **Tabel 2.7**

Tabel 2.6 Penelitian sebelumnya

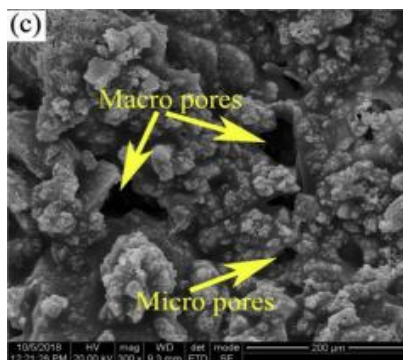
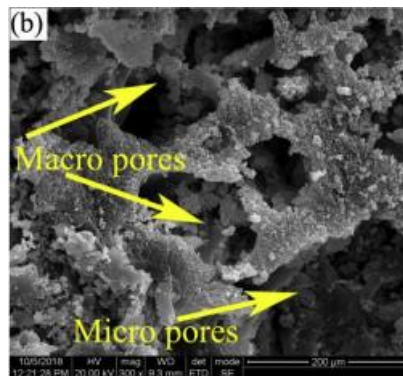
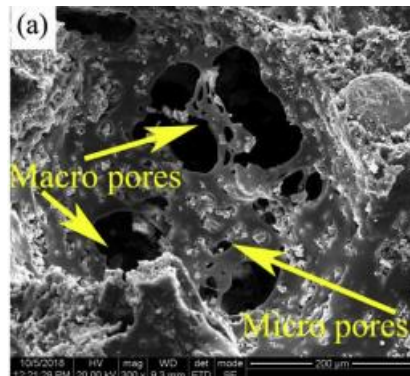
No	Judul	Metode	Hasil	Pustaka
1	High-strength pristine porous chitosan	Pembuatan scaffold dengan konsentrasi kitosan berbeda yaitu 4,6,8, dan 12	Semua hasil scaffold memiliki ukuran porositas 100 - 500 μ m. porositas scaffold diukur dengan mercury intrusion menunjukkan penurunan 94.5 \pm 0.91%,	(Jana et al., 2012)

scaffolds for tissue engineering wt%) dimana chitosan akan dilarutkan pada asam asetat 0.34 M (2 vol%) sampel akan di *lyophilized* dan scaffold akan diuji SEM, *in vitro*, XRD, dan uji tarik 92.7±1.32%, 89.9±1.78% hingga 86.1±2.13% yang secara berturut turut untuk 4,6,8 dan 12 wt%. sedangkan untuk kekuatan mekanik seperti kekuatan tekan dan modulus meningkat sebesar 0.31±0.02 dan 5.56±0.38MPa (4wt%), 0.5±0.01 dan 10.08±0.87(6wt%),0.96±0.04 dan 15.77±0.98 (8wt%) 1.74±0.01 MPa, dan 17.99±0.11 MPa (12wt%)

Hasil menunjukkan bahwa *scaffold* dengan variasi 60 hingga 70 memiliki morfologi pori interconnected yang cocok untuk

2 Developme nt of bone scaffold using puntius conchonus fish scale derived hydroxyapat ite: physico-mechanical and bioactivity evaluation

Larutan dibuat dengan variasi 50, 60, 70, 80, 90 wt%. kemudian dicampurkan dengan PMMA dan diaduk selama 6 jam, dan selanjutnya dituang ke cetakan. Kemudian sampel akan dileaching dan terbentuk scaffold. Hasil akan diuji TGA, FTIR,XRD, SEM, Porositas, Tekan, degradasi, water absorption, dan bioactivity.



(Deb et al., 2019)

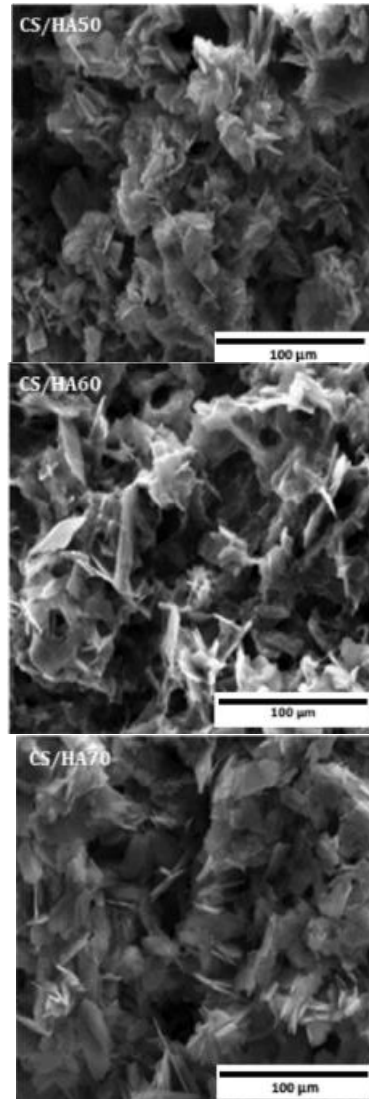
pertumbuhan tulang dibandingkan dengan HAp 80. Dengan kenaikan

- 3 Fabrication of biocompatible porous scaffold based on hydroxyapatite/collagen/chitosan composite restoration of defected maxillofacial mandible bone
- Metode yang digunakan untuk memfabrikasi scaffold adalah freeze drying, dimana dengan kombinasi HAp 60%, dan collagen-chitosan 40%. Scaffold akan dicrosslinking dengan 2 metode yaitu fisik dan kimia. scaffold akan diuji tarik, FTIR, SEM, porositas, biodegradabilitas, in vitro dan in vivo
- dari HAp akan menyebabkan distribusi dari HAp yang tidak merata karena adanya aglomerasi dari hidroksiapatit pada matriks PMMA. Serta terdapat peningkatan kekuatan tekan pada variasi HAp hingga 70 wt%, akan tetapi porositas akan menurun dengan meningkatnya konsentrasi HAp. Kekuatan tekan menunjukkan 7.26 ± 0.45 MPa dan porositas yang memadai $75 \pm 0.8\%$ pada scaffold 70% HAp, serta untuk degradasi dan water absorption dari scaffold 70 wt% adalah $8.0 \pm 0.68\%$ dan $190 \pm 11\%$ yang cocok dengankondisi pertumbuhan tulang
- Hasil dari percobaan ini adalah scaffold HAp, collagen chitosan dengan crosslinking GTA menunjukkan pertumbuhan akan tetapi gugus fungsi aldehid dari GTA memiliki dampak beracun, untuk tingkat selular komposit scaffold bertindak sebagai sel proliferasi hingga jaringan tulang baru beregenaris sempurna. Kompabilitas in vivo dan utilitas dari scaffold HAp.Col.Cs- IR dan HAp.Col.Cs-DHT memberikan kontribusi pada penyembuhan tulang mandible. Berdasarkan morfologinya scaffold dengan cross-linking IR memiliki diameter pori $74,43 - 34,12 \mu\text{m}$ (rata rata $164.3 \mu\text{m} \pm 86$), untuk scaffold HAp Col1-Cs-DHT $87,86 - 125,68 \mu\text{m}$ (rata - rata $101 \mu\text{m} \pm 17$), HA col1 Cs-GTA $212.6 - 376.09 \mu\text{m}$ (rata - rata $273,43 \mu\text{m} \pm 49$) dan HAp Col1 Cs- HEMA $98-204 \mu\text{m}$ (rata - rata $142 \mu\text{m} \pm 40$)
- (Rahman et al., 2019s)

Hasil dari penelitian ini berhasil membuat scaffold untuk membantu sel proliferasi dan diferensiasi. Hal ini dikarenakan sifat kimia dari kitosan dan sifat dari hidroksiapatit yaitu bioaktif

4 *Chitosan/hydroxyapatite nanocomposite scaffold to modulate osteogenic and inflammatory response*

Metode yang digunakan membuat scaffold adalah freeze – drying dengan bahan dasar kitosan dan hidroksiapatit yang hasilnya diuji dengan SEM dan biologis



(Soriente et al., 2022)

dimana scaffold dengan variasi Cs/HA (60 dan 70% v/v) memiliki respon biologi yang baik. Serta Cs-HA 70% memiliki dampak pada pertumbuhan sel yang baik. Selain itu scaffold Cs/HA menunjukkan adanya penurunan nilai pembengkakan pada sitokin.

5 *In – vivo study of nano chitosan as*

Metode yang digunakan untuk memproduksi kitosan adalah

Hasil dari penelitian ini adalah kitosan yang dihasilkan memiliki berat molekul 385 DA. Selain itu kitosan ini sukses digunakan

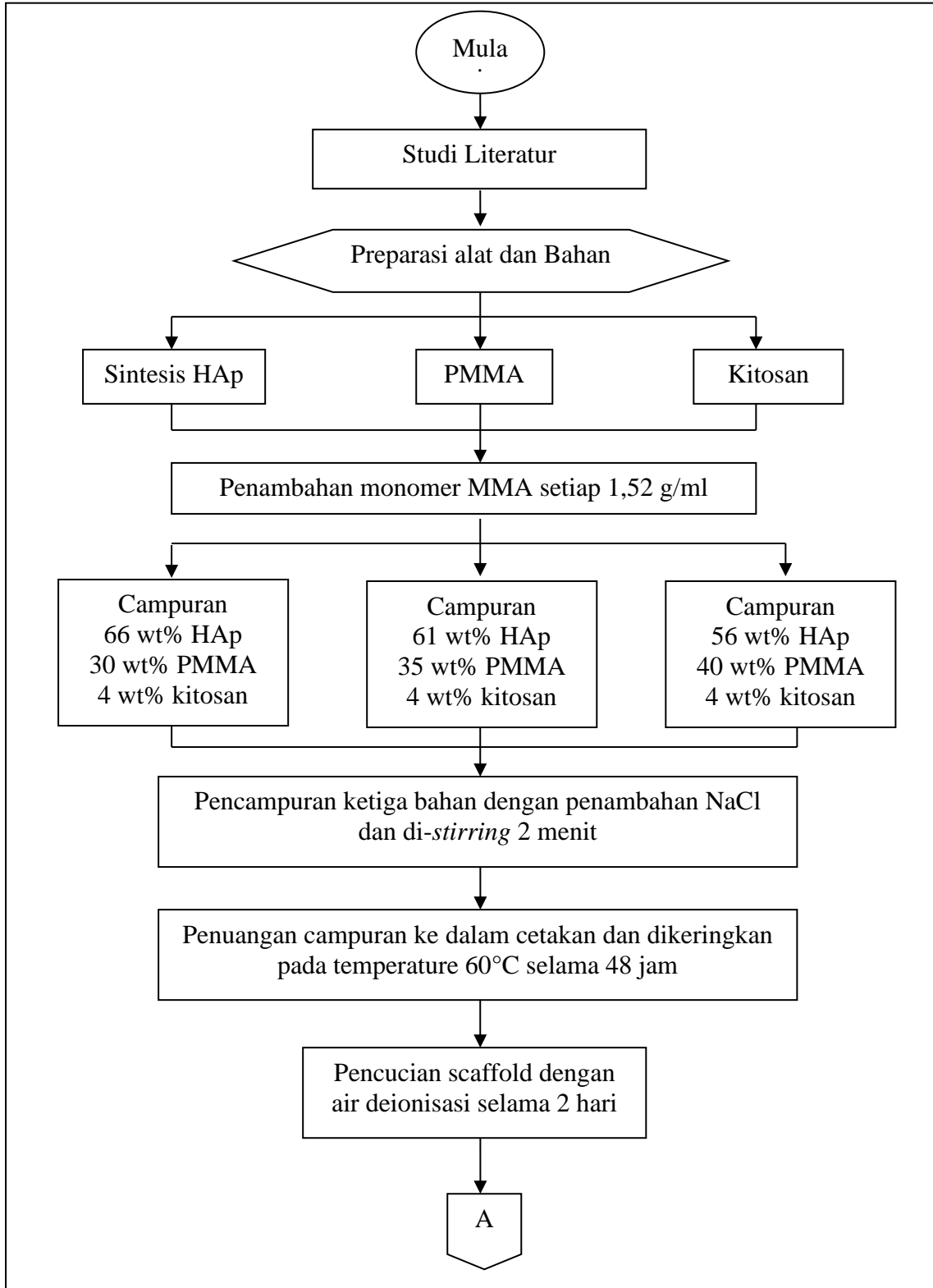
(Setiyorini et al., 2022)

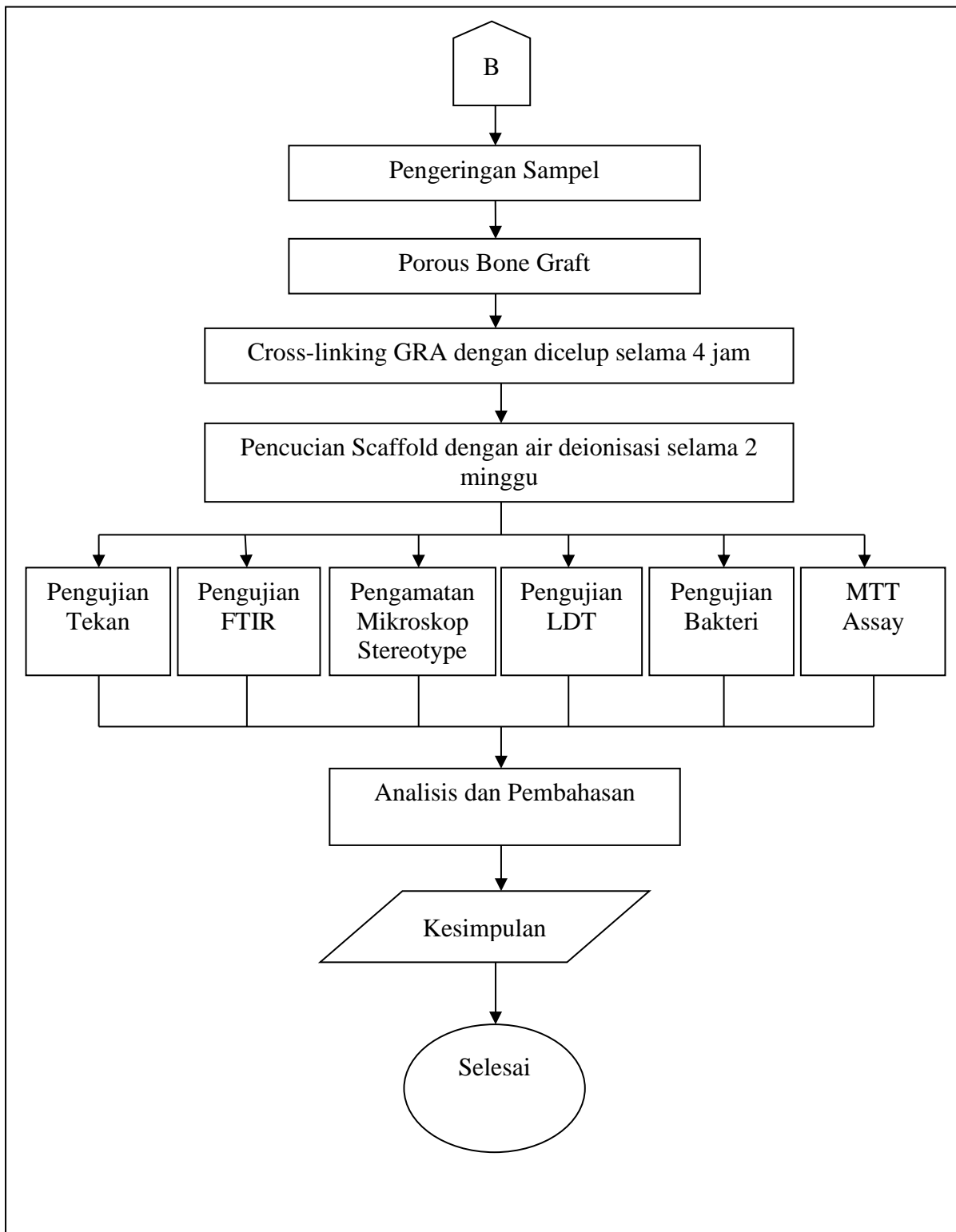
therapeutic agent for toxic metal implant dengan bantuan microwave dengan daya 720 watt dan waktu 90 menit. Produk kitosan akan diuji *in – vivo*, pengukuran berat, radiografi, dan pengukuran konsentrasi kromium sebagai agen terapi untuk penyerapan ion Cr^{6+} pada tubuh serta kitosan ini juga mempercepat proses penyembuhan. Dengan berat molekulnya yang rendah, kitosan ini dapat menjadi bahan yang menjanjikan pada dunia kedokteran

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Diagram Alir

Diagram Alir pembuatan bone graft scaffold dapat dilihat pada **Gambar 3.1**





Gambar 3.1 Diagram alir penelitian

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian ini yaitu:

1. Gelas kimia
Penggunaan gelas kimia berukuran 250 mL pada penelitian ini digunakan sebagai wadah larutan hidroksiapatit kitosan dan PMMA
2. Magnetic stirrer
Penggunaan *magnetic stirrer* pada penelitian ini untuk mengaduk larutan secara otomatis agar menjadi homogen
3. Microwave
Penggunaan microwave pada penelitian ini adalah untuk mensintesis hidroksiapatit dengan daya 800 watt dalam waktu 70 menit
4. Muffle furnace
Penggunaan muffle furnace pada penelitian ini untuk memanaskan dan mengeringkan tulang sapi serta scaffold
5. Mesin *crusher centrifugal*
Penggunaan mesin *crusher centrifugal* pada penelitian ini untuk menghancurkan tulang sapi menjadi granul
6. *Sieve shaker machine* dan *sieving*
Penggunaan alat ini untuk memisahkan bubuk dengan beberapa ukuran
7. Pipet tetes
Penggunaan pipet tetes pada penelitian ini untuk pengambilan zat kimia dari wadah gelas ukur
8. Crucible
Penggunaan crucible pada penelitian ini untuk tempat penampungan bubuk tulang sapi yang akan dimasukkan ke dalam microwave
9. Spatula
Penggunaan spatula pada penelitian ini untuk pengambilan bahan padat
10. Pinset
Penggunaan pinset pada penelitian ini untuk pengambilan bahan scaffold dari cawan petri setelah dilakukan cross – linking
11. Timbangan digital
Penggunaan timbangan digital pada penelitian ini untuk dilakukannya penimbangan berat padatan
12. Silikon rubber
Penggunaan silikon rubber pada penelitian ini sebagai tempat pencetakan dan terjadinya solidifikasi dari campuran
13. Gelas ukur 10 mL
Penggunaan gelas ukur pada penelitian ini untuk dilakukannya pengukuran volume larutan
14. Gerinda Tangan
Penggunaan gerinda tangan pada penelitian ini untuk dilakukan pemotongan tulang sapi menjadi bagian kecil

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu :

1. Tulang Sapi
Penggunaan tulang sapi pada penelitian ini sebagai bahan dasar untuk pembuatan hidroksiapatit. Tulang sapi dibeli dari salah satu toko jagal sapi di Gresik
2. Kitosan
Penggunaan kitosan pada penelitian ini sebagai bahan dasar untuk pembuatan scaffold. Kitosan yang digunakan berjenis oligokitosan yang memiliki berat molekul sebesar 385DA. Kitosan diproduksi di Laboratorium Mineral dan Material ITS. Kitosan digunakan sebagai reinforce
3. Hidroksiapatit
Penggunaan hidroksiapatit pada penelitian ini adalah sebagai salah satu bahan dasar untuk pembuatan scaffold sebagai reinforce
4. Larutan MMA
Penggunaan larutan MMA pada penelitian ini adalah sebagai matriks dari hidroksiapatit dan kitosan. Larutan MMA yang digunakan memiliki molekul massa 100,8 g/mol yang dibeli di Sigmaaldrich.
5. Bubuk PMMA
Penggunaan bubuk PMMA pada penelitian ini adalah sebagai matriks dari scaffold. PMMA yang dipakai dibeli di Sigmaaldrich
6. Glutaraldehyd (GTA)
Penggunaan GTA pada penelitian ini adalah sebagai cross – linking pada scaffold
7. Air Deionisasi
Penggunaan air deionisasi pada penelitian ini adalah untuk dilakukannya pencucian scaffold yang telah dilakukan cross – linking dengan GTA, juga digunakan untuk pencucian scaffold saat particulate leaching
8. NaCl
Penggunaan NaCl pada penelitian ini adalah sebagai agen porositas pada scaffold. NaCl yang digunakan memiliki ukuran butir 200 - 300 μ m. NaCl dibeli pada salah satu toko kimia di Surabaya yaitu toko kimia Rajawali

3.3 Metode Penelitian

Metode yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Studi literatur
Pada tahapan ini, pencarian tinjauan dilakukan melalui buku, jurnal, paten, maupun penelitian serupa mengenai scaffold terbuat dari kitosan – hidroksiapatit – PMMA dengan metode *solvent casting – particulate leaching*.
2. Diskusi
Pada tahapan ini, permasalahan akan diperliat dan dilakukan pencarian solusi pada penelitian yang akan dirancang. Keberlangsungan diskusi dilakukan bersama dengan pihak yang bersinggungan dalam penelitian ini
3. Eksperimental
Penelitian diawali dengan pembuatan bubuk HAp dari tulang sapi yang akan dilanjutkan dengan pembuatan campuran bubuk HAp, kitosan, PMMA, serta larutan MMA. Kemudian pengujian dilakukan pada scaffold yang terbentuk, pengujian berupa uji tekan, FTIR, pengamatan mikroskop stereotype, LDT, Bakteri dan MTT assay

3.3.1 Preparasi hidroksiapatit

Adapun Langkah – Langkah preparasi yang dilakukan yaitu :

1. Perebusan dilakukan terhadap tulang sapi dengan berat sebanyak 25 kg selama 3 jam
2. Pengeringan dilakukan pada tulang sapi dan dilanjutkan dengan pemanasan tulang sapi pada *furnace* elektrik pada temperature 50°C hingga tulang memutih
3. Dilakukan pemotongan tulang sapi menjadi bagian kecil dan penghancuran tulang dengan *centrifugal crush machine* hingga menjadi bubuk
4. Penyaringan dilakukan pada bubuk tulang sapi dengan alat *vibrating shieving*
5. Bubuk yang telah disaring dilakukan pemanasan dengan microwave pada daya dan waktu tertentu
6. Pengujian FTIR dilakukan pada hidroksiapatit yang terbentuk. Pengujian dilakukan untuk ditemukan gugus CO_3^{2-} , PO_4^{3-} , dan OH^-

3.3.2 Preparasi scaffold

Adapun langkah – langkah preparasi yang dilakukan yaitu :

1. Persiapan bubuk hidroksiapatit dan bubuk kitosan serta larutan PMMA
2. Pencampuran ketiga bahan serta penambahan NaCl serta pengadukan dengan *magnetic stirrer* hingga homogen dengan tiga rasio HAp, PMMA, dan kitosan yang berbeda yaitu 66:30:4; 61:35:4; dan 56:40:4
3. Penuangan campuran dilakukan dalam silikon rubber dengan ukuran
4. Setelah dilakukan penuangan dilanjutkan dengan, pemanasan scaffold selama 48 jam dengan temperature 60°C agar terjadi solidifikasi
5. Pencucian scaffold atau leaching dilakukan dengan menggunakan air deionisasi selama 48 jam dengan dilakukan pergantian air setiap 12 jam sekali agar NaCl yang terjebak dapat dikeluarkan
6. Pencelupan dilakukan scaffold pada cross-linking GTA 0,2% selama 4 jam, dilanjutkan dengan pembersihan scaffold dengan air deionisasi selama 2 minggu. Serta dilakukan pergantian air selama 12 jam sekali
7. Pengujian dilakukan terhadap scaffold yang terdiri dari uji tekan, FTIR, pengamatan mikroskop stereotype, LDT, Uji bakteri dan MTT assay

3.4 Pengujian

3.4.1 Pengujian FTIR

FTIR merupakan salah satu alat analisis yang menggunakan radiasi infra merah, dimana radiasi ini akan dipancarkan pada sampel. Penyerapan molekul dan transmisi merupakan hasil dari penyerapan infrared. Setiap molekul yang digambarkan FTIR akan memiliki pola vibrasi yang berbeda serta pola ikatan antar atom yang berbeda. Infra merah yang dipancarkan berasal dari interferometer, yang mana radiasi ini akan dipancarkan melalui sampel dan diserap oleh sampel. Sinar yang melalui dan diserap sampel ini akan dideteksi oleh detektor, yang mana akan diubah menjadi spektrum oleh interferogram. Pengujian FTIR dilakukan menggunakan FTIR dengan jangkauan medium, frekuensi getaran yang digunakan adalah $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Pengujian ini dilakukan untuk melihat gugus fungsi karbonat pada frekuensi getaran 1450 cm^{-1} , fosfat $560, 602, 1040 \text{ cm}^{-1}$, dan hidroksida 3420 cm^{-1} pada hidroksiapatit, sedangkan untuk melihat adanya kitosan pada scaffold dilihat pada frekuensi getaran $1658,78; 1635,64 \text{ cm}^{-1}$ untuk melihat keberadaan amida, serta $3280; 3448,72$ untuk melihat keberadaan N – H. selain itu juga dilakukan analisis pada frekuensi getaran $2992, 2952$ agar melihat adanya gugus C – H untuk mengetahui adanya ikatan dengan *glutaraldehyde*

3.4.2 Pengamatan mikroskop stereotype

Mikroskop stereotype merupakan mikroskop optic yang memberikan pengamatan specimen secara 3 dimensi. Mikroskop ini terdiri dari 2 lensa yang terbagi jadi 2 yaitu lensa objek dan lensa okuler. Prinsip kerja dari mikroskop ini adalah menggunakan cahaya yang nantinya dipantulkan pada specimen yang akan diamati. Cahaya yang dipantulkan ini akan membantu pengamatan benda yang tebal ataupun tipis. Penggunaan mikroskop ini untuk melihat permukaan dari scaffold yang telah dibuat, serta mengamati bentukan pori dari scaffold secara 3 dimensi.

3.4.3 Liquid Displacement Test (LDT)

Porositas dari scaffold dapat diukur dengan pengujian *Liquid Displacement Test* (LDT). LDT merupakan salah satu pengujian NDT, pada pengujian ini digunakan prinsip dari Archimedes, porositas pada scaffold merupakan void yang berisikan udara ataupun air. Porositas dapat didefinisikan dengan rasio antara volume rongga dengan volume scaffold

Rumus perhitungan porositas scaffold dapat dilihat pada **Persamaan 3.1**:

$$N = \left(1 - \frac{\rho_d}{\rho_u}\right) \quad (3.1)$$

Dimana, N merupakan berapa banyak porositas dalam persen, ρ_d merupakan bulk density dari scaffold yang dicari dengan menggunakan metode stoikiometri. Sedangkan ρ_u densitas partikel yang dapat dihitung dengan menggunakan **Persamaan 3.2**

$$\rho_u = \left(\frac{m_u}{m_u - m_s}\right) \times \rho_w \quad (3.2)$$

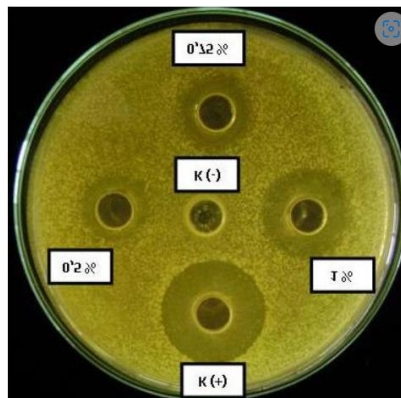
ρ_w merupakan densitas dari air, m_u merupakan massa sampel saat diletakkan pada beaker glass tanpa ada cairan, m_s merupakan massa sampel saat dicelupkan ke dalam cairan

3.4.4 Pengujian Tekan

Pengujian tekan dilakukan untuk mendapatkan kekuatan tekan dari scaffold yang mana kekuatan tekan menyatakan banyaknya tegangan yang dibutuhkan untuk menghancurkan scaffold. Pengujian tekan ini dilakukan dengan menggunakan alat *universal testing machine* di Laboratorium Inovatif Material ITS. Spesimen dipersiapkan berdasarkan ASTM D 695 serta dengan ukuran specimen yaitu diameter 12,7 mm dengan Panjang 25,4 mm. Sampel diberikan pembebanan sebesar 600 kN dengan kecepatan regangan 5mm/min.

3.4.5 Pengujian Bakteri

Pengujian dilakukan dengan kultur bakteri *staphylococcus aerus* (**Gambar 3.2**). Dimana pengujian ini ditujukan untuk mengetahui antimikroba dari scaffold. Saat dilakukan implan pada tubuh manusia, terdapat risiko inflamasi, sehingga pertumbuhan tulang digagalkan hingga kematian dapat terjadi.



Gambar 3.2 Uji antibakteri zona hambat

Pengujian bakteri dilakukan berdasarkan langkah – langkah berikut :

1. Dilakukan penanaman bakteri dengan osse steril pada media Bhl broth kemudian dilakukan inkubasi selama 48 jam
2. Dilakukan pengamatan pada kekeruhan kuman kemudian distandarkan dengan standar mcfarland 0,5
3. Dilakukan penanaman bakteri dengan media agar – agar dengan teknik Muller Hinton dengan teknik Spreading
4. Dilakukan pembuatan sumuran pada media agar – agar dan sampel dimasukkan ke dalam sumuran yang dibuat dan dilakukan inkubasi selama 48 jam
5. Dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter zona jernih yang timbul di sekitar sampel uji

Setelah dilakukannya perhitungan maka hasil perhitungan zona hambar tersebut dapat dikategorikan menjadi 4 kategori yang mana dapat dilihat pada **Tabel 3.1**

3.4.6 MTT Assay

Pengujian ini dilakukan agar diketahui sifat sitotoksik dari scaffold yang diuji dengan sel fibroblast yang nantinya hasil pengujian akan dihitung dengan menggunakan ELISA reader, yang memiliki prinsip kerja menerjemahkan tingkat absorbansi tetrazolium sebagai hasil respirasi sel yang bereaksi dengan reagen MTT. Didapatkan persentase sel yang hidup dimana menggambarkan tingkat toksisitas dari scaffold

3.4.6.1 Persiapan Sel

Adapun langkah langkah dalam menyiapkan sel yaitu sebagai berikut:

1. Dilakukan penyipanan sel fibroblast BHK 21 pada temperature -80°C yang kemudian dicairkan dengan cara tabung sel digosokan dengan telapak tangan
2. Dilakukan pengendapan pada kultur sel dengan diputar pada alat centrifugal pada 1500 rpm selama 5 menit
3. Dilakukan suspense pada endapan sel dengan media Eagle's MEM yang di dalamnya terdapat *fetal bovine serum* 10% yang nantinya ditanamkan pada botol Roux
4. Ph media dipertahankan netral pada nilai 7.2 dengan diberikan larutan Hepes.
5. Dilakukan inkubasi pada kultur sel fibroblast BHK-21 pada temperature 37°C selama seminggu agar kultur sel menjadi optimal dan terdistribusi secara rata pada media kultur

3.4.6.2 Pembagian Sel

Langkah langkah yang dilakukan untuk melakukan pembagian sel sebagai berikut:

1. Kultur sel dibuang dari botol Roux jika sudah penuh
2. Dilakukan pencucian sebanyak 3 kali pada kultur sel dengan PBS agar sel lepas
3. Trypsyn versine 0.25% sebanyak 0,04 mL diberukan pada kultur sel
4. Dilakukan inkubasi pada kultur sel selama 3 menit
5. Dilakukan penambahan media kultur pada kultur sel sebanyak 10 mL
6. Dilakukan pembagian kultur sel pada *microplate* dengan 96 *well*
7. Dilakukan inkubasi pada incubator selama 48 jam pada temperature 37°C

3.4.6.3 Perlakuan Kultur Sel

Langkah – langkah yang dilakukan untuk perlakuan kultur sel adalah sebagai berikut:

1. Microplate pada incubator dikeluarkan dan dilakukan pengujian dengan diletakan pada *laminar flow*
2. Dilakukan pembuangan sel yang ada pada *well* yang kemudian dicuci dengan PBS sebanyak 5 kali agar tidak ada sisa metabolisme yang lengket pada *well*

3. Well pada microplate dimasukkan bone graft sesuai dengan yang sudah ditentukan
4. Dilakukan inkubasi pada microplate selama 48 jam pada temperatur 37°C agar sel dapat Kembali ke kondisi semula
5. Dilakukan pengamatan pada kultur sel setelah dilakukan inkubasi
6. Media sel dibuang dari microplate, dibersihkan dengan kertas tisu agar tidak ada cairan sisa
7. Well diisi dengan menggunakan 100µL PBS yang memiliki sel, dilakukan pembuangan sel seperti langkah ke-enam
8. Dilakukan pengujian dengan disiapkan reagen MTT sebanyak 0,5 mg/mL, dengan 1 mL MTT dan PBS (5 mg/mL) dan reagen diencerkan dengan 10 mL media kultur untuk 1 buah 96-well
9. Dilakukan pembuangan media sel, dan pencucian sebanyak 1 kali dengan PBS, dan 100 µL reagen MTT ditambahkan ke dalam setiap well, termasuk media kontrol tanpa sel.
10. Dilakukan inkubasi terhadap sel selama 4 jam dalam incubator CO₂ samapi terbentuk formazan
11. Dilakukan pemeriksaan pada kondisi sel dengan inverted mikroskop, jika terjadi pembentukan sel, dtambahkan stopper 100µL SDS 10% dalam 1 N HCl
12. Dilakukan persiapan pada ELISA reader, dan plate dimasukkan pada ELISA reader. Dibaca absorbansi masing – masing well pada $\lambda = 550 - 600$ nm dan dianalisis
13. Dilakukan perhitungan hasil pengujian dan di analisis

Hasil yang didapatkan dalam bentuk optikal density (OD) yang kemudian akan dihitung nilai viabilitas dengan menggunakan **Persamaan 3.3**.

$$Viabilitas = \frac{OD\ sampel - OD\ kontrol\ media}{OD\ kontrol\ sel - OD\ kontrol\ media} \times 100 \quad (3.3)$$

Nilai viabilitas yang didapatkan selanjutnya akan dilakukan pengkategorian dari scaffold yang dihasilkan. Pengkategorian ini berdasarkan sifat toksisitas dari scaffold yang ditinjau dari jumlah sel yang masih hidup pada uji MTT assay. Pengkategorian hasil perhitungan viabilitas dapat dilihat pada **Tabel 3.3**.

3.5 Rancangan Penelitian

Terdapat rancangan pengujian yang dibuat agar penelitian ini dapat mudah untuk dilakukan. Rancangan penelitian dibuat dalam tabel yang mendata tentang scaffold yang difabrikasi sendiri dan dilakukan pengujian. Rancangan penelitian dapat dilihat pada **Tabel 3.1** sebagai berikut

Tabel 3.1 Rancangan penelitian

No	Kegiatan	Pengujian SEM	Pengujian FTIR	Pengujian Tekan	Pengujian Porositas	Pengujian Bakteri	MTT Assay
		Sesudah Fabrikasi	Sesudah Fabrikasi	Sesudah Fabrikasi	Sesudah Fabrikasi	Sesudah Fabrikasi	Sesudah Fabrikasi
1	Scaffold HAp 56%, 40% PMMA, 4% kitosan	√	√	√	√	√	√

2	Scaffold HAp 61%, 35% PMMA, 4% kitosan	√	√	√	√	√	√
3	Scaffold HAp 66%, 30% PMMA, 4% kitosan	√	√	√	√	√	√

3.6 Jadwal Penelitian

Penelitian dilakukan selama 9 minggu dengan pembagian waktu yang ditunjukkan pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Jadwal penelitian

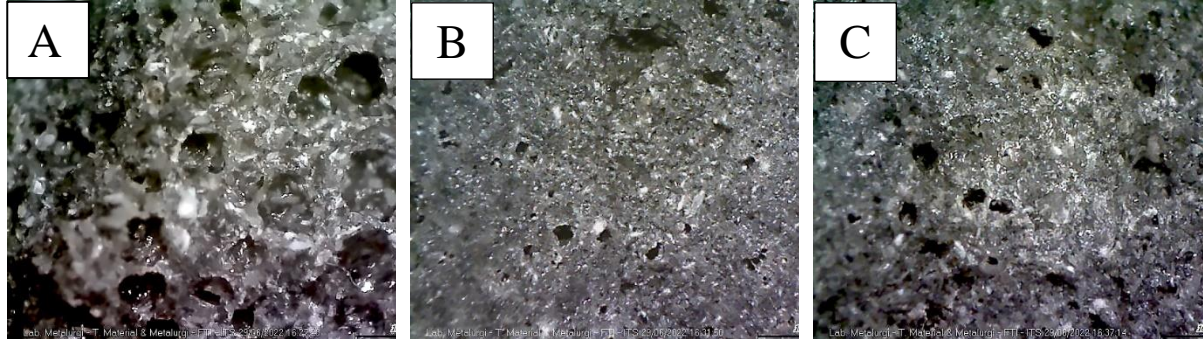
No	Kegiatan	Maret				April				Mei				Juni			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Studi literatur																
2	Asistensi kepada dosen pembimbing																
3	Penyusunan laporan																
4	Persiapan alat dan bahan																
5	Preparasi scaffold																
6	Pengujian SEM - EDX																
7	Pengujian FTIR																
8	Pengujian Porositas																
9	Pengujian Bakteri																
10	Pengujian Tekan																
11	MTT Assay																
12	Analisa dan Pembahasan																

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

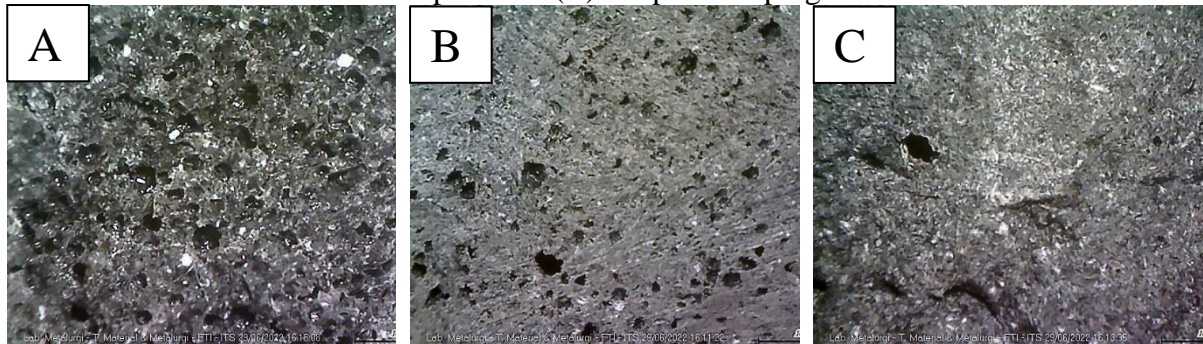
BAB IV ANALISIS DATA DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Data

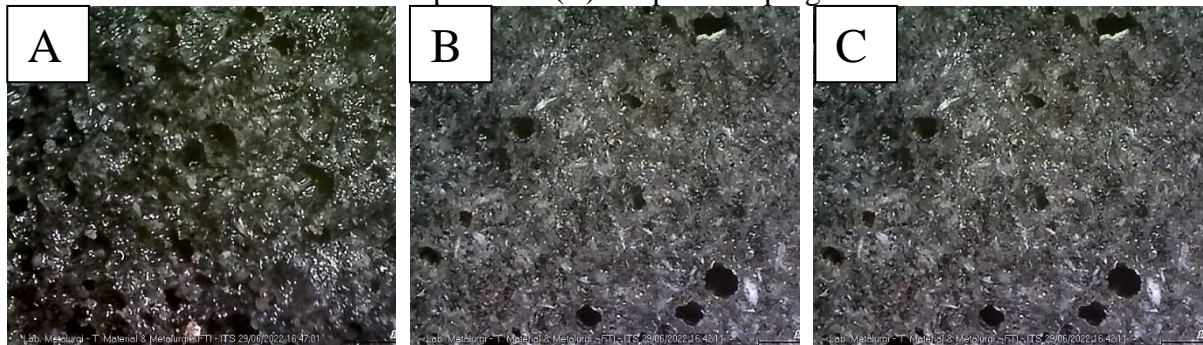
4.1.1 Analisis pengamatan mikroskop stereotype



Gambar 4.1 Tampilan HAp 56 di bawah stereotipe microscope (A) cross section, (B) Tampak Atas (C) tampak Samping



Gambar 4.2 Tampilan HAp 61 di bawah stereotipe microscope (A) cross section, (B) Tampak Atas (C) tampak Samping



Gambar 4.3 Tampilan HAp 66 di bawah stereotipe microscope (a) cross section, (b) tampak atas, (c) tampak samping

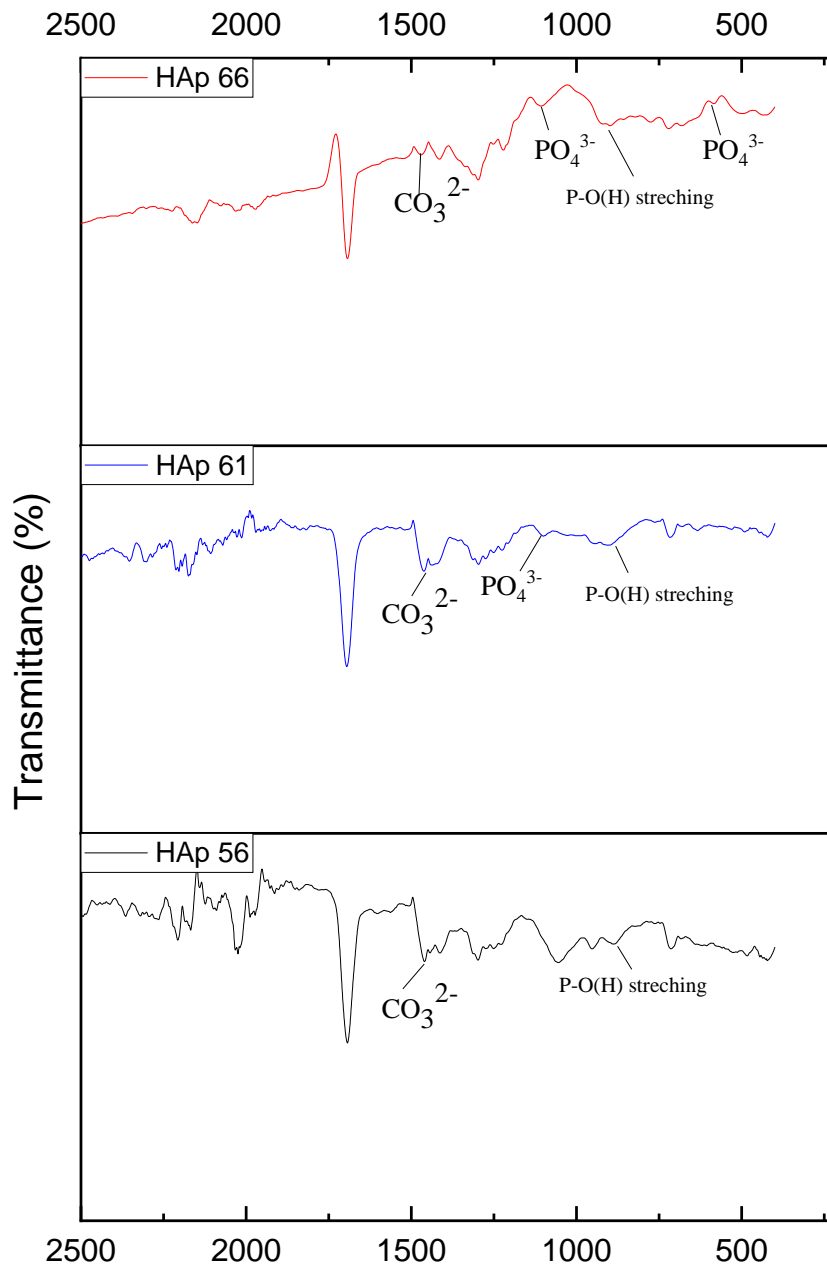
Scaffold yang telah diproduksi dilihat permukaannya dengan menggunakan stereotipe mikroskop. Permukaan yang dilihat dari 3 tampak yaitu cross-section, tampak atas dari scaffold, serta tampak samping dari scaffold (**Gambar 4.1**, **Gambar 4.2**, **Gambar 4.3**). Dari morfologi yang didapatkan dapat dilihat bahwa scaffold yang dihasilkan memiliki pori yang tersebar pada bagian cross section. Selain itu juga terdapat pori yang terbentuk di tampak atas dan samping. Pori yang terbentuk ini disebabkan oleh porogen yang digunakan yaitu NaCl. Kadar dari NaCl ini dapat memberikan dampak pada interkoneksi dari pori, porositas, dan ukuran pori (Tran et al., 2011).

Garam dapat menjadi porogen dikarenakan garam dapat menjadi saran pada scaffold yang terbentuk sebagai pori, sehingga pada saat sebelum dilakukan leaching garam akan

terperangkap antara campuran material yang digunakan dan memberikan ruang kosong (Owen et al., 2020).

Hal ini menyebabkan adanya gaya tarik menarik saat pembekuan pada campuran scaffold sehingga dapat menyebabkan terjadinya retakan. Selain itu penyebab terjadinya crack tersebut adalah kurang terdistribusinya HAp secara merata dan homogen sehingga dapat menyebabkan struktur dari scaffold menjadi kurang baik dan menyebabkan ikatan adesi yang kurang baik, dengan adanya crack ini menyebabkan scaffold pada saat diberi pembebanan tekan akan memperlebar retak dan menyebabkan mulainya terjadi keretakan pada area sekitarnya sehingga kekuatan tekan dari scaffold menjadi menurun (Zebarjad et al., 2011).

4.1.2 Analisis Pengujian FTIR



Gambar 4.4 FTIR scaffold pada range 0-2500 cm-1

Karakterisasi *Forier Transform Infra Red* (FTIR) dilakukan untuk mencari gugus fungsi yang terdapat pada scaffold yang terdiri tiga variasi yaitu HAp 56, 61, dan 66, beserta dengan

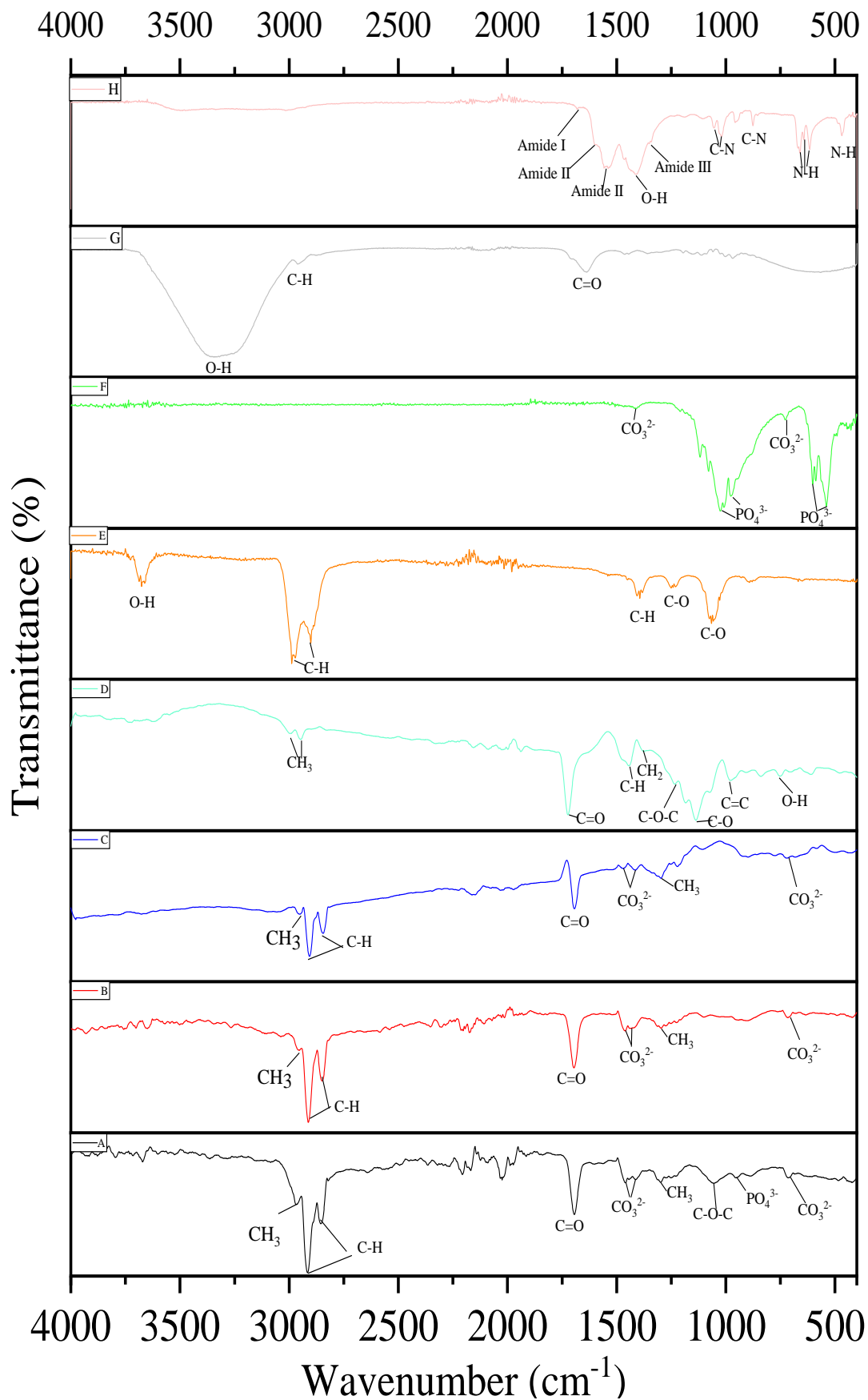
bahan bahan penyusunnya yang terdiri dari kitosan, glutaraldehid, hidroksiapatit, MMA cair, bubuk PMMA. Pada HAp digunakan untuk melihat gugus fungsi CO_3^{2-} , PO_4^{3-} . Sedangkan pada bahan kitosan dicari gugus fungsi dari amine, C – H, C – N, dan N – H. Selanjutnya untuk MMA cair dicari gugus O – H, C – H, dan C – O. Pada bubuk PMMA dilakukan pencarian pada CH_3 , C=O, C –H, CH_2 , C – O – C, C=C, dan O – H. Terakhir pada GTA dilakukan pencarian pada gugus O – H, C- H, dan C=O.

Pada **Gambar 4.4** dapat dilihat bahwa pada scaffold HAp 56, HAp 61 dan HAp 66 memiliki P – O(H) *stretching* pada bilangan gelombang 895 cm^{-1} (Han et al., 2006). Selain itu juga terdapat gugus PO_4^{3-} pada range $1000 - 1100 \text{ cm}^{-1}$, serta terdapat gugus CO_3^{2-} yang berada pada range 1460 cm^{-1} yang mana menggambarkan adanya keberadaan dari hidroksiapatit murni (Gheisari et al., 2015)

Hasil FTIR dari bahan – bahan pembentuk scaffold yang terdiri dari kitosan, glutaraldehid, hidroksiapatit, MMA cair, Bubuk PMMA, serta hasil FTIR dari scaffold dengan variasi HAp 66, HAp 61, dan HAp 56 dapat dilihat pada **Gambar 4.5**. Dari hasil FTIR dapat dilihat bahwa gugus gugus yang terdapat dibahan dasar juga terdapat pada scaffold yang telah dibuat. Pada bilangan gelombang $2958 - 2847 \text{ cm}^{-1}$ merupakan bilangan gelombang dari C-H yang merupakan kelompok alkana, gugus ini terdapat pada MMA cair. Selain itu terdapat juga gugus C=O pada 1696 cm^{-1} , dimana terdapat pada material bubuk PMMA. Sedangkan untuk gugus karbonat terdapat pada $1468 - 1413$, dan 716 cm^{-1} , yang merupakan salah satu gugus yang terdapat pada hidroksiapatit. Terdapat juga ikatan CH_3 yang terdapat pada 1299 cm^{-1} dimana terdapat pada ketiga scaffold. Selain itu terdapat juga gugus amine yang terdapat pada panjang gelombang 1057 cm^{-1} yang didapatkan dari kitosan. Serta terdapat gugus PO_4^{3-} pada 939 cm^{-1} yang ditemukan pada HAp. Dapat dilihat bahwa pada pembuatan scaffold ini bahan dari MMA cair yang masih bertahan pada setiap scaffold yaitu gugus alkana C-H

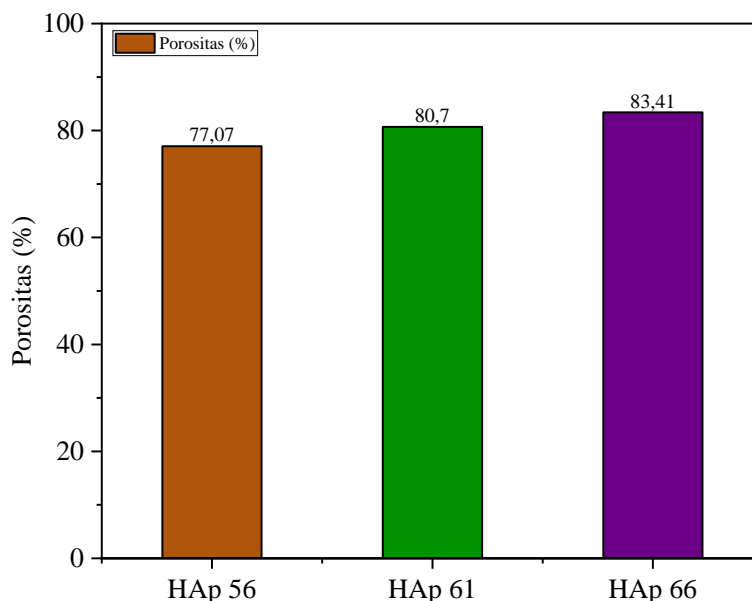
Hidroksiapatit (HAp) terdapat pada jaringan tulang manusia yang merupakan kalsium fosfat. HAp memiliki gugus fungsi PO_4^{3-} yang terdapat pada bilangan gelombang sekitar $564 - 603$; 962 ; $1023 - 1090 \text{ cm}^{-1}$, terdapat juga gugus CO_3^{2-} yang terdapat pada bilangan gelombang $1460 - 1418 \text{ cm}^{-1}$ (Sözüğeçer & Bayramgil, 2021). Sedangkan pada kitosan, ditemukan gugus amide pada bilangan gelombang 1651 cm^{-1} , 1536 cm^{-1} , dan 1399 cm^{-1} untuk gugus fungsi dari C – N (Kumari et al., 2018). Pada MMA liquid dilakukan pengujian FTIR untuk melihat gugus dari C- H yang terdapat pada bilangan gelombang sekitar 2956 cm^{-1} , $2918 - 2850 \text{ cm}^{-1}$, dan $1464 - 1472 \text{ cm}^{-1}$, dan dilakukan pencarian gugus pada bilangan gelombang sekitar 1064 cm^{-1} yang merupakan bilangan gelombang dari C – O (Tözüm et al., 2018).

Selain dilakukan pencarian pada monomer MMA cair juga dilakukan pencarian terhadap PMMA bubuk yang memiliki bilangan gelombang 1727 cm^{-1} yang merupakan milik C=O, dan 1450 cm^{-1} yang merupakan panjang gelombang dari C – O. Serta MMA liquid juga memiliki CH_2 yang terletak pada bilangan gelombang 1240 cm^{-1} (Ahmad et al., 2007). Pada scaffold dapat dilihat bahwa intensitas dari HAp yang awalnya memiliki puncak yang tajam pada gugus fosfat dan karbonat menjadi kurang tajam dan mengalami pelebaran. Penyebab dari kejadian ini adalah karena adanya interaksi antara kitosan dan hidroksiapatit, yaitu ikatan hidrogen, dimana terjadi ikatan antara gugus -OH dengan NH_2 dari kitosan yang berikatan dengan gugus -OH dari hidroksiapatit (Yessy Warastuti et al., 2015).



Gambar 4.5 FTIR bahan dan scaffold (a) HAp 56, (b) HAp 61, (c) HAp 66, (d) bubuk PMMA, (e) MMA Cair, (f) hidroksiapatit, (g) glutaraldehid, (h) kitosan

4.1.3 nalisis Pengujian Liquid Displacement Test (LDT)



Gambar 4.6 Diagram batang porositas scaffold dari tiga variasi

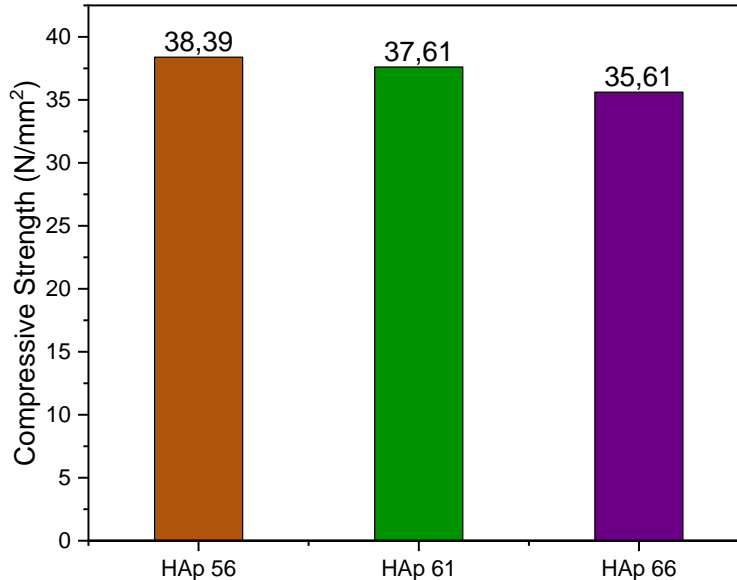
Porositas pada *scaffold* memiliki peran penting yaitu terhadap sifat struktur dan sifat mekanik dari *scaffold*. Berdasarkan **Gambar 4.6** dapat dilihat bahwa porositas semakin naik seiring bertambahnya HAp dan serta saat kurangnya PMMA. Dimana jika porositas dari *scaffold* semakin tinggi akan membuat kekuatan mekanik dari *scaffold* menjadi menurun (Kazemzadeh-Narbat et al., 2006). Pori pada *scaffold* dapat memudahkan terjadinya transfer oksigen dan nutrisi, serta tempat terjadinya proses metabolisme pada sel (Sari et al., 2021). Berdasarkan yang dilihat pada diagram batang HAp 66 memiliki nilai porositas tertinggi yaitu 83,41011%, HAp 61 memiliki nilai porositas 80,69562% dan diikuti oleh HAp 56 yang memiliki nilai porositas terendah yaitu HAp 56 77,06646%. Hal ini sesuai dengan teori dimana semakin meningkatnya konsentrasi dari PMMA akan menurunkan jumlah porositas dari *scaffold* (Kane & Roeder, 2012).

Dari hasil yang ada dapat dilihat bahwa kenaikan dari nilai porositas ini tidak signifikan. Hal ini dapat dilihat nilai dari porositas tiap variasi memiliki perbedaan yang kecil. Hal ini sama dengan percobaan yang dilakukan oleh Milla dkk, dan Lin Hong-Ru yang melakukan percobaan dengan membuat *scaffold* berbahan dasar HAp. Dari percobaan mereka ini didapatkan bahwa perbedaan mereka yaitu nilai porositas yang mendekati (Lin & Yen, 2004; Milla et al., 2018).

Selain dari konsentrasi dari HAp, yang dapat mempengaruhi porositas dari *scaffold* adalah kitosan. Dimana jika kitosan ditambahkan maka menurunkan porositas dari *scaffold*. Selain itu kitosan dapat meningkatkan sifat mekanik jika konsentrasi dari kitosan dinaikan. Kitosan yang berlebihan yaitu lebih dari 10% dapat menyebabkan kitosan mengalami pengumpulan kitosan sehingga dapat menurunkan porositas (Ikeda et al., 2014). PMMA juga sebagai polimer dapat mempengaruhi poristas, dimana jika polimer semakin banyak maka jumlah porositas akan semakin kecil juga (Milla et al., 2018).

4.1.4 Analisis Uji Tekan

Pada pengujian ini dilakukan pada sampel HAp 56, HAp 61, dan HAp 66. Dan dari data yang didapat dibuat diagram batang yang dapat dilihat pada **Gambar 4.7**, dimana disajikan data *yield strength* dan *maximum strength*.



Gambar 4.7 Hasil pengujian tekan

Dapat dilihat bahwa HAp 56 memiliki kekuatan tekan maximum tertinggi yaitu 38,39 N/mm², dan sedangkan maximum terendah adalah HAp 66 yaitu sebesar 35,61 N/mm², sedangkan untuk HAp 61 memiliki maximum strength sebesar 37,61 N/mm² yang mana nilainya lebih tinggi dibandingkan dari HAp 66. Dimana secara urutan kekuatan tekan HAp 56 memiliki kekuatan tekan paling tinggi yang diikuti oleh HAp 61 dan terakhir HAp 66. Kekuatan tekan yang mengalami penurunan ini dikarenakan bubuk HAp yang bercampur kurang homogen seiring berkurangnya PMMA, sehingga terjadi pengurangan ikatan interfacial yang ada antara HAp dan PMMA. Selain itu tidak homogenya dapat menyebabkan penggumpalan/aglomerasi dari HAp serta kurang bagus nya ikatan adesi antara HAp dengan matriks PMMA. Akan tetapi yang menjadi penyebab berkurangnya kekuatan tekan ini adalah karena penggumpalan dari HAp, yang mana menyebabkan scaffold menjadi rapuh dan mudah dihancurkan saat diberi pembebanan, dimana aglomerasi dari HAp ini dapat menyebabkan *microcrack* yang menurunkan kemampuan tekan dari scaffold (Deb et al., 2019).

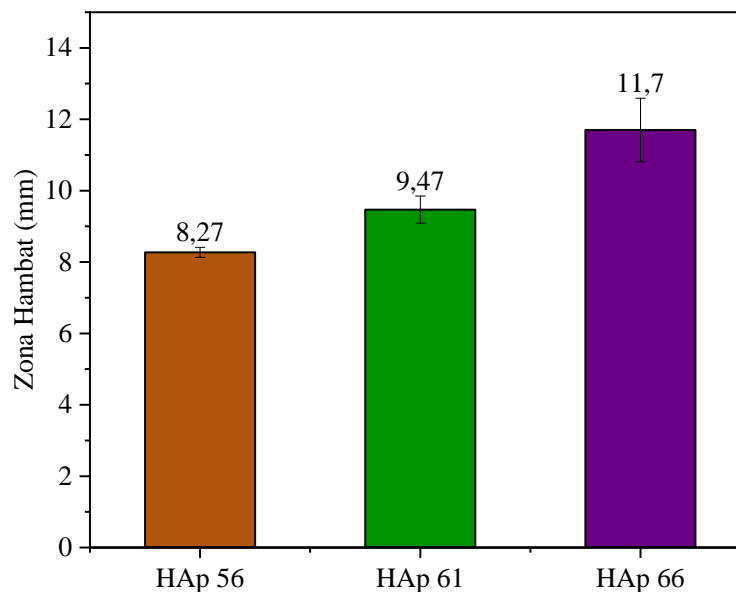
Berdasarkan dari data yang dilihat tidak terjadi penurunan kekuatan yang secara signifikan dengan penurunan PMMA ini. Hal ini juga dapat dihubungkan dengan hasil pengujian porositas, dimana hanya terjadi penurunan yang tidak signifikan juga seiring dengan peningkatan PMMA. Perubahan yang tidak signifikan ini dikarenakan berat dari HA dan PMMA yang divariasikan tidak terlalu jauh (Kane & Roeder, 2012)

Selain itu HAp memiliki sifat derajat porositas yang tinggi, yang mana dapat menurunkan densitas dari material, dimana penurunan densitas ini disebabkan oleh porositas ataupun lubang (void) yang meningkat, sehingga menyebabkan kekuatan mekanik dari scaffold juga menjadi menurun. adapun penelitian yang dilakukan oleh Kusumawardani yang menyatakan dengan penambahan HAp ini dapat menyebabkan nilai porositas yang semakin tinggi dikarenakan dengan melakukan penambahan HAp akan meningkatkan kemungkinannya terjadinya cacat/*defect* karena penambahan partikel ini telah melebihi titik jenuh dari matriks dan menyebabkan diskontinuitas matriks resin (Kusumawardani et al., 2020). Dimana scaffold

harus memiliki porositas yang tinggi untuk memfasilitasi pertumbuhan tulang, akan tetapi juga tidak mengurangi sifat mekanik dari scaffold (Hannink & Arts, 2011). PMMA memiliki kekuatan tekan yang baik, sehingga cocok untuk digunakan sebagai material dari scaffold. Dengan adanya HAp ditambahkan dengan PMMA dapat meningkatkan kekuatan tekan serta *yield strength* dari scaffold (Komang-Agung et al., 2018).

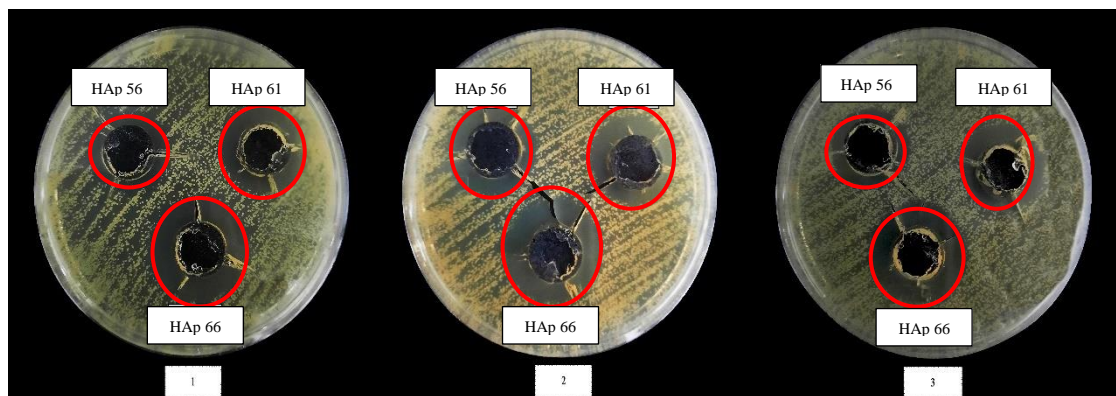
Berdasarkan analisis berdasarkan sifat mekanik kekuatan tekan dari scaffold dapat disimpulkan bahwa ketiga scaffold dengan variasi berbeda tersebut dapat digunakan sebagai implan pada manusia. Hal ini dapat dibuktikan sifat kekuatan tekan yang sesuai dengan tempat yang akan diimplankan yaitu pada tulang bagian *cancellous* pada manusia, dimana pada pembebanan uniaxial yaitu 1.5 – 45.0 MPa dan untuk kekuatan modulus sebesar 1.4 – 79.0 MPa (Dunham et al., 2005).

4.1.5 Analisis Uji Bakteri



Gambar 4.8 Diagram batang dari zona hambat dari ketiga variasi

Dari pengujian zona hambat ini dapat dilihat scaffold membuat suatu zona kosong yang dapat dilihat pada **Gambar 4.9**, selain itu, data hasil perhitungan diameter dari zona hambat u disajikan dalam diagram batang yang dapat dilihat pada **Gambar 4.8**.



Gambar 4.9 Pengujian antibakteri zona hambat

Berdasarkan diagram batang yang disajikan dapat dilihat bahwa ketiga variasi memiliki perbedaan yang tidak terlalu jauh dalam pengujian antibakteri hal ini dikarenakan konsentrasi dari kitosan yang tidak jauh berbeda. Secara grafik dapat dilihat bahwa HAp 66 memiliki sifat antibakteri yang terbaik dikarenakan jaraknya yang menunjukkan paling besar sedangkan yang paling kecil ada pada HAp 56, hal ini dikarenakan walaupun perbedaan dari kitosan yang tidak jauh berbeda akan tetapi HAp 66 memiliki kandungan kitosan yang lebih banyak dibandingkan yang lain. Berdasarkan yang data yang ada juga maka dapat dikategorikan juga variasi variasi tersebut dalam golongan lemah, sedang, kuat ataupun sangat kuat yang dapat dilihat pada **Tabel 4.1**

Tabel 4.1 Perbandingan kategori zona hambat tiap variasi

Variasi	Jarak (mm)	Kategori
HAp 66	11,70	Kuat
HAp 61	9,47	Sedang
HAp 56	8,273	Sedang

Scaffold memiliki sifat antibakteri dikarenakan adanya kandungan kitosan. Dimana sifat antibakteri yang disebabkan oleh kitosan ini dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu berat molekul (Mw), derajat deaktilisasi (DAD), derajat aktilisasi (AD), konsentrasi serta derajat keasaman (Ph) dari kitosan. Yang menjadi faktor utama dalam antibakteri adalah faktor berat molekul, yang mempengaruhi keefektifan kitosan terhadap penyakit ataupun patogen, dimana kitosan dengan berat molekul yang rendah serta derajat deaktilisasi yang tinggi memiliki sifat antibakteri yang baik yang dikarenakan tingkat kelarutannya yang tinggi. Pada oligokitosan yang digunakan yang menjadi faktor bukan hanya berat molekul akan tetapi juga komposisi dari sel dinding yang ada pada bakteri (Researcher, 2021).

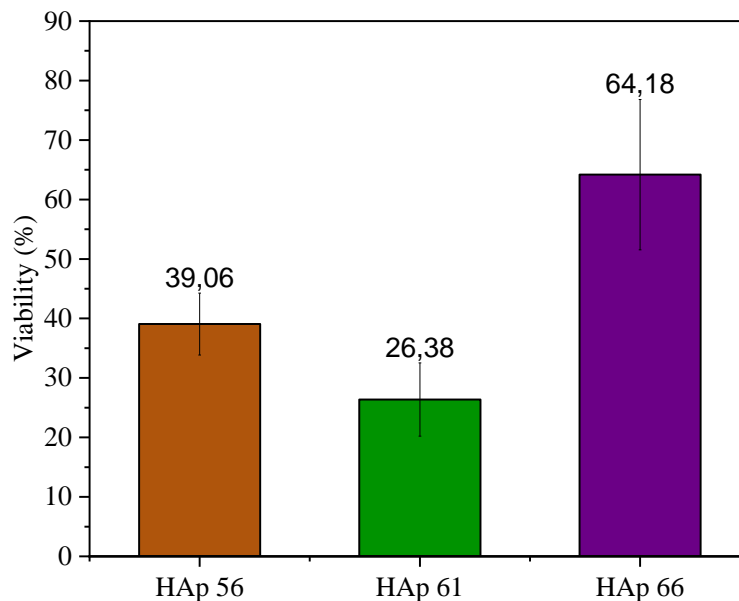
Antibakteri dari kitosan ini dapat terjadi dikarenakan adanya gugus amino yang telah terprotonase menjadi NH_3^+ yang akan menyerang dinding sel/peptidoglikan yang bermuatan negatif, yang mana gugus positif ini akan menembus lapisan matriks dari bakteri dan membunuh bakteri dari dalam. Selain itu, kitosan berjenis oligokitosan memiliki sifat yang dapat mengindikasikan terjadinya osteogenesis serta memiliki sifat anti-inflammatory (S. Zhang et al., 2022).

Selain dari kitosan, sifat antibakteri ini juga muncul dari hidroksiapatit yang digunakan. Dimana hidroksiapatit yang difabrikasi dengan menggunakan bantuan microwave akan memberikan sifat antibakteri. Dimana sekarang banyak metode yang menggunakan bantuan microwave karena dapat membuat ukuran partikel menjadi lebih kecil yang diakibatkan dari pemanasan microwave dari dalam (Kalaiselvi et al., 2018).

Dengan pemasan hidroksiapatit dengan bantuan microwave akan membuat persebaran dari PO_4^{3-} (fosfat) menjadi lebih banyak, dimana gugus fosfat ini menjadi faktor yang membuat hidroksiaptit menjadi memiliki sifat antibakteri. Dimana fosfat pada hidroksiapatit yang dibuat dengan bantuan microwave memiliki permukaan radikal yang menyebabkan adanya sifat antibakteri (Lamkhao et al., 2019). Selain itu dapat dilihat juga pada hasil FTIR bahwa ikatan dari PO_4^{3-} pada HAp 66 dan HAp 61 memiliki jumlah yang lebih banyak yang dapat dilihat pada **Gambar 4.4**

4.1.6 Analisis MTT Assay

Pengujian MTT assay ini menggunakan kultur jaringan sel fibroblast yang terdiri dari 96 well. Pengujian MTT ini digunakan untuk mengetahui scaffold yang dibuat dapat menjadi tempat untuk terjadinya poliferasi atau memiliki viabilitas. Dimana perhitungan dari MTT assay ini dilakukan dengan menghitung nilai dari densitas optikal (O.D.) pada panjang gelombang 620nm (Ghasemi et al., 2021). Hasil dari pengujian MTT assay ini menunjukkan bahwa HAp 66 memiliki nilai viability tertinggi, sedangkan untuk yang terendah ditunjukkan oleh HAp 61. Tiap pengujian dari MTT assay ini dilakukan repetisi sebanyak tiga kali. Hasil dari pengujian MTT ini disajikan dalam bentuk diagram batang yang dapat dilihat pada **Gambar 4.10**.



Gambar 4.10 Diagram batang hasil MTT assay

Diagram batang menunjukkan bahwa nilai dari ketiga variasi scaffold ini masih dalam range *slightly cytotoxic* dimana range berawal 60-90%. Dari hasil MTT assay ini dapat kita lihat bahwa scaffold yang dihasilkan memiliki sifat beracun sehingga menyebabkan adanya pengurangan sel, dikarenakan sel mati. Hal ini dibuktikan oleh nilai viabilitas yang tidak mencapai 100% (Van Meerloo et al., 2011).

4.2 Pembahasan

4.2.1 Pengaruh Hidroksiapatit terhadap bone graft

Penggunaan hidroksiapatit yang difabrikasi dengan bantuan microwave memberikan keuntungan seperti memiliki tingkat homogen yang tinggi pada molekul, memiliki temperatur kristalisasi yang lebih rendah dan menghasilkan butiran cristal yang lebih halus (Kalaiselvi et al., 2018). Selain itu dengan bantuan microwave dapat mengurangi waktu fabrikasi menjadi lebih singkat dibandingkan dengan menggunakan metode yang konvensional (Bose et al., 2010). Adapun menurut Lamkhao et. al. menyatakan dengan menggunakan bantuan *microwave* dalam pembuatan Hidroksiapatit ini juga memberikan sifat tambahan yaitu anti-bakteri. Sifat antibakteri ini disebabkan oleh karena adanya perbedaan pada gugus fosfat yang terdapat fosfat radikal yang mempengaruhi sifat antibakterinya (Lamkhao et al., 2019). Sifat antibakteri dari HAp ini dapat dilihat dengan hasil pengujian antibakteri yang mana HAp 66 memiliki nilai antibakteri yang tertinggi, dan yang paling rendah adalah HAp 56.

Berdasarkan analisis FTIR juga terdapat perbedaan antara HAp konvensional dan microwave, yang mana pada HAp konvensional terdapat CaO dan Ca(OH)₂ yang dapat

mengurangi ataupun mencegah regenerasi jaringan tulang pada saat dilakukan implant (Pighinelli & Kucharska, 2013). Hidroksiapatit dapat menyebabkan peningkatan pertumbuhan sel tulang, hal ini dapat dilihat pada pengujian MTT assay pada sel fibroblast yang mana terjadi peningkatan nilai viabilitas seiring dengan pertumbuhan sel (Bhowmick et al., 2013).

Akan tetapi dengan peningkatan dari HAp ini juga dapat memberikan dampak pada sifat mekanik, dimana HAp yang digunakan pada scaffold dapat menyebabkan menurunnya kekuatan tekan dari scaffold, hal ini dikarenakan partikel HAp yang tidak terdistribusi dengan merata pada PMMA sehingga menyebabkan ikatan adesi menjadi lemah antara HAp dengan matriks. Yang menyebabkan penurunan *yield stress* (Serbetci et al., 2004). Selain itu, penambahan partikel HAp pada campuran dapat menyebabkan cacat pada bahan dikarenakan adanya partikel partikel HAp yang mengendap di dalam resin PMMA, selain itu penambahan PMMA yang berlebihan dapat membuat larutan matriks menjadi jenuh dan menyebabkan adanya diskontinuitas pada matriks (Dahar & Husna, 2018).

4.2.2 Pengaruh PMMA terhadap bone graft

Scaffold yang dibuat umumnya harus memenuhi syarat dimana scaffold akan diimplankan, seperti sifat mekanik, biokompabilitas sehingga dapat terjadinya proliferasi atau pertumbuhan sel (Polo-Corrales et al., 2014). Berdasarkan sifat mekanik HAp 56 memiliki kekuatan tekan terbaik hal ini dikarenakan kandungan PMMA terbanyak. Berdasarkan Komang Agung 2018, Ia menyatakan bahwa PMMA memiliki kekuatan tekan yang baik, akan tetapi PMMA juga memiliki beberapa kekurangan yaitu non-biodegradable, non-osteoconductive, dan non bioaktif (Komang-Agung et al., 2018).

Untuk menutupi kekurangan tersebut maka digunakan bahan lainnya yaitu hidroksiapatit dan kitosan. Dimana hidroksiapatit memiliki sifat biokompatibel serta memiliki kesamaan komposisi pada tulang manusia, selain itu hidroksiapatit dapat memicu terjadinya bertubuhan sel tulang (Kavasi et al., 2021). Dikarenakan PMMA yang tidak memiliki sifat antibakterial maka PMMA diberikan tambahan dengan antibiotik lain seperti gentasimin, vancomycin, dan seterusnya. Akan tetapi dalam penelitian ini digunakan kitosan sebagai antibakteri (Vaishya et al., 2013).

Dari penambahan PMMA ini memberikan dampak pada sifat mekanik serta morfologi dari scaffold yang dibuat. Dari scaffold yang dibuat dapat dilihat bahwa scaffold HAp 56 memiliki kekuatan tekan terbaik hal ini dikarenakan dengan penambahan PMMA yang semakin banyak membuat porositas menjadi semakin mengecil (Milla et al., 2018). Hal ini terbukti dikarenakan dengan konsentrasi HAp 56 ini memiliki nilai porositas terkecil yaitu 77,06646%, akan tetapi memiliki nilai kekuatan tekan yang terbesar yaitu 57,44MPa. Akan tetapi dengan adanya kenaikan kekuatan mekanik ini terdapat sifat yang mengalami penurunan, yaitu adanya penurunan pada viabilitasnya.

Alasan PMMA dapat menyebabkan menurunkan viabilitas ini adalah karena PMMA memiliki kekurangan yaitu sifatnya yang sitotoksik serta terdapatnya resiko terjadinya kerusakan dikarenakan kenaikan temperatur saat terjadi polimerisasi yang disebabkan oleh adanya reaksi antara monomer methyl methacrylate (Pikis et al., 2015). Teori PMMA memberikan sifat yang sitotoksik ini ditunjukkan oleh pengujian MTT assay yang dilakukan pada sel fibroblast, dimana hasil yang dicapai tidak mencapai 100%, yang mana hasil yang dibawah <100% menunjukkan adanya sel yang mati karena scaffold yang digunakan. Dari hasil MTT assay ini, ditunjukkan bahwa scaffold HAp 66 memiliki nilai viabilitas tertinggi yaitu 73,34539%, yang mana berdasarkan Jon E. Dahl et. al. menyatakan hasil ini menunjukkan HAp 66 termasuk ke dalam kategori *slightly cytotoxic* (60 – 90% viabilitas sel), sehingga scaffold dapat dikatakan kurang cocok untuk diimplankan dikarenakan masuk ke dalam kategori *slightly cytotoxic* (Dahl et al., 2006).

Selain itu terdapat juga terdapat penelitian yang mengungkapkan bahwa PMMA yang digunakan yang menyebabkan beracun adalah monomer MMA yang dapat lewat menembus membran sel tanpa menyebabkan adanya kerusakan akan tetapi beracun terhadap sel (Santin et al., 2004).MMA yang menembus membran sel ini dikarenakan adanya monomer MMA yang tidak terpolimerisasi secara sempurna. MMA yang terlepas ini menyebabkan terjadinya dehidrogenase mitokondria sel (Yuliati, 2005).

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut :

1. Dengan penambahan PMMA dapat membuat kekuatan mekanik dari scaffold menjadi bertambah hal ini dapat dilihat pada HAp 56 yang memiliki kekuatan mekanik paling tinggi, yaitu 38,39 N/mm², yang diikuti oleh HAp 61 37,61 N/mm² dan yang terakhir adalah HAp 66 yaitu 35,61 N/mm². Hal ini dikarenakan kandungan PMMA nya yang terbanyak. Selain itu dengan penambahan PMMA dapat menyebabkan nilai porositas menurun hal ini dapat dilihat dengan HAp 56 yang memiliki nilai porositas terkecil yaitu 77.06646%. Akan tetapi, dengan meningkatkan kadar PMMA dapat menyebabkan nilai viabilitas dari scaffold menjadi menurun hal ini dikarenakan monomer MMA memiliki sifat sitotoksik yang dapat menyebabkan kematian sel. Dan scaffold yang difabrikasi termasuk dalam golongan *slightly toxic* untuk HAp 66 yang memiliki nilai viabilitas rata – rata 64.18324%, HAp 61 memiliki nilai viabilitas rata rata 26,37734% yang termasuk ke dalam kategori *moderately toxic*, dan HAp 56 39,05967% yang termasuk ke dalam kategori *moderately toxic*.
2. Hidroksiapatit memberikan dampak pada pada sifat anti-bakteri dari scaffold, dimana dengan semakin banyak HAp akan meningkatkan sifat antibakteri dari scaffold ditunjukkan dengan nilai dari HAp 66 memiliki nilai antibakteri tertinggi dengan rata rata 11,7, diikuti dengan HAp 61 dengan rata rata 9,5; dan yang terakhir adalah HAp 56 yang memiliki nilai rata rata sebesar 8,3. Dari nilai rata rata ini dapat dilihat bahwa nilainya tidak jauh berbeda hal ini dikarenakan penggunaan konsentrasi kitosan yang sama sehingga tidak terdapat perbedaan yang jauh dari nilai pengujian bakteri. Selain itu dengan penambahan Hidroksiapatit juga dapat menaikkan nilai viabilitas dari scaffold.

5.2 Saran

Adapun saran yang diberikan untuk penelitian berikutnya :

1. Melakukan perhitungan pada waktu stirring agar campuran menjadi lebih homogen
2. Memperhatikan lama pemindahan campuran dari beaker glass ke dalam cetakan untuk menghindari terjadinya defect seperti crack pada permukaan yang berpengaruh terhadap kekuatan mekanik
3. Mempersiapkan alat yang lebih memadai dalam pembuatan scaffold untuk menghindari pengotor yang masuk
4. Menggunakan teknik fabrikasi freeze-drying agar persebaran dari pori merata, serta penggunaan cross-linking agent selain glutaraldehid agar mengurangi sifat beracunnya.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, S., & Ikram, S. (2016). Chitosan Based Scaffolds and Their Applications in Wound Healing. *Achievements in the Life Sciences*, 10(1), 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.als.2016.04.001>
- Al-Sanabani, J. S., Madfa, A. A., & Al-Sanabani, F. A. (2013). Application of calcium phosphate materials in dentistry. *International Journal of Biomaterials*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/876132>
- Alturki, A. A., Alaqeely, K. S., Almugren, T. S., & Alzimami, I. S. (2019). Analysis of femoral fracture post motor vehicle accidents. *Saudi Medical Journal*, 40(1), 41–44. <https://doi.org/10.15537/smj.2019.1.21547>
- Arun, K. V., & Jadhav, K. K. (2016). Behaviour of Human Femur Bone Under Bending and Impact Loads. *European Journal of Clinical and Biomedical Sciences*, 2(211), 6–13. <https://doi.org/10.11648/j.ejcb.20160202.11>
- Asaad, F., Pagni, G., Pilipchuk, S. P., Gianni, A. B., Giannobile, W. V., & Rasperini, G. (2016). 3D-Printed Scaffolds and Biomaterials: Review of Alveolar Bone Augmentation and Periodontal Regeneration Applications. *International Journal of Dentistry*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/1239842>
- Bencherif, S. A., Braschler, T. M., & Renaud, P. (2013). Advances in the design of macroporous polymer scaffolds for potential applications in dentistry. *J Periodontal Implant Sci*, 43(6), 251–261. <https://doi.org/10.5051/jpis.2013.43.6.251>
- Bhowmick, A., Banerjee, S., Kumar, R., & Kundu, P. P. (2013). Hydroxyapatite-packed chitosan-PMMA nanocomposite: A promising material for construction of synthetic bone. *Advances in Polymer Science*, 254(March), 135–168. https://doi.org/10.1007/12_2012_197
- Bose, S., Dasgupta, S., Tarafder, S., & Bandyopadhyay, A. (2010). Microwave-Processed Nanocrystalline Hydroxyapatite: Simultaneous Enhancement of Mechanical and Biological Properties. *Acta Biomaterialia*, 6, 3782–3790. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.03.016>
- Brydone, A. S., Meek, D., & MacLaine, S. (2010). Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 224(12), 1329–1343. <https://doi.org/10.1243/09544119JEIM770>
- Capuana, E., Lopresti, F., Carfi Pavia, F., Brucato, V., & La Carrubba, V. (2021). Solution-based processing for scaffold fabrication in tissue engineering applications: A brief review. *Polymers*, 13(13). <https://doi.org/10.3390/polym13132041>
- Carter, P., & Bhattarai, N. (2013). Bioscaffolds: Fabrication and Performance. In *Engineered Biomimicry*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415995-2.00007-6>
- Casiraghi, A., Galante, C., Domenicucci, M., Cattaneo, S., Spreafico, A. A., Motta, M., Capitani, P., & Milano, G. (2021). A case report of femoral head fracture with osteochondral lesion treated by osteosynthesis and biomimetic scaffold: 2-year clinical and radiological follow-up. *Journal of Experimental Orthopaedics*, 8(1), 4–9. <https://doi.org/10.1186/s40634-021-00362-x>
- 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>
- Dahar, E., & Husna, R. (2018). PENGARUH PENAMBAHAN ZIRKONIUM OKSIDA DAN SERAT POLIPROPILEN TERHADAP KEKUATAN IMPAK DAN TRANSVERSAL BAHAN BASIS GIGI TIRUAN RESIN AKRILIK POLIMERISASI PANAS. *Jurnal Ilmiah PANNMED (Pharmacist, Analyst, Nurse, Nutrition, Midwifery, Environment,*

- Dentist*), 12, 177–182. <https://doi.org/10.36911/panmed.v12i2.21>
- 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>
- 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>
- Delivery, V. G., & Plga, G. (2006). *Gas Foaming to Fabricate*. 155–167.
- Dunham, C. E., Takaki, S. E., Johnson, J. A., & Dunning, C. E. (2005). Mechanical properties of cancellous bone of the distal humerus. *Clinical Biomechanics*, 20(8), 834–838. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiomech.2005.05.014>
- El-Hefian, E. A., Elgannoudi, E. S., Mainal, A., & Yahaya, A. H. (2010). Characterization of chitosan in acetic acid: Rheological and thermal studies. *Turkish Journal of Chemistry*, 34(1), 47–56. <https://doi.org/10.3906/kim-0901-38>
- Elieh-Ali-Komi, D., & Hamblin, M. R. (2016). Chitin and Chitosan: Production and Application of Versatile Biomedical Nanomaterials. *International Journal of Advanced Research*, 4(3), 411–427. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27819009> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5094803>
- Eltom, A., Zhong, G., & Muhammad, A. (2019). Scaffold Techniques and Designs in Tissue Engineering Functions and Purposes: A Review. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3429527>
- Faour, O., Dimitriou, R., Cousins, C. A., & Giannoudis, P. V. (2011). The use of bone graft substitutes in large cancellous voids: Any specific needs? *Injury*, 42, S87–S90. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.06.020>
- Fereshteh, Z. (2018). Freeze-drying technologies for 3D scaffold engineering. In *Functional 3D Tissue Engineering Scaffolds: Materials, Technologies, and Applications*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100979-6.00007-0>
- Fitriawan, M. (2016). *Sintesis Hidroksiapatit Berbahan Dasar Tulang Sapi dengan Metode Wet Process sebagai Material Pengganti Graft Sintesis Hidroksiapatit Berbahan Dasar Tulang Sapi dengan Metode Preti ... April*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4571.3449>
- Fu, L. H., Liu, Y. J., Ma, M. G., Zhang, X. M., Xue, Z. M., & Zhu, J. F. (2016). Microwave-assisted hydrothermal synthesis of cellulose/hydroxyapatite nanocomposites. *Polymers*, 8(9), 1–13. <https://doi.org/10.3390/polym8090316>
- 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>
- Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., & Kempson, I. (2021). The mtt assay: Utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23). <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>
- Gheisari, H., Karamian, E., & Abdollahi, M. (2015). A novel hydroxyapatite -Hardystonite nanocomposite ceramic. *Ceramics International*, 41(4), 5967–5975. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2015.01.033>
- Han, J. K., Song, H. Y., Saito, F., & Lee, B. T. (2006). Synthesis of high purity nano-sized hydroxyapatite powder by microwave-hydrothermal method. *Materials Chemistry and Physics*, 99(2–3), 235–239. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2005.10.017>
- Hannink, G., & Arts, J. J. C. (2011). Bioresorbability, porosity and mechanical strength of bone substitutes: What is optimal for bone regeneration? *Injury*, 42(SUPPL. 2), S22–S25.

- <https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.06.008>
- Hassan, M. N., Mahmoud, M. M., Link, G., El-Fattah, A. A., & Kandil, S. (2016). Sintering of naturally derived hydroxyapatite using high frequency microwave processing. *Journal of Alloys and Compounds*, 682, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2016.04.266>
- Hogabri, A., Dorrnian, D., & Hadavi, N. (2009). *Investigation of the Effect of Nitrogen Plasma Treatment on the Properties of Red-BS Dye Doped PMMA Film*. 19(November 2014), 13–19.
- Hutama, A. S., & Nugroho, A. (2020). Optimasi Pembuatan Scaffold dengan Struktur Pori-Pori Beraturan Menggunakan Metode Response Surface Method. *JMPM (Jurnal Material Dan Proses Manufaktur)*, 4(1), 1–11. <https://doi.org/10.18196/jmpm.4147>
- Ikeda, T., Ikeda, K., Yamamoto, K., Ishizaki, H., Yoshizawa, Y., Yanagiguchi, K., Yamada, S., & Hayashi, Y. (2014). Fabrication and characteristics of chitosan sponge as a tissue engineering scaffold. *BioMed Research International*, 2014(Dd). <https://doi.org/10.1155/2014/786892>
- 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>
- Jayakumar, R., Prabakaran, M., Sudheesh Kumar, P. T., Nair, S. V., & Tamura, H. (2011). Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnology Advances*, 29(3), 322–337. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.005>
- Jeffrey, R. G., Kear, J., Kasperczyk, D., Zhang, X., Chuprakov, D., Prioul, R., & Schouten, J. (2015). A 2D experimental method with results for hydraulic fractures crossing discontinuities. *49th US Rock Mechanics / Geomechanics Symposium 2015*, 2(June), 1176–1187.
- Jennings, J. A. (2017). Controlling chitosan degradation properties in vitro and in vivo. In *Chitosan Based Biomaterials* (Vol. 1). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100230-8.00007-8>
- Kalaiselvi, V., Mathammal, R., Vijayakumar, S., & Vaseeharan, B. (2018). Microwave assisted green synthesis of Hydroxyapatite nanorods using Moringa oleifera flower extract and its antimicrobial applications. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 6(2), 286–295. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.08.003>
- Kamimura, M., Tamura, J., Shinzato, S., Kawanabe, K., Neo, M., Kokubo, T., & Nakamura, T. (2002). Interfacial tensile strength between polymethylmethacrylate-based bioactive bone cements and bone. *Journal of Biomedical Materials Research*, 61(4), 564–571. <https://doi.org/10.1002/jbm.10214>
- Kane, R. J., & Roeder, R. K. (2012). Effects of hydroxyapatite reinforcement on the architecture and mechanical properties of freeze-dried collagen scaffolds. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 7, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.09.010>
- Kara Rogers Senior Editor, B. S. (2010). *Bone and Muscle: Structure, Force, and Motion*. Britannica Educational Pub. <https://books.google.co.id/books?id=wDIjRrMdlBgC>
- Karthik, P., Keertiraj, A. S. A. A., & Kudlappa, M. R. A. K. (2018). *A Study on Biomechanical Structure (Femur Bone)*. 5(11), 137–139.
- Kavasi, R. M., Coelho, C. C., Platania, V., Quadros, P. A., & Chatzinikolaidou, M. (2021). In vitro biocompatibility assessment of nano-hydroxyapatite. *Nanomaterials*, 11(5), 1–15. <https://doi.org/10.3390/nano11051152>
- Kazemzadeh-Narbat, M., Orang, F., Solati-Hashjin, M., & Goudarzi, A. (2006). Fabrication of Porous Hydroxyapatite-Gelatin Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Iran Biomed*, 10.

- Kelly, C. N., Lin, A. S., Leguineche, K. E., Shekhar, S., Walsh, W. R., Guldborg, R. E., & Gall, K. (2021). Functional repair of critically sized femoral defects treated with bioinspired titanium gyroid-sheet scaffolds. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 116, 104380. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104380>
- Komang-Agung, I. S., Hydravianto, L., Sindrawati, O., & William, P. S. (2018). Effect of polymethylmethacrylate-hydroxyapatite composites on callus formation and compressive strength in goat vertebral body. *Malaysian Orthopaedic Journal*, 12(3), 6–13. <https://doi.org/10.5704/MOJ.1811.002>
- Kuehn, K. D., Ege, W., & Gopp, U. (2005). Acrylic bone cements: Composition and properties. *Orthopedic Clinics of North America*, 36(1), 17–28. <https://doi.org/10.1016/j.ocl.2004.06.010>
- Kumar, Prasanna, Vinitha, B., & Fathima, G. (2013). Bone grafts in dentistry. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 5(SUPPL.1), 125–128. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.113312>
- Kumar, Priti, Nagarajan, A., & Uchil, P. D. (2018). Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(6). <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095505>
- Kumari, M., Liu, C. H., & Wu, W. C. (2018). Efficient gene delivery by oligochitosan conjugated serum albumin: Facile synthesis, polyplex stability, and transfection. *Carbohydrate Polymers*, 183(August 2017), 37–49. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.013>
- Kusumawardani, C. D. N., Chondro, R. T., Andrian, I., & Sari, R. P. (2020). <p>Pengaruh penambahan hidroksiapatit terhadap porositas dan compressive strength basis resin akrilik heat-cured</p><p>Effect of hydroxyapatite addition towards porosity level and compressive strength of heat-cured acrylic resin base</p>. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 32(2), 91. <https://doi.org/10.24198/jkg.v32i2.26627>
- 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). Laporan_Nasional_RKD2018_FINAL.pdf. In *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan* (p. 198). http://labdata.litbang.kemkes.go.id/images/download/laporan/RKD/2018/Laporan_Nasional_RKD2018_FINAL.pdf
- Lee, D. W., Lim, C., Israelachvili, J. N., & Hwang, D. S. (2013). Strong adhesion and cohesion of chitosan in aqueous solutions. *Langmuir*, 29(46), 14222–14229. <https://doi.org/10.1021/la403124u>
- Lee, S., Porter, M., Wasko, S., Lau, G., Chen, P. Y., Novitskaya, E. E., Tomsia, A. P., Almutairi, A., Meyers, M. A., & McKittrick, J. (2012). Potential bone replacement materials prepared by two methods. *Materials Research Society Symposium Proceedings*, 1418(June 2015), 177–188. <https://doi.org/10.1557/opl.2012.671>
- Levengood, S. K. L., & Zhang, M. (2014). Chitosan-based scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of Materials Chemistry B*, 2(21), 3161–3184. <https://doi.org/10.1039/c4tb00027g>
- Liao, C. J., Chen, C. F., Chen, J. H., Chiang, S. F., Lin, Y. J., & Chang, K. Y. (2002). Fabrication of porous biodegradable polymer scaffolds using a solvent merging/particulate leaching method. *Journal of Biomedical Materials Research*, 59(4), 676–681. <https://doi.org/10.1002/jbm.10030>
- Lillo, L., Alarcón, J., Cabello, G., Céspedes, C., & Caro, C. (2008). Antibacterial activity of chitooligosaccharides. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*,

- 63(9–10), 644–648. <https://doi.org/10.1515/znc-2008-9-1005>
- Lin, H. R., & Yen, Y. J. (2004). Porous alginate/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering: Preparation, characterization, and in vitro studies. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 71(1), 52–65. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30065>
- 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>
- Lu, J., Guo, S. C., Wang, Q. Y., Sheng, J. G., & Tao, S. C. (2020). J-bone graft with double locking plate: A symphony of mechanics and biology for atrophic distal femoral non-union with bone defect. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 15(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13018-020-01636-3>
- Ma, B., Wang, X., Wu, C., & Chang, J. (2014). Crosslinking strategies for preparation of extracellular matrix-derived cardiovascular scaffolds. *Regenerative Biomaterials*, 1(1), 81–89. <https://doi.org/10.1093/rb/rbu009>
- 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>
- Manuscript, A. (2020). *Materials Chemistry B*. <https://doi.org/10.1039/D0TB02407D>
- Matbouei, A., Fathi, A., Rabiee, S. M., & Shirzad, M. (2019). Layered manufacturing of a three-dimensional polymethyl methacrylate (PMMA) scaffold used for bone regeneration. *Materials Technology*, 34(3), 167–177. <https://doi.org/10.1080/10667857.2018.1541212>
- Mi, H. Y., Jing, X., & Turng, L. S. (2014). Fabrication of porous synthetic polymer scaffolds for tissue engineering. *Journal of Cellular Plastics*, 51(2), 165–196. <https://doi.org/10.1177/0021955X14531002>
- Milla, L. El, Indrani, D. J., & Irawan, B. (2018). Sintesis Dan Uji Porositas Scaffold Hidroksiapatit/Alginat. *ODONTO: Dental Journal*, 5(1), 49. <https://doi.org/10.30659/odj.5.1.49-53>
- Mohammed, M. A., Syeda, J. T. M., Wasan, K. M., & Wasan, E. K. (2017). *An Overview of Chitosan Nanoparticles and Its Application in Non-Parenteral Drug Delivery*. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics9040053>
- Mohd Pu'ad, N. A. S., Koshy, P., Abdullah, H. Z., Idris, M. I., & Lee, T. C. (2019). Syntheses of hydroxyapatite from natural sources. *Heliyon*, 5(5), e01588. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01588>
- Morais, A. R. D. V., Alencar, É. D. N., Xavier Júnior, F. H., Oliveira, C. M. De, Marcelino, H. R., Barratt, G., Fessi, H., Egito, E. S. T. Do, & Elaissari, A. (2016). Freeze-drying of emulsified systems: A review. *International Journal of Pharmaceutics*, 503(1–2), 102–114. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.02.047>
- N, K., & Shaik, H. (2014). Osteometric study of human femur. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 2(1), 104. <https://doi.org/10.5455/2320-6012.ijrms20140221>
- Nareliya, R., & Kumar, V. (2011). Biomechanical analysis of human femur bone. *International Journal of Engineering Science and Technology*, 3(4), 3090–3094.
- 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>
- Nguyen, N. T., Hoang, D. Q., Nguyen, N. D., Nguyen, Q. H., & Nguyen, D. H. (2017).

- Preparation, characterization, and antioxidant activity of water-soluble oligochitosan. *Green Processing and Synthesis*, 6(5), 461–468. <https://doi.org/10.1515/gps-2016-0126>
- Nitti, P., Kunjalukkal Padmanabhan, S., Cortazzi, S., Stanca, E., Siculella, L., Licciulli, A., & Demitri, C. (2021). Enhancing Bioactivity of Hydroxyapatite Scaffolds Using Fibrous Type I Collagen. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9(February), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.631177>
- 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>
- Owen, R., Sherborne, C., Evans, R., Reilly, G. C., & Claeysens, F. (2020). Combined porogen leaching and emulsion templating to produce bone tissue engineering scaffolds. *International Journal of Bioprinting*, 6(2), 1–15. <https://doi.org/10.18063/ijb.v6i2.265>
- Park, H. J., Lee, O. J., Lee, M. C., Moon, B. M., Ju, H. W., Lee, J. min, Kim, J. H., Kim, D. W., & Park, C. H. (2015). Fabrication of 3D porous silk scaffolds by particulate (salt/sucrose) leaching for bone tissue reconstruction. *International Journal of Biological Macromolecules*, 78, 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.03.064>
- Perić Kačarević, Ž., Rider, P., Alkildani, S., Retnasingh, S., Pejakić, M., Schnettler, R., Gosau, M., Smeets, R., Jung, O., & Barbeck, M. (2020). An introduction to bone tissue engineering. *International Journal of Artificial Organs*, 43(2), 69–86. <https://doi.org/10.1177/0391398819876286>
- Pighinelli, L., & Kucharska, M. (2013). Chitosan-hydroxyapatite composites. *Carbohydrate Polymers*, 93(1), 256–262. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.004>
- Pikis, S., Goldstein, J., & Spektor, S. (2015). Potential neurotoxic effects of polymethylmethacrylate during cranioplasty. *Journal of Clinical Neuroscience*, 22(1), 139–143. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2014.06.006>
- 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(December 2019), 110557. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110557>
- Polo-Corrales, L., Latorre-Esteves, M., & Ramirez-Vick, J. E. (2014). Scaffold design for bone regeneration. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 14(1), 15–56. <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.9127>
- Purnaning, D., Taufik, A., & Zulkarnaen, D. A. (2020). Penyuluhan Penanganan Tepat Kasus Patah Tulang Pada Masyarakat Di Desa Senggigi. *Pepadu*, 2, 2–3.
- Quelch, K. J., Melick, R. A., Bingham, P. J., & Mercuri, S. M. (1983). Chemical composition of human bone. *Archives of Oral Biology*, 28(8), 665–674. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(83\)90100-0](https://doi.org/10.1016/0003-9969(83)90100-0)
- Radha, G., Balakumar, S., Venkatesan, B., & Vellaichamy, E. (2017). A novel nano-hydroxyapatite — PMMA hybrid scaffolds adopted by conjugated thermal induced phase separation (TIPS) and wet-chemical approach: Analysis of its mechanical and biological properties. *Materials Science and Engineering C*, 75, 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.12.133>
- 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>
- Rahmawati, D., Sunarso, & Irawan, B. (2020). Aplikasi Hidroksiapatit Sebagai Bone Filler.

- Jurnal Material Kedokteran Gigi*, 39–46. <https://doi.org/10.32793/jmkg.v9i2.460>
- Researcher, L. (2021). *Oligochitosan and Oligochitosan Ascorbat: Preparation and Properties*. 10(2), 1244–1262.
- Rey, D. F. V., & St-Pierre, J. P. (2019). Fabrication techniques of tissue engineering scaffolds. In *Handbook of Tissue Engineering Scaffolds: Volume One*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102563-5.00006-X>
- 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). <https://doi.org/10.3390/ma9120991>
- Santin, M., Motta, A., Borzachiello, A., Nicolais, L., & Ambrosio, L. (2004). Effect of PMMA cement radical polymerisation on the inflammatory response. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 15(11), 1175–1180. <https://doi.org/10.1007/s10856-004-5668-x>
- Sari, M., Hening, P., Chotimah, Ana, I. D., & Yusuf, Y. (2021). Porous structure of bioceramics carbonated hydroxyapatite-based honeycomb scaffold for bone tissue engineering. *Materials Today Communications*, 26(February), 102135. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102135>
- Serbetci, K., Korkusuz, F., & Hasirci, N. (2004). Thermal and mechanical properties of hydroxyapatite impregnated acrylic bone cements. *Polymer Testing*, 23(2), 145–155. [https://doi.org/10.1016/S0142-9418\(03\)00073-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9418(03)00073-4)
- Setiya Budiadin, A., Samirah, Apriliani Gani, M., Putri Nilamsari, W., & Ardianto, C. (2020). The characterization of bovine bone-derived hydroxyapatite isolated using novel non-hazardous method. *Journal of Biomimetics, Biomaterials and Biomedical Engineering*, 45, 49–56. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/jbbbe.45.49>
- 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>
- Singh Jessy, R., & Hakimi Ibrahim, M. (2014). Biodegradability and Biocompatibility of Polymers with Emphasis on Bone Scaffolding: a Brief Review. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(7), 7–9. www.ijsrp.org
- 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>
- Soriente, A., Fasolino, I., Gomez-Sánchez, A., Prokhorov, E., Buonocore, G. G., Luna-Barcnas, G., Ambrosio, L., & Raucci, M. G. (2022). Chitosan/hydroxyapatite nanocomposite scaffolds to modulate osteogenic and inflammatory response. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 110(2), 266–272. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37283>
- Sözüğeçer, S., & Bayramgil, N. P. (2021). Preparation and characterization of polyacrylic acid-hydroxyapatite nanocomposite by microwave-assisted synthesis method. *Heliyon*, 7(6). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07226>
- Subia, B., Kundu, J., & C., S. (2010). Biomaterial Scaffold Fabrication Techniques for Potential Tissue Engineering Applications. *Tissue Engineering*, 3, 141–159. <https://doi.org/10.5772/8581>
- Tessmar, J. K. V., Holland, T. A., & Mikos, A. G. (2005). Salt leaching for polymer scaffolds: Laboratory-scale manufacture of cell carriers. In *Scaffolding in Tissue Engineering* (pp. 111–124).
- Tözüm, M. S., Aksoy, S. A., & Alkan, C. (2018). Microencapsulation of Three-Component

- Thermochromic System for Reversible Color Change and Thermal Energy Storage. *Fibers and Polymers*, 19(3), 660–669. <https://doi.org/10.1007/s12221-018-7801-3>
- Tran, R. T., Naseri, E., Kolasnikov, A., Bai, X., & Yang, J. (2011). A new generation of sodium chloride porogen for tissue engineering. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 58(5), 335–344. <https://doi.org/10.1002/bab.44>
- Türk, S., Altınsoy, ÇelebiEfe, G., Ipek, M., Özacar, M., & Bindal, C. (2017). Microwave-assisted biomimetic synthesis of hydroxyapatite using different sources of calcium. *Materials Science and Engineering C*, 76, 528–535. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.116>
- Vaishya, R., Chauhan, M., & Vaish, A. (2013). Bone cement. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*, 4(4), 157–163. <https://doi.org/10.1016/j.jcot.2013.11.005>
- Van Meerloo, J., Kaspers, G. J. L., & Cloos, J. (2011). Cell sensitivity assays: The MTT assay. *Methods in Molecular Biology*, 731, 237–245. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-80-5_20
- Varton, D., Widiyanti, P., Wahyuningsih, S. P. A., & Aminatun. (2021). *Biocompatibility Testing of Hydroxyapatite-Chitosan-Chondroitin Sulfate Composite Scaffold as Bone Graft*.
- Vedhanayagam, M., Anandasadagopan, S., Nair, B. U., & Sreeram, K. J. (2020). Polymethyl methacrylate (PMMA) grafted collagen scaffold reinforced by PdO–TiO₂ nanocomposites. *Materials Science and Engineering C*, 108(November 2019), 110378. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110378>
- Venkatesan, J., Pangestuti, R., Qian, Z.-J., Ryu, B., & Kim, S.-K. (2010). Biocompatibility and Alkaline Phosphatase Activity of Phosphorylated Chitooligosaccharides on the Osteosarcoma MG63 Cell Line. *Journal of Functional Biomaterials*, 1(1), 3–13. <https://doi.org/10.3390/jfb1010003>
- Wang, S., Huang, Z., Liu, L., Shi, Z., Liu, J., Li, Z., & Hao, Y. (2021). Design and study of in vivo bone formation characteristics of biodegradable bioceramic. *Materials & Design*, 212, 110242. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2021.110242>
- Wei, G., & Ma, P. X. (2004). Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 25(19), 4749–4757. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.12.005>
- Yang, Z., Peng, H., Wang, W., & Liu, T. (2010). Crystallization behavior of poly(ϵ -caprolactone)/layered double hydroxide nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, 116(5), 2658–2667. <https://doi.org/10.1002/app>
- Yessy Warastuti, Emil Budianto, & Darmawan. (2015). Sintesis Dan Karakterisasi Membran Komposit Hidroksiapatit Tulang Sapi-Khitosan-Poli(Vinil Alkohol) Untuk Aplikasi Biomaterial. *Jurnal Sains Materi Indonesia*, 16(2), 83–90.
- 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.djmk.v38.i2.p68-72>
- Zebarjad, S. M., Sajjadi, S. A., Sdrabadi, T. E., Sajjadi, S. A., Yaghmaei, A., & Naderi, B. (2011). A Study on Mechanical Properties of PMMA/Hydroxyapatite Nanocomposite. *Engineering*, 03(08), 795–801. <https://doi.org/10.4236/eng.2011.38096>
- Zhang, S., Chen, G., Wang, M., Lin, B., Gao, X., Hu, J., Chen, B., & Zhang, C. (2022). Osteogenic and anti-inflammatory potential of oligochitosan nanoparticles in treating osteomyelitis. *Biomaterials Advances*, 135(September 2021), 112681. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2022.112681>
- 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>
- Zhao, H., Liao, J., Wu, F., & Shi, J. (2021). Mechanical strength improvement of chitosan/hydroxyapatite scaffolds by coating and cross-linking. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 114(October), 104169. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.104169>
- Zhao, P., Gu, H., Mi, H., Rao, C., Fu, J., & Turng, L. sheng. (2018). Fabrication of scaffolds in tissue engineering: A review. *Frontiers of Mechanical Engineering*, 13(1), 107–119. <https://doi.org/10.1007/s11465-018-0496-8>
- Zhu, H., Song, W., & Deng, Y. (2018). *Hydroxyapatite extracted by animal bone image analysis in ionic liquid choline*.
- Zuraida, R. (2015). Fatigue Risk of Long-Distance Driver as the Impact of the Duration of Work. *ComTech: Computer, Mathematics and Engineering Applications*, 6(3), 319. <https://doi.org/10.21512/comtech.v6i3.2207>

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

LAMPIRAN



KEMENTERIAN PERTANIAN
DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN
PUSAT VETERINER FARMA

JALAN JENDERAL A. YANI 68 - 70, SURABAYA 60231
 TELP. (031) 8291124 - 8291125, FAX. (031) 8291163

Website : pusvetfma.ditjenpkh.pertanian.go.id Email : pusvetfma@pertanian.go.id



PUSAT VETERINER FARMA

Nomor : 06208/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 58 | 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 |
| Control Sel | F6-F8 : Jo3 | G12 : HAP Kompres |
| Control 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. Septo Rini Budi P. M.Imun.
 196612281994032001

Pemeriksa Laboratorium,

Putriani Endah Wjyanti, A.Md
 NIP. 198107012011012006



Hewan Sehat, Rakyat Selamat, Negara Kuat



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.skr@gmail.com

Menerangkan 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

No.	HAP 56	HAP 61	HAP 66
1.	6,2	9,9	11,5
2.	8,4	8,1	11,4
3.	7,5	8,7	12,7

No.	GNG V1 CS 3%	GNG V2 CS 4%	GNG V3 CS 5%
1.	6,2	12,2	11,9
2.	4,8	8,2	11,7
3.	6,4	7,7	11,8

No.	J0 – V1 2% CS	J0 – V2 2% CS	J0 – V3 2% CS
1.	6,6	10,8	13,2
2.	6,9	11,2	13,5
3.	6,5	10,8	13,7

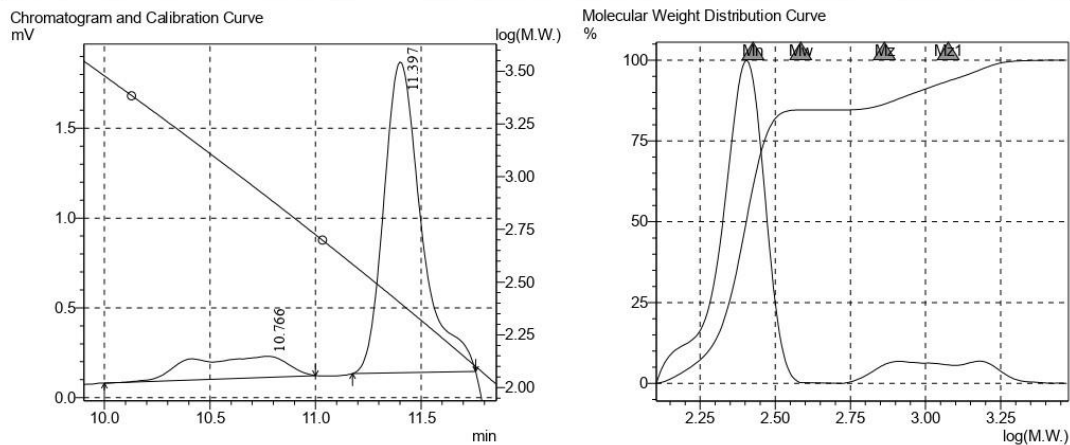
*satuan dalam CFU/ml



Mengetahui :
Eta Radhianto, A.Md

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

Acquired by : System Administrator
 Sample Name : Chitosan Rajungan
 Sample ID : Chitosan Rajungan
 Vail# : 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



Peak Report

Detector A Channel 1						
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

C:\Users\DELL\Documents\Data Analisa\2021\160221\Chitosan Rajungan.lcd

	Time(min)	Volume(mL)	Molecular Weight	Height
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



LABORATORIUM INOVASI MATERIAL
JURUSAN TEKNIK MATERIAL DAN METALURGI
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
Kampus ITS Sukolilo, Surabaya 60111

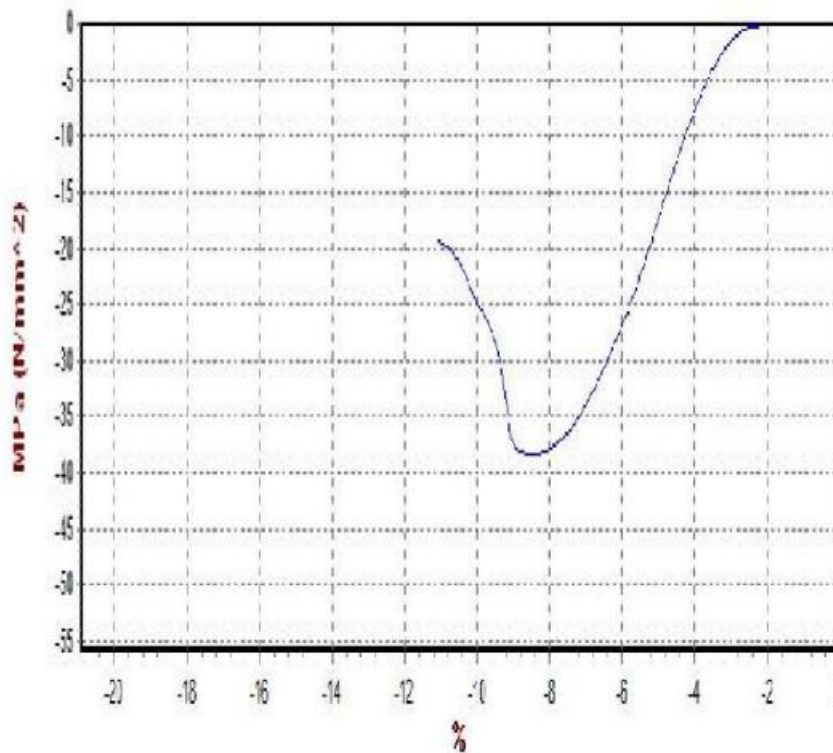


TEST REPORT

Information : PMMA/HA/chitosan

Date :

Specimens	Area mm^2	Max Force N	Yield Strength N/mm^2	Compressive Str N/mm^2	Modulus of Elasticity (E) N/mm^2	Elongation %
HAP 56_2	165.130	6339.8	36.86	38.39	1006.79	6.46





LABORATORIUM INOVASI MATERIAL
JURUSAN TEKNIK MATERIAL DAN METALURGI
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
Kampus ITS Sukolilo, Surabaya 60111

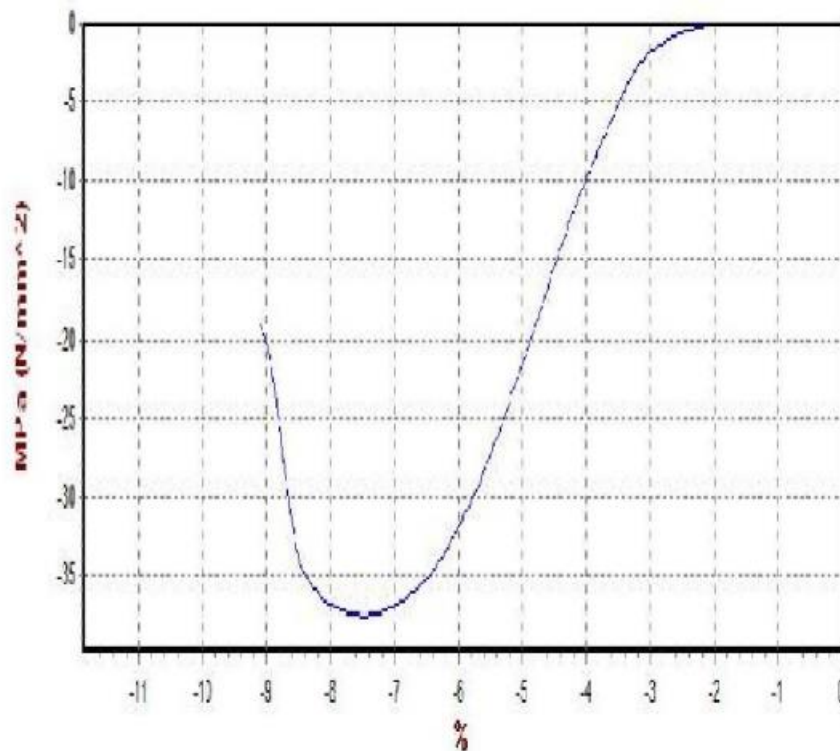


TEST REPORT

Information : PMMA/HA/chitosan

Date :

Specimens	Area mm^2	Max Force N	Yield Strength N/mm^2	Compressive Str N/mm^2	Modulus of Elasticity (E) N/mm^2	Elongation $\%$
HAP 61_1	153.938	5789.5	37.25	37.61	1214.05	6.46





LABORATORIUM INOVASI MATERIAL
JURUSAN TEKNIK MATERIAL DAN METALURGI
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
Kampus ITS Sukolilo, Surabaya 60111

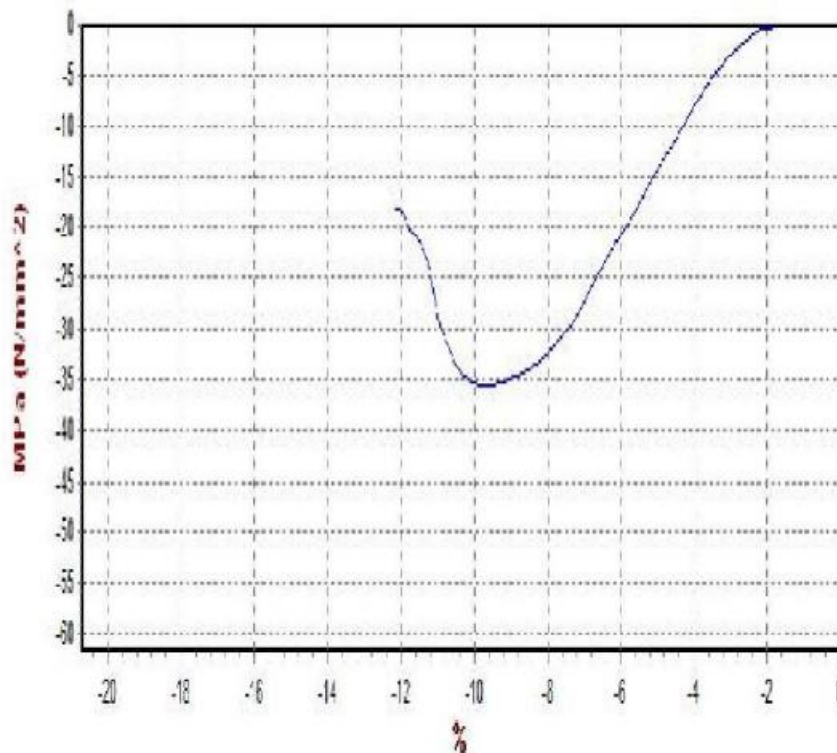


TEST REPORT

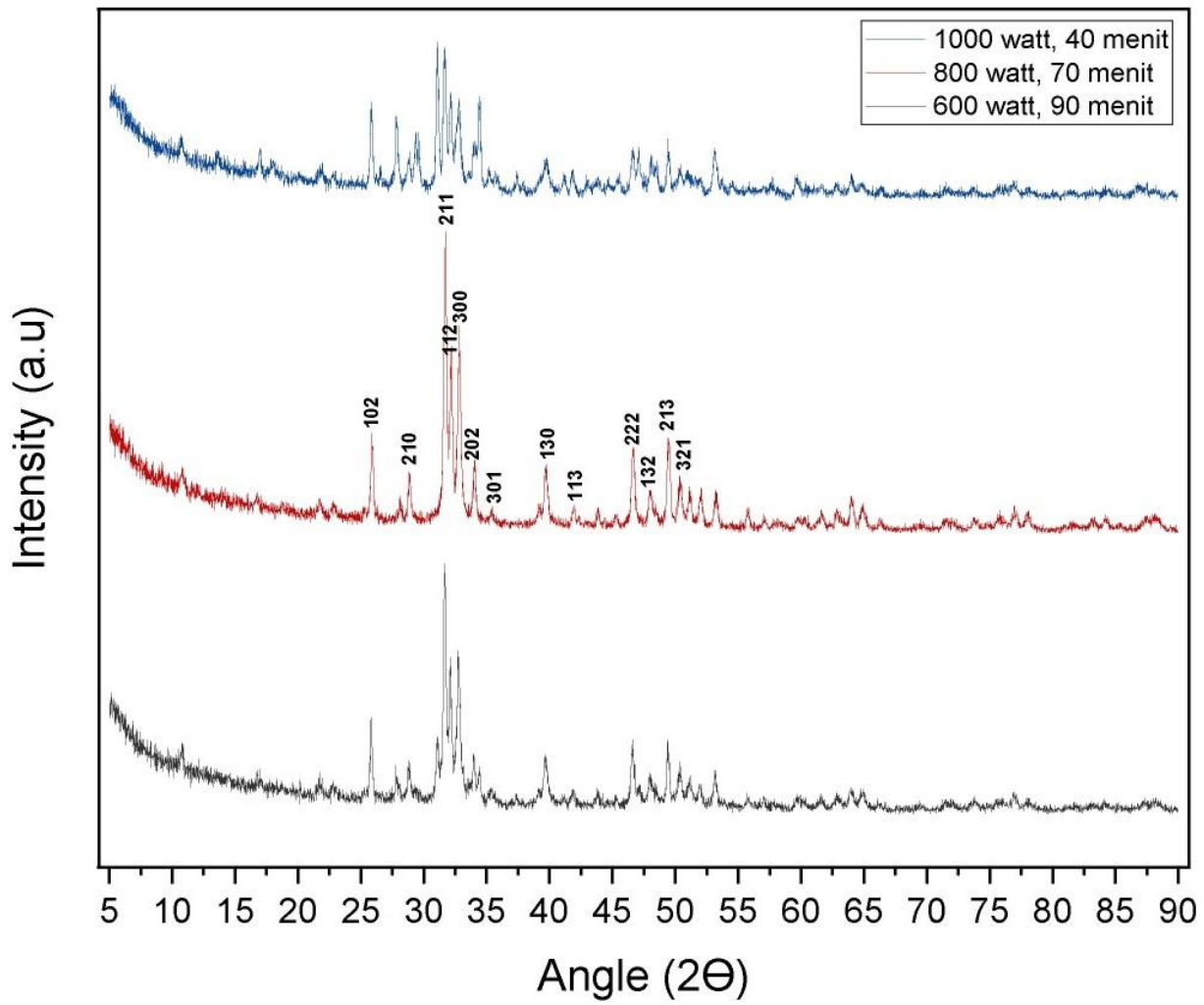
Information : PMMA/HA/chitosan

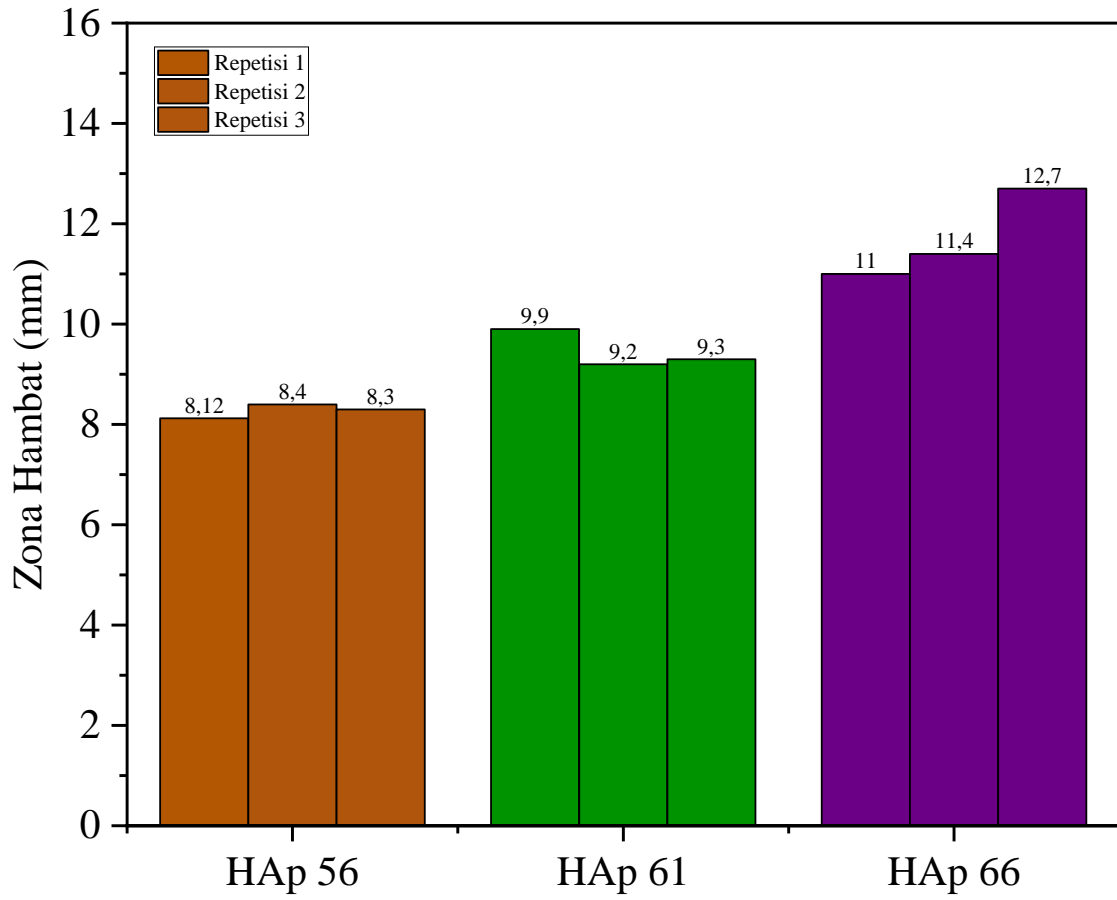
Date :

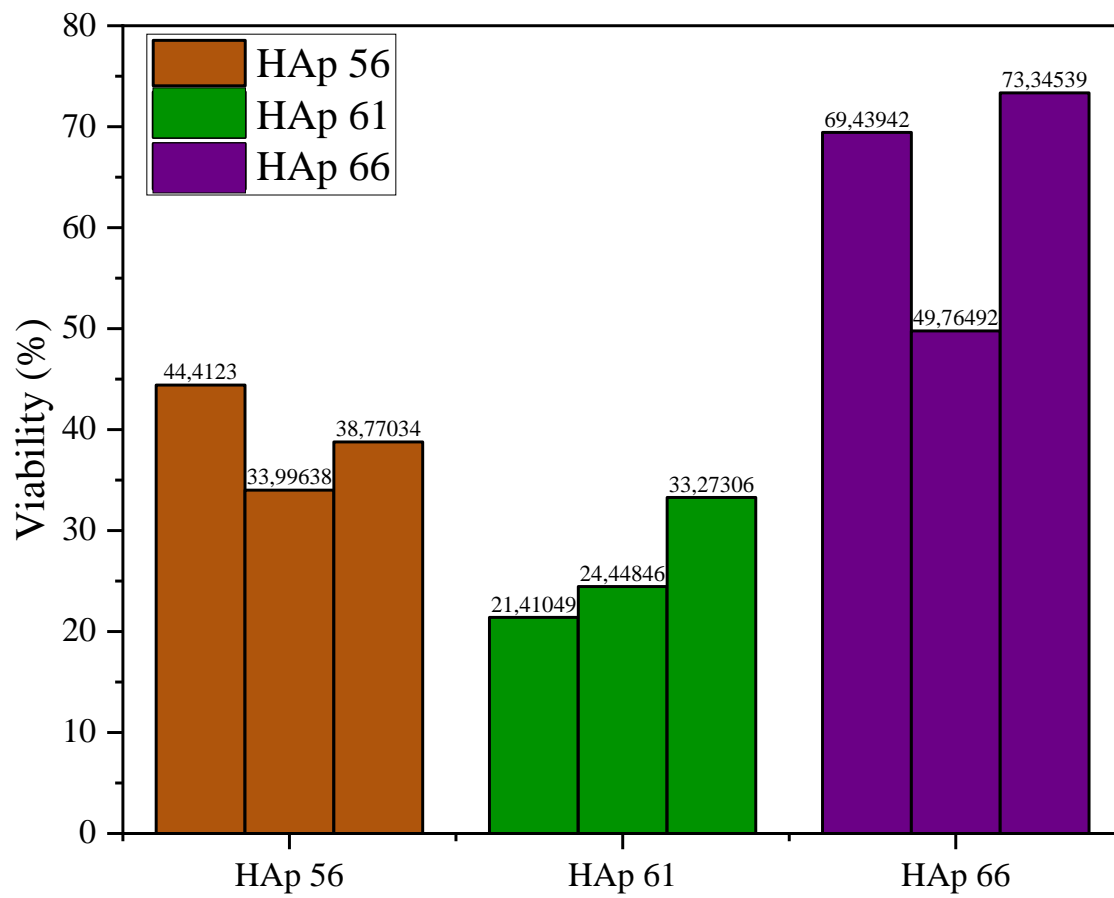
Specimens	Area mm^2	Max Force N	Yield Strength N/mm^2	Compressive Str N/mm^2	Modulus of Elasticity (E) N/mm^2	Elongation %
HAP 66_2	176.715	6292.9	35.56	35.61	628.98	6.46



Hasil XRD sampel Hidroksiapatit







UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam penulisan laporan penelitian tugas akhir. Penulis mendapatkan dukungan dari berbagai pihak, hal ini membuat penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada pihak – pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan, diantaranya :

1. Kedua orang tua saya yang telah memberikan dukungan secara moral, serta kepada kedua saudara saya yang telah memberikan saran dan dukungan selama penulisan
2. Kepada Ibu Yuli Setiyorini dan Bapak Sungging Pintowantoro sebagai pembimbing I dan II, yang telah memberikan bimbingan dan ilmu.
3. Bapak Wikan Jatimurti telah menjadi dosen wali Penulis Selama masa perkuliahan selama 4 tahun di Departemen Teknik Material dan Metalurgi, Fakultas Teknik Industri dan Rekayasa Sistem.
4. Rekan – rekan TA Bovine Team khususnya Yulindarika Nur Anggraini yang menjadi partner penulis selama tugas akhir serta Ganang, dan Jonathan sebagai anak bimbingan Bu Yuli Setiyorini yang telah bersama sama selama 1 tahun mengerjakan penelitian tugas akhir ini
5. Pak bas, Mas Fahny, Mbak anggra serta anggota Laboratorium Pengolahan Mineral dan Material/ekstraksi, yaitu Akbar, Ojil, Raihan, Zafi, Fahdlan dan Rachmat yang telah menemani penulis saat bekerja di Laboratorium
6. Mischell Sari Sjaibani sudah memberikan support serta kata semangat kepada Penulis selama penyusunan Laporan Tugas Akhir
7. Thomas Alvin Suganda sudah meminjamkan laptop kepada penulis membantu penulis dalam memperbaiki laptop selama Penulisan Tugas Akhir
8. Leon Sutanto telah memberikan transportasi serta bantuan kepada Penulis selama penyusunan Laporan Tugas Akhir
9. Jovin, Tommy, Eric Steven, Michael Julian Pieter Telah memberikan support secara moril dan memberikan kenangan indah kepada Penulis
10. Felysia Isman, Cendrawan Santoso, Andrew sudah memberikan support secara moril dan telah memberikan kenangan indah kepada Penulis
11. Serta kepada 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, 8 Juli 2022

Penulis

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BIODATA PENULIS



Penulis Lahir di Kota Tebing Tinggi, Sumatera Utara pada 11 Februari 2000 sebagai anak kedua dari tiga bersaudara. Penulis menempuh pendidikan formal SD hingga SMP di sekolah swasta F.Tandean Tebing Tinggi Sumatera Utara pada 2006 - 2015, dan menempuh jenjang SMA pada 2015 – 2018 di sekolah swasta Sutomo 1 Medan Sumatera Utara. Pada tahun 2018, penulis melanjutkan pendidikan pada jenjang sarjana di Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya melalui jalur SBMPTN. Selama perkuliahan penulis aktif dalam kegiatan organisasi yaitu sebagai staff kerohanian dari Tim Pembina Kerohanian Buddha (TPKB) ITS pada 2019, dan menjadi ketua umum dari TPKB pada 2020. Selain itu penulis juga pernah menjadi asisten dosen pada departemen matematika untuk mengaja kalkulus 1 dan kalkulus 2 pada tahun 2019 – 2020. Penulis juga aktif dalam mengikuti pelatihan yaitu LKMM-Pra TD, dan LKMW-Pra TD FTIRS ITS pada 2018. Penulis juga memiliki pengalaman kerja di PT Petrokimia Gresik selama sebulan pada divisi Inspeksi Teknik, serta penulis juga mengikuti Program Magang Mahasiswa Bersertifikat (PMMB) selama enam bulan di PT Indonesia Asahan Aluminium di departemen penuangan SCA pada tahun 2020 dari bulan Maret hingga September. Dalam menyelesaikan pendidikan sarjana, penulis melakukan penelitian dalam bidang biomaterial dengan tugas akhir berjudul “Pegembangan Komposit Bone Graft Berbasis Kitosan – PMMA – Hidroksiapatit Scaffold pada Properties”. Penulis dapat dihubungi melalui email : edricklivanrio68@gmail.com atau melalui Line : edricklivanrio.