



ITS
Institut
Teknologi
Sepuluh Nopember

TUGAS AKHIR - TL 184834

PENGARUH PENAMBAHAN KOMPOSISI rGO TERHADAP BOKOMPATIBILITAS DAN DEGRADASI HIDROLITIK MATERIAL INJECTABLE KOMPOSIT HIDROGEL ALGINAT/PVA/rGO UNTUK APLIKASI TISSUE ENGINEERING

SALMA HALIMAH
NRP 02511540000110

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

DEPARTEMEN TEKNIK MATERIAL
Fakultas Teknologi Industri
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2019



TUGAS AKHIR - TL 184834

**PENGARUH PENAMBAHAN KOMPOSISI rGO
TERHADAP BOKOMPATIBILITAS DAN
DEGRADASI HIDROLITIK MATERIAL
INJECTABLE KOMPOSIT HIDROGEL
ALGINAT/PVA/rGO UNTUK APLIKASI TISSUE
ENGINEERING**

**SALMA HALIMAH
NRP 02511540000110**

**Dosen Pembimbing
Sigit Tri Wicaksono, S.Si., M.Si., Ph. D.
Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc.**

**DEPARTEMEN TEKNIK MATERIAL
Fakultas Teknologi Industri
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2019**

(Halaman ini sengaja dikosongkan)



FINAL PROJECT - TL 184834

**THE EFFECT OF ADDITION OF rGO
COMPOSITION TO BIOCOMPATIBILITY AND
HYDRAULIC DEGRADATION OF INJECTABLE
MATERIAL OF HYDROGEL COMPOSITE
ALGINATE/PVA/rGO FOR TISSUE
ENGINEERING APPLICATIONS**

**SALMA HALIMAH
NRP 02511540000110**

Advisors

**Sigit Tri Wicaksono, S.Si., M.Si., Ph. D.
Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc.**

**MATERIAL ENGINEERING DEPARTMENT
Faculty of Industrial Technology
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2019**

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

**PENGARUH PENAMBAHAN KOMPOSISI
rGO TERHADAP BIOKOMPATIBILITAS DAN
DEGRADASI HIDROLITIK MATERIAL
INJECTABLE KOMPOSIT HIDROGEL
ALGINAT/PVA/rGO UNTUK APLIKASI
TISSUE ENGINEERING**



TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Teknik
pada
Bidang Studi Material Inovatif
Program Studi S-1 Departemen Teknik Material
Fakultas Teknologi Industri
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

SALMA HALIMAH
NRP. 0251154000110

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Sigit Tri Wicaksono, S.Si., M.Si., Ph. D.  (Pembimbing I)
2. Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc.  (Pembimbing II)



(Halaman ini sengaja dikosongkan)

**PENGARUH PENAMBAHAN KOMPOSISI rGO
TERHADAP BOKOMPATIBILITAS DAN
DEGRADASI HIDROLITIK MATERIAL
INJECTABLE KOMPOSIT HIDROGEL
ALGINAT/PVA/rGO UNTUK APLIKASI TISSUE
ENGINEERING**

Nama : Salma Halimah
NRP : 0251154000110
Departemen : Teknik Material
Dosen Pembimbing : Sigit Tri Wicaksono, S.Si.,
M.Si., Ph. D
Co-pembimbing : Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc.

ABSTRAK

Rekayasa Jaringan berkembang dengan harapan mampu merekonstruksi fungsi dari jaringan yang rusak atau hilang, tanpa perlu merusak jaringan yang sehat.. Material yang digunakan untuk rekayasa jaringan adalah biomaterial. Biomaterial yang digunakan dalam penelitian ini adalah komposit alginat. Alginat merupakan kopolimer alami yang memiliki biokompatibilitas yang tinggi. Dalam penelitian ini akan dianalisa pengaruh penambahan Reduced Graphene Oxide (rGO) terhadap biokompatibilitas dan degradasi hidrolitik dari injectable komposit hidrogel Alginat/PVA/rGO. Sintesis komposit hidrogel alginat/PVA/rGO dimulai dengan sintesis rGO menggunakan Hummer's Method, kemudian sintesis hidrogel dengan menggunakan CaSO₄ sebagai crosslinker. Adapun variabel rGO yang diberikan pada hidrogel sebesar 0; 0,4; 0,8; 1,2; dan 1,6 dari total berat komposit alginat dan PVA. Pengujian SEM-EDX dilakukan untuk menganalisa struktur dan morfologi, untuk pengujian biokompatibilitas menggunakan MTT assay, dan pengujian anti bakteri. Analisa degradasi hidrolitik menggunakan pengujian weight loss. Dari pengujian diatas, jumlah penambahan rGO mempengaruhi morfologi hidrogel

dengan membentuk struktur yang lebih rapat, serta didapatkan bahwa penambahan rGO sebesar 0,4 dari total berat komposit dapat meningkatkan nilai biokompatibilitas dan nilai viabilitas sel akan berkurang seiring dengan penambahan berat rGO, serta penambahan rGO belum memperlihatkan adanya zona inhibisi pada sekitar komposit. Nilai rasio degradasi hidrolitik mengalami penurunan setelah penambahan rGO. Modifikasi komposit alginat ini diharapkan mampu menjadi pendukung riset rekayasa jaringan, dikarenakan alginat serta PVA yang memiliki biokompatibilitas yang baik, serta penambahan rGO mampu mengoptimasi degradasi hidrolitik komposit hidrogel ini.

Kata Kunci : Injectable, Hidrogel, Tissue Engineering, Alginat, PVA, rGO.

**THE EFFECT OF ADDITION OF
rGO COMPOSITION TO BIOCOMPATIBILITY AND
HYDRAULIC DEGRADATION INJECTABLE
MATERIAL OF HYDROGEL
COMPOSITE ALGINATE/ PVA/rGO FOR TISSUE
ENGINEERING APPLICATIONS**

Name : Salma Halimah
Student Number : 0251154000110
Departement : Material Engineering
Advisor : Sigit Tri Wicaksono, S.Si.,
M.Si., Ph. D
Co-Advisor : Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc.

ABSTRACT

Tissue engineering develops in the hope of being able to reconstruct the function of damaged or lost tissue, without the need to damage healthy tissue. The material used for tissue engineering is biomaterials. Biomaterials themselves act as a place for cell growth and development that has been adjusted to the design of the target tissue to be reconstructed. This is a reference for research on tissue engineering in the material world. The material used in this study was alginate composite. Alginate is a natural copolymer that has high biocompatibility. In this study we will analyze the effect of adding Reduced Graphene Oxide (rGO) to the biocompatibility and hydrolytic degradation of injectable composite hydrogel alginate / PVA / rGO. The synthesis of the hydrogel alginate / PVA / rGO composite was started by the synthesis of rGO using Hummer's Method, then the synthesis of the hydrogel using CaSO₄ as a crosslinker. The rGO variable is 0; 0.4; 0.8; 1,2; and 1.6 of the composites total weight. SEM-EDX tests were carried out to analyze the structure and morphology, and for biocompatibility testing using MTT assay, and anti-bacterial testing. And the writer used weight loss testing to analyse hydrolytic degradation. From the above test, the

number of additional rGO affects the morphology of the hydrogel by forming a more dense structure, and also the addition of 0,4 % rGO from the total composite weight can increase the cell viability value, but cell viability value decreases with the addition of rGO weight. In the degradation testing, the addition of rGO shows the zone of inhibition around the composite. The hydrolytic degradation ratio has decreased after the addition of rGO. The alginate composite modification is expected to be able for supporting tissue engineering research, because alginate and PVA have good biocompatibility, as well as the addition of rGO can optimize the hydrolytic degradation of these hydrogel composites.

Keywords : Injectable, Hydrogel, Tissue Engineering, Alginate, PVA, rGO.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, karena dengan berkat rahmat dan karunia kemuliaan-Nya, pada akhirnya penulis dapat menyelesaikan amanah Tugas Akhir yang akan dituangkan pada laporan Tugas Akhir dengan judul **“Pengaruh Penambahan Komposisi rGO Terhadap Biokompatibilitas dan Degradasi Hidrolitik Material *Injectable* Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO untuk Aplikasi *Tissue Engineering*”**, sebagai pemenuh syarat kelulusan dalam jenjang perkuliahan Strata I Departemen Teknik Material, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Penyusunan skripsi ini bukannya berjalan tanpa hambatan dan halangan, namun karena banyaknya bantuan yang datang dari berbagai pihak, akhirnya penulis berhasil mengatasi hambatan dan halangan tersebut dan berhasil menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala hormat, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Allah SWT atas berkat bimbingan-Nya telah memberi penulis kemampuan untuk mengerjakan prosesi tugas akhir.
2. Dr. Agung Purniawan, S.T, M.Eng., selaku Ketua Departemen Teknik Material FTI-ITS
3. Sigit Tri Wicaksono, S.Si., M.Si., Ph. D. dan Amaliya Rasyida, S.T., M.Sc. selaku dosen pembimbing I dan II yang telah mendukung secara penuh setiap sisi dalam pengujian dan penulisan laporan.
4. Dr. Eng. Hosta Ardhyananta, S.T., M.Sc selaku Kepala Program Studi Sarjana Teknik Material FTI-ITS
5. Vania Mitha selaku dosen wali penulis yang telah membantu penulis untuk menjalani pendidikan di Jurusan Teknik Material FTI-ITS
6. Prof. Naoko Nakamura dan seluruh teman-teman Laboratorium Biomaterial *Shibaura Institute of Technology* yang telah memberikan *insight* terhadap dunia biomaterial dan dunia rekayasa biologis.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis sadar banyak kekurangan yang terdapat dan jauh dari kata sempurna, sehingga penulis membutuhkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak agar dapat memperbaiki laporan ini agar lebih baik dan berguna bagi sesama.

Surabaya, 1 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR.....	v
ABSTRAK	vii
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL	xix
GLOSSARIUM	xxi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Rekayasa Jaringan	5
2.2 Biokompatibilitas.....	6
2.3 <i>Injectable Hydrogel</i> untuk Rekonstruksi Jaringan	9
2.4 Alginat	11
2.5 Poli(vinil Alkohol).....	14
2.6 Reduced Graphene Oxide (rGO)	16
2.7 Penelitian Sebelumnya.....	18
BAB III METODE PENELITIAN	27
3.1 Diagram Alir.....	27
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	32
3.2.1 Bahan Penelitian	33
3.2.2 Alat Penelitian	35
3.3 Metode Penelitian	36
3.4 Pengujian	38
3.4.1 Pengujian Morfologi dan Sifat Fisik.....	38
3.5 Rancangan Penelitian.....	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1 Hasil Uji Komposisi Komposit Alginat/PVA/rGO dengan <i>Energy-dispersive X-ray Analyzer Spectroscopy</i> ..	43

4.2	Hasil Uji Morfologi Komposit Alginat/PVA/rGO dengan Menggunakan <i>Scanning Electron Microscope</i>	44
4.3	Hasil Uji <i>Cell Viability</i>	46
4.4	Hasil Uji Degradabilitas.....	48
4.4.1	Pengamatan Visual Uji Degradabilitas dan Hasil Uji Degradabilitas	49
4.4.2	Pengamatan Sampel Hasil Uji Degradabilitas dengan Menggunakan <i>Scanning Electron Microscope</i>	53
4.5	Hasil Uji Anti Bakteri	54
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		59
5.1	Kesimpulan	59
5.2	Saran	59
DAFTAR PUSTAKA		61
LAMPIRAN		67
UCAPAN TERIMAKASIH.....		79
BIODATA PENULIS.....		81

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Bentuk dan Aplikasi Biomaterial dalam Rekayasa Jaringan.....	6
Gambar 2.2	Langkah Bioglass dalam Menginisiasi Pembentukan Sel.....	7
Gambar 2.3	Proses Injeksi <i>Hydrogel</i> yang Telah Ditanamkan Sel.....	10
Gambar 2.4	Struktur Molekuler (a) Hidrogel dengan Ikatan <i>Crosslink</i> Secara Kimia, (b) Hidrogel dengan Ikatan <i>Crosslink</i> Secara Fisik.....	11
Gambar 2.5	(A) Alginat yang Merupakan Kopolimer dari <i>L-Guluronic Acid</i> (G-blok) dan Asam- β -Mannuronat (M-blok); (B) Ion Kalsium yang Membentuk Ikatan Kompleks pada Blok GGG.....	12
Gambar 2.6	Trend Publikasi Alginat dan Polisakarida Lainnya dalam Jurnal Biomaterial Sebagai Material Perancah dan Pengobatan Regeneratif Dalam Dua Dekade Terakhir	13
Gambar 2.7	Poli(vinil) Alkohol yang Telah Dihidrolisis Sempurna	14
Gambar 2.8	Skema Struktur (a) Graphene Single Layer; (b) Graphene Oxide	17
Gambar 2.9	(A) Grafik Pengaruh Penambahan CaSO_4 dan Na_2HPO_4 Terhadap Waktu Pembentukan Gel; (B) Grafik Pengaruh Penambahan CaSO_4 Terhadap Waktu Pembentukan Gel.....	19
Gambar 2.10	(A) Pengaruh Penambahan PVA pada Komposit Hidrogel Alginat Terhadap Waktu Pembentukan Gel; (B) Pengaruh Perbandingan Berat Alginat/PVA Terhadap Perubahan Berat Selama 7 Hari	20

Gambar 2.11	Grafik Pengaruh Perbandingan Massa Alginat/PVA Terhadap Pertumbuhan Sel.....	21
Gambar 2.12	Antibakterial Tes pada Komposit Alginat/nZnO	22
Gambar 2.13	Antibakterial Tes pada GO dan rGO. (A) Menggunakan Bakteri <i>E. coli</i> . (B) Menggunakan Bakteri <i>S. aerus</i>	23
Gambar 2.14	Aktivitas Antibakteri pada Lembaran rGO dan GO Selama 24 Jam Inkubasi pada Temperatur 37. Pengamatan Secara Makro Bakteri <i>E. coli</i> pada (a)rGO dan (b)GO	24
Gambar 2.15	Hasil SEM Bakteri <i>E. coli</i> yang Diinkubasi Selama 12 Jam Inkubasi pada Temperatur 37 (a) GO dan (b) rGO	25
Gambar 3.1	Diagram Alir Penelitian	28
Gambar 3.2	Sintesis Reduced Graphene Oxide.....	31
Gambar 3.3	Sintesis Injectable Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO	32
Gambar 4.1	Hasil Pengujian SEM. Sampel Komposit Alginat/PVA/rGO dan Alginat/PVA. Perbesaran 100X	44
Gambar 4.2	Hasil SEM Alginat/PVA/1.6%rGO Perbesaran 1000x	46
Gambar 4.3	Grafik Persentase <i>Cell Viability</i> pada Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO	47
Gambar 4.4	Hasil Pengujian Degradasi Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO Tampak Hasil Pengujian Minggu 1, 2, 3, dan 4	50
Gambar 4.5	Hasil Pengujian Degradasi Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO Tampak Sampel Pada Minggu 5	51
Gambar 4.6	Grafik Rasio Degradasi Berat Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO	52
Gambar 4.7	Hasil Pengujian SEM Sampel Komposit Alginat/PVA/rGO Sebelum (Notasi 1) dan	

	Setelah (Notasi 2) Mengalami Degradasi. Perbesaran 500X	54
Gambar 4.8	Pengujian Anti Bakteri Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO dengan <i>Diffusion Disk</i> <i>Method.</i> (A) Pengujian 1. (B) Pengujian 2. (C) Pengujian 3	56

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR TABEL

Tabel 2.4	<i>Crosslinker</i> untuk PVA.....	16
Tabel 3.1	Komposisi Sampel	41
Tabel 3.2	Rancangan Pengujian Sampel.....	41
Tabel 4.1	Nilai wt% Karbon pada Tiap-Tiap Sampel.....	43
Tabel 4.2	Nilai Persentase Tiap Sampel	47
Tabel 4.3	Jumlah Rata-Rata Rasio Tiap Sampel Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO	51

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

GLOSSARIUM

Absorbance - Kemampuan zat yang dapat menyerap atau menarik gas lembapan atau cairan ke dalam pori-porinya

Alga - Tberklorofil, berukuran dari beberapa mikron sampai bermeter-meter, hidupnya bergantung pada gerakan air di dalam air tawar atau air laut;

Alginase – Enzim untuk memecah senyawa alginat

Alginat - Alginat adalah polimer linier organik polisakarida yang terdiri dari monomer α -L asam guluronat dan β -D asam manuronat, atau dapat berupa kombinasi dari kedua monomer tersebut.

Autoclave - Alat yang digunakan untuk mensterilkan peralatan dan perlengkapan dengan menundukkan material untuk uap tekanan tinggi jenuh pada 121 ° C selama sekitar 15-20 menit, tergantung pada ukuran beban dan isi.

Bioglass – Material kaca yang tidak beraksi dengan sel-sel tubuh, atau menunjang reaksi sel-sel tubuh

Biokompatibilitas - Kemampuan suatu bahan untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan dimana bahan tersebut diletakkan atau ditanamkan, tidak membahayakan tubuh, dan non-toksik

Biokomposit – Material komposit yang yang tidak beraksi dengan sel-sel tubuh, atau menunjang reaksi sel-sel tubuh

Biomaterial - Material yang berinteraksi secara langsung dengan jaringan dan cairan biologis tubuh makhluk hidup untuk mengobati, memperbaiki, atau mengganti bagian anatomi tubuh makhluk hidup atau sering disebut sebagai implan

Buffer - Larutan yang dapat menjaga (mempertahankan) pH-nya dari penambahan asam, basa, maupun pengenceran oleh air . pH larutan buffer tidak berubah (konstan) setelah penambahan sejumlah asam, basa, maupun air.

Crosslink - Proses yang menghubungkan satu rantai polimer yang lain. *Crosslinker* merupakan senyawa-senyawa yang memiliki

berat molekul rendah dengan gugus hidroksil atau gugus amine lebih dari dua.

ECM – *Extracellular Matrix*, komponen terluar pada lapisan organ tubuh.

Proliferasi - fase sel saat mengalami pengulangan siklus sel tanpa hambatan

Reduced Oxygen Species - Spesi oksigen reaktif (bahasa Inggris: reactive oxygen species, ROS) adalah senyawa organik yang memiliki gugus fungsional dengan atom oksigen yang bermuatan elektron lebih.

Scaffold - Struktur sementara yang digunakan untuk menyangga jaringan manusia

Sel Kondrosit - Sel-sel tulang yang membentuk sel tulang rawan

Sitotoksitas - Tingkat merusaknya suatu zat pada sel

Stress Oksidatif - Keadaan di mana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya

Stem Cell - Atau disebut sel punca merupakan sel yang belum berdiferensiasi dan mempunyai potensi yang sangat tinggi untuk berkembang menjadi banyak jenis sel yang berbeda di dalam tubuh.

Wettability - Istilah untuk menjelaskan adesi relatif dua buah fluida terhadap sebuah permukaan benda padat.

Wound Healing – Proses penanganan luka

Zona Inhibisi - Luas daerah bening pada biakan medium bakteri setelah diinkubasi

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam dunia kedokteran, banyak penyakit yang mengharuskan penderitanya untuk melakukan transplantasi organ. Terapi ini harus ditempuh akibat banyaknya jaringan dalam organ tersebut yang telah mengalami kerusakan, meski masih ada sel dan jaringan sehat yang berada pada organ tersebut. Pada proses pelaksanaannya, banyak jaringan atau sel-sel organ lain yang rusak akibat proses pembedahan, dan tidak juga mengurangi kemungkinan adanya kegagalan organ pada penerima. Sehingga, transplantasi organ selalu menjadi opsi terakhir yang diambil tenaga medis dalam terapi penyembuhan penyakit-penyakit kronis.

Opsi lain dalam dunia kedokteran, adalah memberikan implant pada penderita, sebagai material pengganti organ yang rusak, dengan menggunakan biomaterial. Biomaterial adalah material yang dikhususkan untuk dapat berfungsi secara tepat di lingkungan biologis di mana mereka digunakan untuk membantu, menambah atau mengganti fungsi jaringan hidup tubuh manusia. Biomaterial dapat diambil dari alam, maupun diproduksi oleh manusia (buatan) (Reza Rezaie, Bakhtiari, & Öchsner, 2015). Biomaterial dibagi menjadi beberapa generasi berdasarkan reaksi material terhadap jaringan atau sel. Generasi pertama, dicetuskan pada tahun 1960, yang lebih menekankan pada tidak adanya respon jaringan pada biomaterial. Generasi kedua, dikembangkan menjadi bioaktif yang menghasilkan aksi dan reaksi yang terkendali dalam lingkungan fisiologis (jaringan, dan sel. Generasi ketiga, berupa rekayasa jaringan yang lebih memfokuskan interaksi antara material pada tingkat makromolekuler (Hench & Thompson, 2010).

Rekayasa jaringan dicetuskan pada tahun 1988, pada konferensi National Science Foundation, yang memiliki arti berupa penerapan prinsip atau metode untuk merekayasa, serta sains yang memberikan pemahaman mendasar tentang hubungan

fungsi-fungsi dalam jaringan mamalia serta patologi nya (O'Brien, 2011). Rekayasa jaringan dicetuskan untuk menjadi opsi pengobatan penyakit tanpa proses tranplantasi organ, dan mengurangi kerusakan jaringan asal saat proses penyembuhan (Hassanzadeh, Atyabi, & Dinarvand, 2018; O'Brien, 2011).

Alginat merupakan biopolimer berbahan dasar gula (senyawa polisakarida) yang dapat ditemukan pada dinding sel alga coklat. Alginat telah digunakan untuk biomaterial karena memiliki banyak sifat yang dibutuhkan termasuk biokompatibilitas yang tinggi, mudah dibentuk gel, toksisitas yang rendah, dan murah. Alginat juga merupakan ECM baik dari struktural maupun secara dinamis, karena itu alginat dapat dimanipulasi dan diubah agar sesuai dengan kebutuhan yang diinginkan sehingga mampu menyesuaikan jaringan asal. (Mina D. Fahmy, 2017). Sifat mudah diubah dari Alginat, memudahkan biomaterial ini untuk diaplikasikan sebagai material pengganti di seluruh tubuh manusia. Pada beberapa penelitian telah memodifikasi hidrogel alginat dengan menambahkan biomaterial lain. Dilaporkan pada penelitian Sang Ho Cho (2008) penambahan PVA berbanding lurus dengan jumlah sel kondrosit yang tumbuh setiap hari, sehingga PVA memiliki pengaruh pada peningkatan biokompatibilitas hidrogel alginat. Adapun Alginat termasuk biomaterial yang sulit disterilisasi, sehingga alginat lebih mudah dihindangi bakteri. Untuk meningkatkan sifat antibakteri pada alginat, pada banyak penelitian, alginat dikompositkan dengan material yang dapat memberikan respon anti bakteri yang lebih baik, dan *Reduced Graphene Oxide* (rGO) dilaporkan memiliki sifat anti bakteri (Akhavan & Ghaderi, 2010; Gurunathan, Han, Kim, & Kim, 2012; Hu dkk., 2010). Oleh karena itu, pada penelitian kali ini dilakukan sintesis dan karakterisasi terhadap biokomposit Alginat/PVA/rGO yang diharapkan dapat diaplikasikan pada rekayasa jaringan.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh penambahan *Reduced Graphene Oxide* (rGO) terhadap morfologi *Injectable* komposit hidrogel alginat/PVA/rGO?
2. Bagaimana pengaruh penambahan *Reduced Graphene Oxide* (rGO) pada biokompatibilitas *Injectable* komposit hidrogel alginat/PVA/rGO?
3. Bagaimana pengaruh penambahan *Reduced Graphene Oxide* (rGO) pada degradasi hidrolitik *Injectable* komposit hidrogel alginat/PVA/rGO?

1.3 Batasan Masalah

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

1. Pengaruh pengotor pada Alginat, PVA, dan rGO diabaikan.
2. Ukuran serbuk grafit dianggap sama.
3. Temperatur dan udara sekitar dianggap konstan.
4. pH aquades dianggap netral.
5. Temperatur dalam *Ice Bath* dianggap konstan pada temperatur 5°C.
6. Tekanan *Autoclave* dianggap sama.
7. Fluktuasi temperatur pada furnace diabaikan
8. Pengaruh jumlah blok G dan M pada Alginat diabaikan
9. Kecepatan putar *hot plate magnetic stirrer* dianggap konstan.

1.4 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah:

1. Menganalisis pengaruh uji degradasi pada morfologi permukaan material *Injectable* komposit hidrogel alginat/PVA/rGO.

-
2. Menganalisis pengaruh penambahan rGO pada biokompatibilitas material *Injectable* komposit hidrogel alginat/PVA/rGO.
 3. Menganalisis pengaruh penambahan rGO pada degradasi hidrolitik material *Injectable* komposit hidrogel alginat/PVA/rGO.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki manfaat untuk memberikan referensi mengenai proses sintesis dan karakterisasi *Injectable* komposit hidrogel alginat/PVA/rGO sebagai sebagai kandidat material perancah yang mempunyai sifat biokompatibilitas dan kemampuan degradasi yang baik. Selain itu, penelitian ini juga berguna untuk mengembangkan *Injectable Method* sebagai salah satu opsi material untuk aplikasi *Tissue Engineering* kedepannya.

BAB II

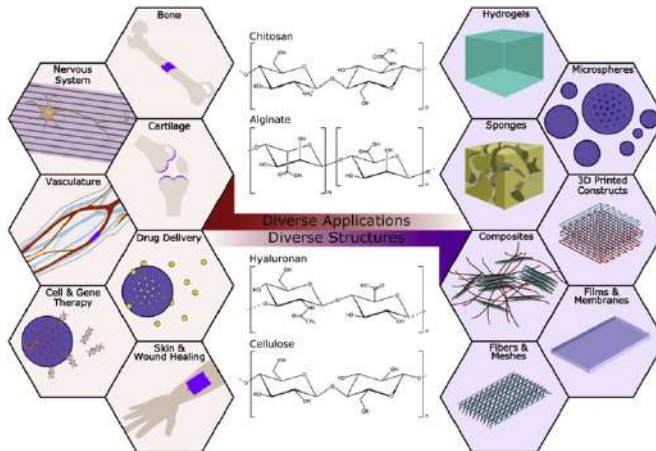
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rekayasa Jaringan

Rekayasa jaringan merupakan cabang keilmuan medis yang bertujuan untuk merekonstruksi fungsi dari jaringan yang rusak atau hilang oleh karena kondisi fisiologis, patologis dan mekanis maupun trauma dengan menggunakan bahan atau alat sebagai substitut biologis. Rekayasa jaringan sendiri telah berkembang selama empat dekade terakhir (Herda & Puspitasari, 2016). Dengan berkembangnya keilmuan rekayasa jaringan dan upaya untuk menghasilkan pengganti yang cocok serta sesuai dengan fungsi biologis jaringan dan organ yang rusak, maka rekayasa jaringan bergerak menjadi bidang penelitian multidisiplin, baik dari cabang keilmuan kedokteran hingga keilmuan material telah mengambil bagian dalam penelitian ini. Meskipun desain dan material perancah untuk jaringan ini sedang dirancang dan diterapkan pada berbagai jenis jaringan, akan tetapi menentukan material dan manufaktur yang sesuai untuk bagian tubuh yang ingin direkonstruksi masih memiliki batasan yang signifikan. Perancah harus memberikan petunjuk mekanis dan kimiawi yang memadai untuk mengarahkan perilaku sel yang tepat untuk mencapai regenerasi dan penggantian fungsi biologis yang diperlukan dengan mempertimbangkan material serta desain dan struktur seperti yang terdapat pada Gambar 2.1 (Tchobanian, Oosterwyck, & Fardim, 2019).

Keberhasilan dalam rekayasa jaringan dipengaruhi oleh 3 faktor yang telah. Ketiga faktor tersebut adalah perancah atau *scaffold*, sel (dalam hal ini *stem cell* sering digunakan), dan *signal cell*. Material yang digunakan untuk perancah adalah biomaterial. Biomaterial sendiri berperan sebagai tempat tumbuh kembang sel yang sudah disesuaikan desainnya dengan target jaringan yang akan direkonstruksi. Oleh karena itu porositas, profil dan lamanya degradasi material sangat berpengaruh pada adanya memberikan molekul signal untuk dimanfaatkan oleh sel yang terdapat dalam perancah maupun sel disekitarnya. Adapun sel yang digunakan,

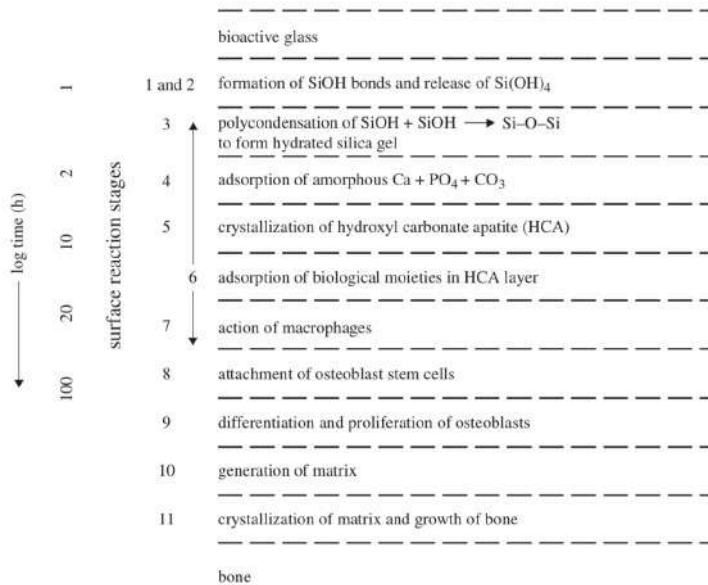
dapat berupa sel dari luar atau sel dari jaringan yang akan direkonstruksi, tetapi dalam aplikasinya sel yang biasa digunakan adalah sel punca. Hal ini disebabkan sel punca merupakan sel yang masih asli dan belum terdiferensiasi menjadi fungsi sel yang lain. Sel punca dapat didiferensiasikan menjadi sel lain sesuai dengan jaringan yang akan direkonstruksi (Mahanani, 2013).



Gambar 2.1 Bentuk dan Aplikasi Biomaterial dalam Rekayasa Jaringan (Tchobanian dkk., 2019)

2.2 Biokompatibilitas

Biokompatibilitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu material untuk diterima dan menetap dalam tubuh makhluk hidup. Biokompatibilitas secara tradisional merupakan berkaitan dengan perangkat yang dapat ditanam sebagai pengganti bagian tubuh manusia, pengertian berlangsung pada awal-awal penemuan metode implant hingga tahun 1980. Pada tahun 1940 dan 1980, perangkat implant dapat disebut kompatibel apabila terbuat dari bahan yang paling sedikit interaksinya dengan sel-sel dan jaringan tubuh. Material yang digunakan pada saat itu disebut generasi pertama biomaterial (Reza Rezaie dkk., 2015).



Gambar 2.2 Langkah Bioglass dalam Menginisiasi Pembentukan Sel (Hench & Thompson, 2010)

Pada 1984, bidang biomaterial mengalami perubahan. Jika pada biomaterial generasi pertama lebih menekankan pada tidak adanya respon jaringan pada biomaterial atau *bioinert*, pada biomaterial generasi kedua telah dikembangkan menjadi bioaktif. Material bioaktif menghasilkan aksi dan reaksi yang terkendali dalam lingkungan fisiologis (jaringan, dan sel). Material-material, yang berada pada generasi ini berupa keramik, dan *glass*. Adapun mekanisme ikatan *bioglass* ditemukan pada tahun 1971, yang terdiri dari 11 langkah reaksi (Gambar 2.2). Lima langkah pertama terjadi dipermukaan, yang terdiri dari reaksi pertukaran cepat ion, kemudian diikuti dengan langkah reaksi seluler. Mekanisme seluler berupa kolonisasi oleh sel induk osteoblast,

poliferasi, serta diferensiasi sel. Dari 11 langkah tersebut, mendorong sel untuk membentuk jaringan baru yang memiliki ikatan kuat secara mekanis dengan permukaan implan. Beberapa tahun setelahnya, diperkenalkan biomaterial baru berupa hidroksi apatit, yang digunakan pada dunia ortopedik dan digunakan secara luas pada untuk *dental application* (Hench & Thompson, 2010).

Biomaterial generasi ketiga dirancang untuk merangsang respons seluler spesifik pada tingkat biologi molekuler. Selama satu decade pertama pada abad kedua puluh satu, bahan-bahan biokatif dimodifikasi agar dapat diserap oleh tubuh pasien. Biopolimer dimodifikasi sehingga memiliki interaksi spesifik dengan sel, dan dengan demikian sel dapat berpoliferasi, berdiferensiasi, serta memproduksi *Extracellular Matrix*. Biomaterial dirancang untuk mengaktifkan gen yang merangsang regenerasi jaringan hidup. Terdapat dua metode alternatif pada generasi ketiga ini, yaitu:

a. *Tissue Engineering*

Progenitor cells ditanam pada material perancah diluar tempat sel tumbuh, dan sel akan terdiferensiasi dan meniru jaringan secara alami mengikuti bentuk material perancah. Material perancah ini kemudian diimplankan ke pasien untuk menggantikan jaringan yang sakit atau rusak. Seiring berjalannya waktu, material perancah akan diserap oleh jaringan, dan akan digantikan oleh jaringan baru.

b. *In Situ Tissue Regeneration*

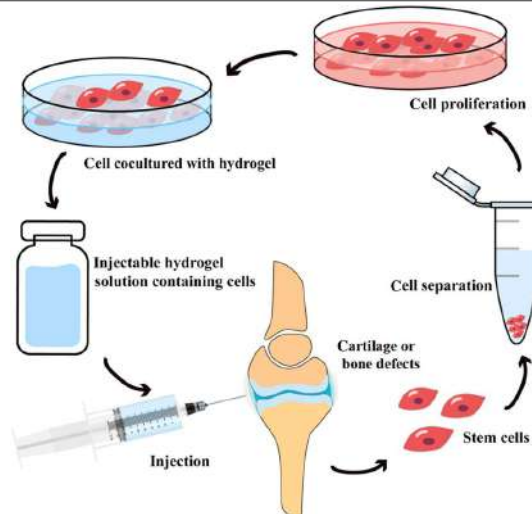
Pendekatan ini melibatkan penggunaan biomaterial dalam bentuk serbuk, larutan atau mikro atau nanopartikel yang didoping untuk merangsang perbaikan jaringan lokal. Selama satu dekade terakhir diketahui bahwa formulasi tertentu dari bahan bioaktif melepaskan bahan kimia dalam bentuk produk disolusi ionik, atau faktor pertumbuhan makromolekul, terkontrol yang mengaktifkan sel secara terkontrol dan memiliki respon sel yang baik. Sel-sel menghasilkan faktor-faktor pertumbuhan tambahan, yang

pada gilirannya menstimulasi beberapa generasi sel-sel yang tumbuh untuk merakit diri ke dalam jaringan yang diperlukan di situ, sepanjang gradien biokimia dan biomekanik yang ada (Hench & Thompson, 2010).

2.3 *Injectable Hydrogel* untuk Rekonstruksi Jaringan

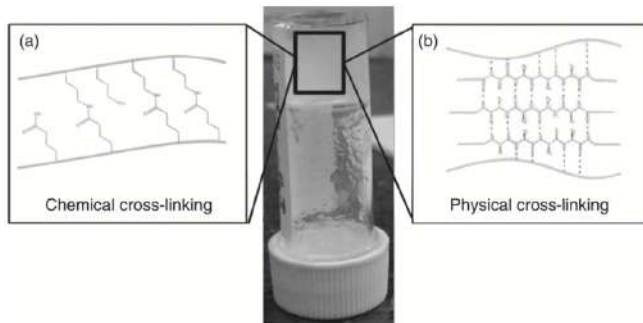
Dalam prespektif klinis, kenyamanan merupakan pelayanan utama yang berusaha diberikan oleh para tenaga medis. Dalam terapi penyembuhan, adanya pengurangan rasa sakit, tidak adanya infeksi setelah terapi, tidak menimbulkan bekas luka, hingga biaya perawatan yang murah, merupakan hal yang diutamakan. Penggunaan *Injectable Material* dalam terapi penyembuhan masih menjadi topik riset yang menarik, karena pengobatan dengan metode injeksi meminimalisasi ketidaknyamanan pasien dan resiko infeksi. Di samping itu, biaya perawatan lebih murah, serta tidak meninggalkan bekas luka pada pasien penderita (Hou, Bank, Shakesheff, Bank, & Shakesheff, 2004).

Injectable hydrogel memiliki potensi yang tinggi untuk digunakan sebagai material perancah. Hal ini disebabkan, hidrogel memiliki kadar air yang tinggi, yang menyerupai *extracellular matrix*, memiliki molekul bioaktif, serta memiliki porositas yang cukup tinggi, dimana memudahkan pertumbuhan sel pada hidrogel (Liu dkk., 2017). *Injectable hydrogel* juga memungkinkan untuk dilakukan injeksi bersamaan dengan sel (Gambar 2.3). Penginjeksian secara bersamaan memudahkan sel untuk menempel, berkembang biak, dan berdiferensiasi, sehingga mempercepat pembentukan jaringan baru. Oleh karena itu, *injectable hydrogel* yang digunakan sebagai material perancah merupakan terapi yang menjanjikan untuk regenerasi jaringan, khususnya untuk rekayasa tulang dan jaringan lunak. Selain berfungsi material ini memiliki molekul bioaktif dan dapat bertindak sebagai saluran untuk mempermudah regenerasi jaringan, penyembuhan dan dapat disuntikkan untuk pengiriman obat (Hou dkk., 2004).



Gambar 2.3 Proses Injeksi *Hydrogel* yang Telah Ditanamkan Sel (Liu dkk., 2017)

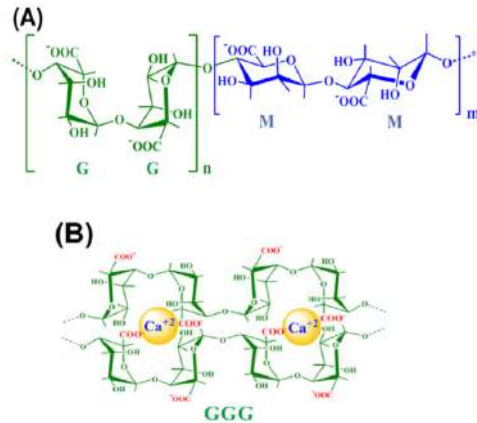
Hydrogel untuk memperbaiki jaringan dengan metode haruslah mampu disuntikkan, oleh karena itu baik gel itu sendiri harus mampu disuntikkan dengan metode gelasi apa pun, dan proses gelasi harus terjadi *in situ* atau setelah proses injeksi berlangsung. Biasanya, metode yang dapat menyebabkan gelasi meliputi: polimerisasi redoks, polimerisasi termal atau fotokimia, gelasi termal, ikatan silang ionik, pengendapan *in situ*, reaksi penambahan tipe Michael dan mekanisme *self-assembly* (Campbell, 2013). Adapun proses gelasi pada hydrogel terjadi setelah adanya proses *crosslinking* antar rantai polimer. *Crosslink* sendiri terbagi menjadi dua jenis yaitu; *crosslink* secara kimia dan *crosslink* secara fisik. *Crosslink* secara kimia terjadi saat terbentuknya ikatan kovalen antar rantai (Gambar 2.4 a), dan *crosslink* secara fisik (Gambar 2.4 b) terbentuk oleh ikatan ionik, proses kritisasi, pembentukan struktur stereocomplex, pembentukan hidrofobik polisakarida, serta interaksi protein dan ikatan hydrogen (Maitra & Shukla, 2014).



Gambar 2.4 Struktur Molekuler (a) Hidrogel dengan Ikatan *Crosslink* Secara Kimia, (b) Hidrogel dengan Ikatan *Crosslink* Secara Fisik (Campbell, 2013)

2.4 Alginat

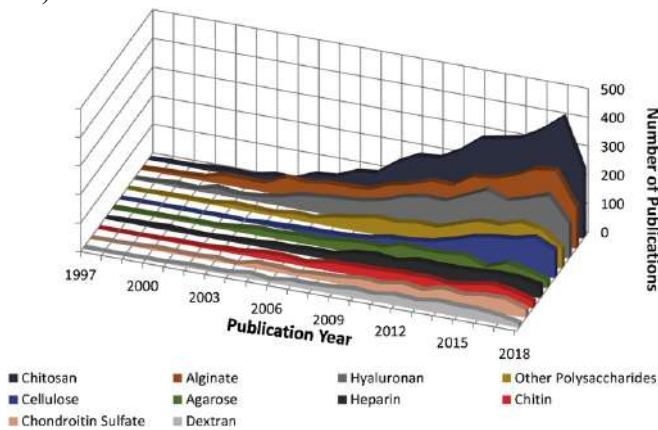
Alginat adalah polisakarida yang terbentuk secara alami, dan dapat ditemukan di alga coklat. Material ini merupakan biomaterial yang berguna untuk perpindahan sel tanpa menimbulkan bahaya. Alginate merupakan bio-kopolimer dari *L-guluronic acid* (G-blok) serta asam manuronat (M-blok) (Growney Kalaf dkk. 2017). Dua blok ini disusun dalam proporsi dan urutan yang berbeda dalam makromolekul karbohidrat, susunan bergantung pada jenis sumber (alga) dan tingkat pematangan tanaman. Dapat ditemukan daerah atau blok yang homopolimer, MMM atau GGG, dan rangkaian bergantian GMGMGM tidak diharuskan. Kehadiran blok homopolimer membuat alginate menjadi unik di antara biopolimer yang lainnya. Poin penting adalah bahwa mereka berbeda dalam formasi. Residu-M dalam blok MMM secara kovalen terhubung bersama melalui ikatan berbentuk diequatorial, sementara residu-G dalam blok GGG melalui bentuk yang diaksial (Gambar 2.5 A). Perbedaan formasi ini berpengaruh dalam kemampuan menahan beban. Urutan GGG lebih kaku daripada MMM dan ikatan GMGM. Kekakuan yang meningkat juga membuat G-blok lebih panjang. (Zia dkk.2017).



Gambar 2.5 (A) Alginat yang Merupakan Kopolimer dari *L-Guluronic Acid* (G-blok) dan Asam- β -Mannuronat (M-blok); (B) Ion Kalsium yang Membentuk Ikatan Kompleks pada Blok GGG (Zia dkk. 2017)

Alginat secara simultan akan membentuk gel apabila direaksikan dengan ion divalent dengan model *egg-box* nya (Gambar 2.5 B). Hal ini disebabkan adanya interaksi antara blok G dengan kation divalent yang mendorong terbentuknya ikatan antar blok G dengan kation, selain itu blok G juga memiliki pengaruh terhadap terbentuknya gel, meski ikatannya tidak begitu kuat. Oleh karena itu semakin banyak jumlah blok G dalam alginat, menghasilkan gel dengan sifat mekanik yang lebih kuat juga (Pawar dan Edgar 2012). Cara lain untuk membentuk gel alginat adalah menurunkan nilai pH dibawah pKa dari alginat dengan mengontrol jumlah lactone, contoh dengan menggunakan penambahan *d-glucono--lactone* (GDL). GDL akan mengeluarkan proton saat proses hidrolisis lambat. Namun menurunkan pH larutan alginat secara cepat dengan menambahkan asam secara langsung menghasilkan pembentukan presipitat daripada gel (Zhao dkk. 2016).

Alginate hidrogel berperan luas dalam dunia medis, dan publikasi material perancah dengan menggunakan alginate juga banyak ditemukan, hal ini dapat dilihat dari tren publikasi pada gambar 2.6. Dalam beberapa riset, alginate dapat digunakan untuk material pengganti IVD (*Intervertebral Disc*) khususnya pada bagian NP (*Nucleus Pulposus*) (Growney Kalaf dkk. 2017; Chou, Akintoye, dan Nicoll 2009), pengganti jaringan lunak manusia (Serrano-Aroca, Iskandar, dan Deb 2018), *self healing material* (Golafshan dkk. 2017), serta *Cell Carrier* (Cho, Lim, dan Han 2012).



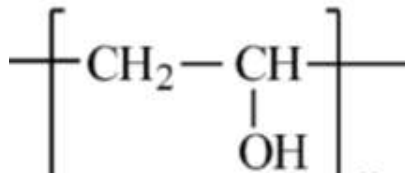
Gambar 2.6 Trend Publikasi Alginat dan Polisakarida Lainnya dalam Jurnal Biomaterial Sebagai Material Perancah dan Pengobatan Regeneratif Dalam Dua Dekade Terakhir (Tchobanian dkk., 2019)

Mudahnya alginate untuk digunakan dalam dunia medis, tidak terlepas dari sifat yang dimiliki alginate. Alginate memiliki sifat biokompatibilitas, toksisitas rendah, memiliki harga yang murah, dan dapat dibentuk gel yang lembut dengan menambahkan kation seperti Ca^{2+} (Lee & Mooney, 2013). Selain itu, hidrogel alginate memiliki porositas dengan ukuran yang memadai sebagai tempat tumbuh sel (Khalil, 2009). Faktor

penting lain, gugus karboksil dan karbonil yang dimiliki alginat dapat meniru bagian dari kelompok protein manusia (Thoden, Timson, Reece, & Holden, 2005).

2.5 Poli(vinil Alkohol)

Poli(vinil alkohol) atau biasa disebut PVA merupakan polimer sintetik yang biokompatibel dan dapat dilarutkan dalam air. PVA disintesis dari alkoholis (hidrolisis) Poli(vinil asetat), yang memiliki sifat fisik yang sangat berbeda. (C. S. Figueiredo, L. M. Alvers, dan P. Borges. 2008). Monomer PVA dengan hidrolisis sempurna memiliki satu rantai cabang hidroksi seperti yang digambarkan pada Gambar 2.7 (DeMerlis dan Schoneker 2003). PVA memiliki sifat mudah larut dalam air, kestabilan mekanik dan fleksibel, mudah dibentuk menjadi film dan tidak beracun. Sifat-sifat tersebut menjadi dasar pemilihan penggunaan PVA untuk aplikasi di dunia medis, kosmetik dan pertanian (Piluharto dkk. 2017).



Gambar 2.7 Poli(vinil) Alkohol yang Telah Dihidrolisis Sempurna (DeMerlis dan Schoneker 2003)

Larutan poli(vinil alkohol) (PVA) secara bertahap akan menjadi gel dan mengalami sedikit peningkatan elastisitas saat berada pada temperatur kamar. Meskipun ini bukan fenomena baru, penelitian terbaru menunjukkan bahwa PVA yang dipanaskan pertama kali untuk proses pelarutan, kemudian membeku dan dicairkan secara berulang kali (*freeze-thaw method*), dapat membentuk gel yang sangat elastis. Transisi sol-gel ini menghasilkan gel termoreversibel. PVA memiliki

karakteristik yang unik, dimana gel yang terbentuk stabil dalam temperatur ruangan dan akan mempertahankan bentuk awalnya, tetapi dapat mengembang hingga 5-6 kali dari ukuran aslinya. Keadaan ini mengindikasikan, tingginya elastisitas dan sifat mekanik PVA. Meski sifat tersebut bergantung pada konsentrasi PVA dalam larutan, temperatur PVA, dan waktu pendinginan. PVA dalam bentuk gel tidak larut dalam air, dan dapat mengembang dengan signifikan (Stauffer & Peppast, 1992).

Selain dengan metode *freeze-thaw*, PVA dapat dibentuk menjadi hidrogel dengan membentuk *crosslink* secara kimia (membentuk ikatan kovalen antar PVA). PVA yang ter-*crosslink* secara kimia didasarkan pada reaksi antara *crosslinker* dan tingginya jumlah gugus hidroksil pada PVA. Ada berbagai macam *Crosslinker Agent* untuk PVA, seperti asam maleat, formaldehida, dan glutaraldehid (GA). Mode reaksi intramolekul atau intermolekul dapat disesuaikan dengan agen *crosslinker* spesifik dan/atau kondisi operasional.

Dalam penelitian Sonker (2017) yang tertear pada Tabel 2.4 menjelaskan GA menjadi kandidat *crosslinker* PVA yang sangat baik, karena tidak adanya perawatan termal yang diperlukan untuk mendorong reaksi. Selain itu, juga diketahui bahwa GA dapat mengikat secara tidak spesifik pada biomolekul, seperti protein. Polimerisasi hemoglobin untuk produksi darah buatan adalah contoh kemampuan GA untuk bergabung dengan bagian dari protein polipeptida. Karena *crosslinker agent* memiliki dua sisi aktif, maka GA dapat berhasil digunakan untuk mengikat protein dan PVA bersama.

Pada awal tahun 1930, PVA telah digunakan secara luas untuk kebutuhan industri, obat-obatan, dan pembungkus makanan (DeMerlis dan Schoneker, 2003). Dewasa ini, PVA telah dimodifikasi dengan membentuk ikatan *crosslinking* untuk meningkatkan sifat termal dan mekanisnya sehingga cocok untuk digunakan dalam sistem peraporasi, aplikasi biomedis, pengiriman obat dan fotoresis larut air. (Sonker dkk. 2016). Dalam penelitian dunia medis terbaru, PVA digunakan untuk

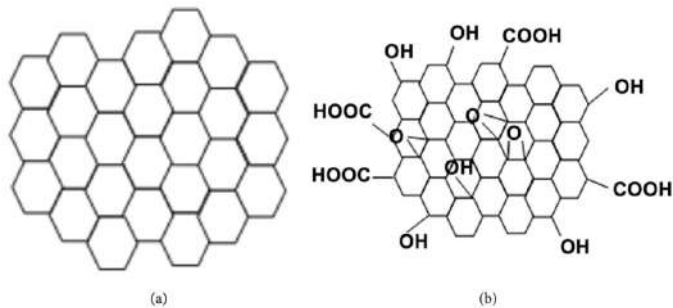
pengganti IVD dengan dikompositkan dengan PVP (Joshi dkk. 2006), maupun digunakan untuk tempat tumbuh jaringan dengan mensintesis komposit hidrogel PVA dengan Graphene Oxide (Zhang dkk. 2011).

Tabel 2.4 *Crosslinker* untuk PVA (Sonker dkk. 2017)

<i>Crosslinker</i>	Struktur	Jumlah Ikatan	Aplikasi
Glutaraldehyde	Alifatik dialdehid	2 -CHO	<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Coating</i> ● <i>Drug Delivery</i>
Maleic Acid	Asam alifatik dikarbolic	2 -COOH	Proses pemisahan
Citric Acid	-	-	Membran pembantu untuk polisulfon
Phtalic Acid	Asam aromatik dikarbolic	-	Pengembangan membrane polisulfon

2.6 Reduced Graphene Oxide (rGO)

Graphene, lapisan tunggal karbon (Gambar 2.8), pertama kali dilaporkan pada tahun 2004 dan telah banyak diteliti oleh para peneliti dalam kimia fisik, ilmu material dan bidang lain karena sifat mekanis, kuantum dan listriknya yang unik. Graphene merupakan unit dasar dari grafit dan karbon nanotube (CNT) dan memiliki modulus tarik yang sama (1,01 TPa) dan UTS (*Ultimate Tensile Strength*) yang sama (116 GPa). Graphene juga dilaporkan memiliki termal konduktivitas yang lebih baik dari CNT. Graphene sangat ringan, an tetapi memiliki nilai kekuatan yang tinggi, sehingga graphene biasa dijadikan bahan penguat untuk polimer (Zhang dkk. 2011).



Gambar 2.8 Skema Struktur (a) Graphene Single Layer; (b) Graphene Oxide (Alam, Sharma, dan Kumar 2017)

Graphene Oxide (GO) merupakan material modifikasi dari Graphene yang lebih murah, dan Reduced Graphene Oxide (rGO) merupakan GO yang direduksi oksigennya, sehingga jumlahnya berkurang. Pengurangan jumlah oksigen pada GO, mengakibatkan rGO memiliki sifat hidrofobik dan mampu mengikat material material hidrofobik lainnya. Material yang memiliki afinitas yang kuat terhadap senyawa aromatik hidrofobik biasanya diinginkan untuk berbagai aplikasi, termasuk penghilangan senyawa organik berbahaya dan pengiriman obat hidrofobik (Kim dkk. 2015). GO dapat disintesis dari grafit dengan metode Hummer, dan untuk mereduksinya bisa dengan beberapa rute, seperti mereaksikan dengan reduktor Zn atau dengan *thermal reduction* (Alam dkk., 2017).

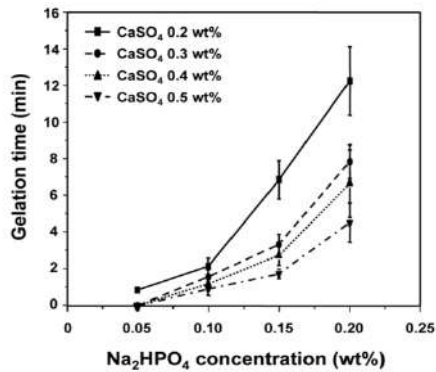
Graphene memiliki elastisitas yang baik, biokompatibilitas, dan morfologi yang baik. Graphene dilaporkan cocok menjadi material *scaffold* dan memiliki dampak baik untuk regenerasi saraf (Reddy dkk. 2018). Dalam penelitian lain, tercatat bahwa graphene oxide menghasilkan racun dalam jumlah sedikit pada paru-paru tikus (Ou dkk. 2016). Akan tetapi penggabungan GO maupun rGO dalam jumlah tertentu ke dalam komposit hidrogel

dilaporkan tidak mempengaruhi toksisitas (Zhang dkk. 2011; Zia dkk. 2017).

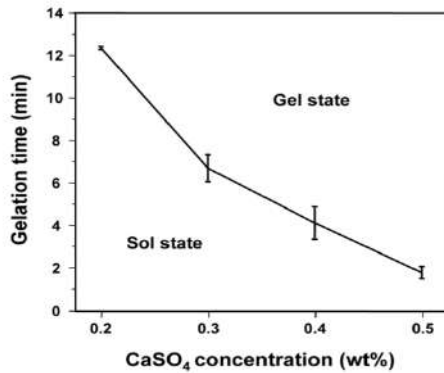
Dalam dunia medis, GO dan rGO cenderung dibuat komposit dengan biomaterial lain yang memiliki toksisitas yang lebih rendah. Hal ini dilakukan guna mengurangi pengaruh toksisitas dari penambahan GO dan rGO. Aplikasi GO dalam dunia medis antara lain untuk *drug delivery*, pada penerapannya Alginat dikompositkan dengan GO, lalu direduksi untuk meningkatkan kemampuan adsorpsi material hidrofobik (Kim dkk. 2015), maupun sebagai pengganti jaringan lunak manusia dengan dikompositkan dengan alginat (Serrano-Aroca dkk., 2018). *Reduced Graphene Oxide* (rGO) memiliki sifat anti bakteri dengan mekanisme stress oksidatif terhadap sel. Dimana rGO mengkatalis pembentukan ROS (*Reduced Oxygen Species*) pada sel. ROS terbentuk sebagai respon terhadap masuknya rGO ke dalam sel melalui membran, akan tetapi sel juga membentuk antioksidan sebagai penstabil jumlah ROS yang terbentuk. Jika jumlah rGO terlalu banyak maka jumlah antioksidan yang terbentuk tidak sebanding dengan jumlah ROS yang ada, sehingga sel mengalami stress oksidatif. Stress oksidatif sendiri menyebabkan rusaknya membrane sel, hingga rusaknya DNA sel (Chen, Qin, & Zeng, 2017; Gurunathan dkk., 2012; Tabish dkk., 2018).

2.7 Penelitian Sebelumnya

Sang Ho Cho (2008) menjelaskan akan pengaruh jumlah komposisi *crosslink* agent dan *crosslink* retardation agent pada komposit hidrogel Alginat/PVA, sebagai *Injectable Biomaterial Cell Carriers*. *Crosslink* agent dan *crosslink* serta *retardation agent* yang digunakan adalah CaSO_4 dan Na_2HPO_4 . Penggunaan material CaSO_4 berfungsi untuk mencegah gelation time yang begitu cepat, yang biasa terjadi pada CaCl_2 . Penambahan Na_2HPO_4 berfungsi untuk mengontrol laju pembentukan gel pada komposit. Hasil menunjukkan bahwa penambahan CaSO_4 dan Na_2HPO_4 sebagai yang ditampilkan pada Gambar 2.9 A.

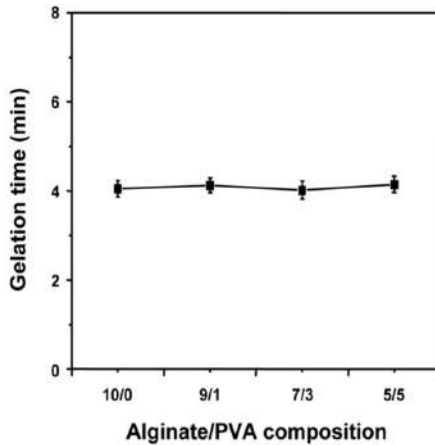


(A)

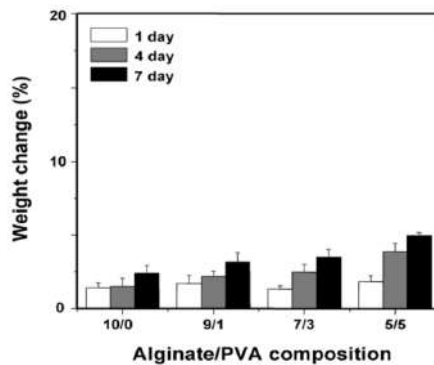


(B)

Gambar 2.9 (A) Grafik Pengaruh Penambahan CaSO_4 dan Na_2HPO_4 Terhadap Waktu Pembentukan Gel; (B) Grafik Pengaruh Penambahan CaSO_4 Terhadap Waktu Pembentukan Gel (Cho, Lim, dan Han 2012)



(A)

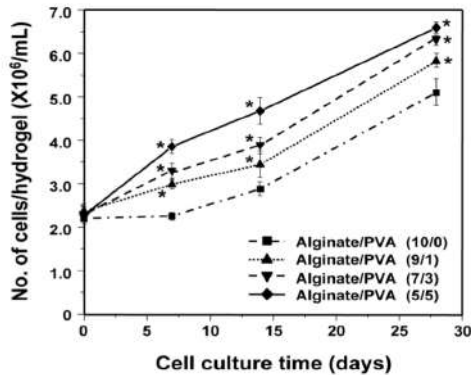


(B)

Gambar 2.10 (A) Pengaruh Penambahan PVA pada Komposit Hidrogel Alginat Terhadap Waktu Pembentukan Gel; (B) Pengaruh Perbandingan Berat Alginat/PVA Terhadap Perubahan Berat Selama 7 Hari (Cho dkk., 2012)

Penambahan CaSO_4 sebagai *crosslinker* akan mempercepat waktu gelasi (Gambar 2.9 A) dan Na_2HPO_4 sebagai *retardation agent* membantu dalam mengatur waktu pembentukan gel,

sehingga material dapat digunakan sebagai material injectable. Pada Gambar 2.9 (A dan B), kita dapat menyimpulkan bahwa 0,4% CaSO_4 dan 0.15% Na_2HPO_4 merupakan komposisi yang tepat, karena memiliki waktu pembentukan gel yang tidak terlalu lama. Penelitian juga menjelaskan, bahwa penambahan material PVA pada komposit tidak berpengaruh besar pada *gelation time* (Gambar 2.10 A). Akan tetapi berpengaruh pada perubahan berat setelah direndam dalam air selama 7 hari (Gambar 2.10 B). Sehingga PVA bisa dianggap bukan sebagai variabel utama pengubah waktu pembentukan gel pada hidrogel alginat, dan waktu gelasi pada alginat hanya dipengaruhi oleh komposisi *crosslinker*.

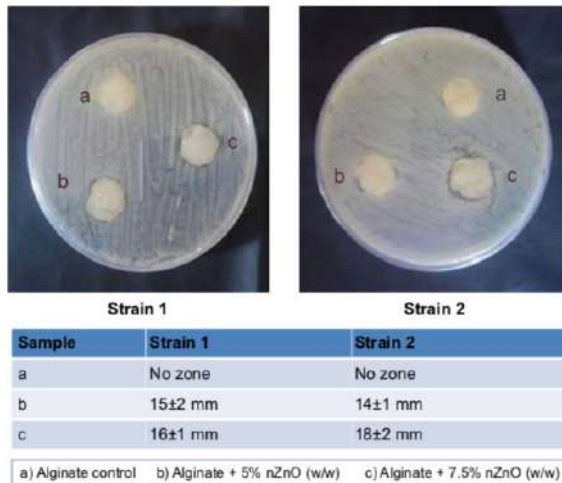


Gambar 2.11 Grafik Pengaruh Perbandingan Massa Alginat/PVA Terhadap Pertumbuhan Sel (Cho dkk., 2012)

PVA yang dicampur dalam hidrogel alginat memainkan peran positif untuk pertumbuhan dan aktivitas sel kondrosit, mungkin karena interaksi spesifik dari kelompok hidroksil PVA dengan sel (Gambar 2.11). Penambahan PVA berbanding lurus dengan jumlah sel kondrosit yang tumbuh setiap hari. Kesimpulan dari penelitian ini adalah, hidrogel alginat/PVA dengan tingkat gelasi yang dapat dikendalikan dapat diaplikasikan sebagai

pembawa sel yang *injectable*, serta PVA meningkatkan biokompatibilitas dari alginat.

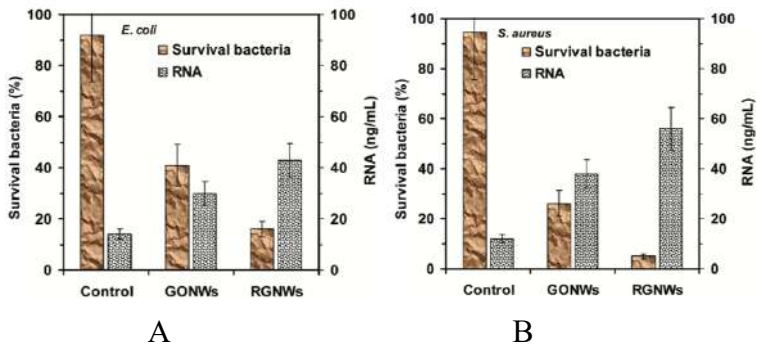
Pada penelitian yang dilakukan oleh Annapoorna (2015), menjelaskan respon Alginat dalam bentuk hidrogel terhadap bakteri. Pengujian antibakterial dilakukan dengan menggunakan metode *Kirby-Bauer Test* atau biasa disebut *Diffusion Test*.



Gambar 2.12 Antibakterial Tes pada Komposit Alginat/nZnO (Mohandas, PT, Raja, Lakshmanan, & Jayakumar, 2015)

Berdasarkan hasil tes, dapat ditemukan bahwa Alginat sendiri tidak memiliki sifat antibakteri, sehingga untuk meningkatkan sifat anti bakteri nya harus dikompositkan dengan material lain yang memiliki ketahanan bakteri yang lebih baik, pada penelitian ini peneliti menggunakan ZnO. Hal ini dapat disimpulkan berdasarkan pengamatan yang tertera pada Gambar 2.12, yang menunjukkan bahwa hidrogel alginat tidak memiliki daerah inhibisi terhadap bakteri yang ditanam dalam agar disekitar material nya, dan daerah inhibisi ada saat material alginat sudah dikompositkan dengan ZnO.

Akhavan (2010) melaporkan bahwa *Graphene Oxide* (GO) dan *Reduced Graphene Oxide* (rGO) memiliki ketahanan bakteri yang baik, dan diaplikasikan untuk *wound healing* kedepannya. Pada penelitian tersebut, GO dan rGO ditinjau sifat antibakterinya dengan sitotoksisitas tes. Peneliti menggunakan dua jenis bakteri, berupa bakteri *E. coli* sebagai representatif bakteri gram negatif, serta *S. aerus* sebagai representatif dari bakteri gram positif.

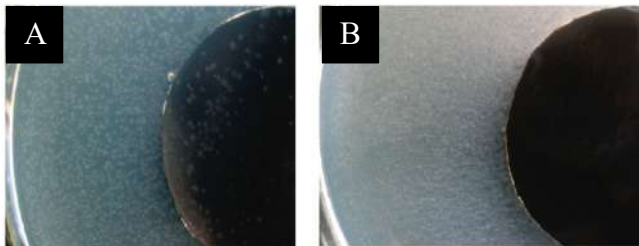


Gambar 2.13 Antibakterial Tes pada GO dan rGO. (A) Menggunakan Bakteri *E. coli*. (B) Menggunakan Bakteri *S. aerus* (Akhavan & Ghaderi, 2010)

Pada Gambar 2.13, dapat disimpulkan bahwa rGO memiliki ketahanan bakteri yang lebih baik ketimbang GO. Pada grafik A, ditemukan bahwa jumlah bakteri yang dapat hidup setelah medium ditambahkan lembaran GO dan rGO berkurang, baik untuk bakteri *E. coli* maupun bakteri *S. aerus*, dan pengurangan sangat signifikan pada penambahan lembaran rGO, tes ini berlangsung selama 1 jam. GO dan rGO menyebabkan kerusakan membran sel bakteri, hal ini dapat diselidiki dengan cara mengukur *intracellular material* dalam larutan buffer fosfat (PBS). Pada penelitian ini, ditemukan bahwa baik GO dan rGO menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi berdasarkan hasil yang tertera tetap terdapat sejumlah RNA yang berada pada sampel, hal ini dapat disimpulkan bahwa produk turunan graphene merusak

membran sel dan tidak merusak RNA dari bakteri. Ini menunjukkan bahwa terdapat interaksi yang lebih kuat antara GO dan rGO dengan membran sel atau transfer muatan yang lebih baik antara bakteri dengan tepian GO dan rGO, hal ini disebabkan tepian GO dan rGO memiliki bentuk yang tajam sehingga mempermudah proses reduksi oleh membran yang akhirnya menghasilkan kerusakan lebih lanjut pada membran sel bakteri selama interaksi kontak. Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa produk turunan graphene sangat berguna untuk aplikasi dunia medis yang memerlukan ketahanan terhadap bakteri.

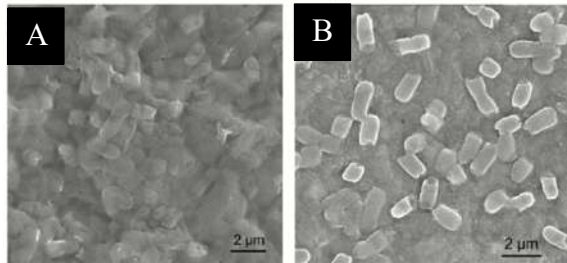
Pada penelitian sebelumnya oleh Hu (2010), menjelaskan bahwa GO dan rGO dalam bentuk lembaran dengan kadar konsentrasi 85 $\mu\text{g/ml}$, memiliki sifat anti bakteri.



Gambar 2.14 Aktivitas Antibakteri pada Lembaran rGO dan GO Selama 24 Jam Inkubasi pada Temperatur 37. Pengamatan Secara Makro Bakteri *E. coli* pada (a)rGO dan (b)GO (Hu dkk., 2010)

Pada penelitian ini menjelaskan bahwa GO dan rGO dalam bentuk lembaran dengan kadar konsentrasi 85 $\mu\text{g/ml}$, memiliki sifat anti bakteri. Pada penelitian ini zona inhibisi pada material tidak tampak saat pengamatan secara makro. Tetapi bakteri pada lembaran GO tidak ditemukan serta hanya ditemukan sedikit bakteri pada lembaran rGO. Kedua material yang diamati secara

makro telah diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37, hal ini dapat dilihat secara jelas pada Gambar 2.14 poin A dan B.



Gambar 2.15 Hasil SEM Bakteri *E. coli* yang Diinkubasi Selama 12 Jam Inkubasi pada Temperatur 37 (a) GO dan (b) rGO (Hudkk., 2010)

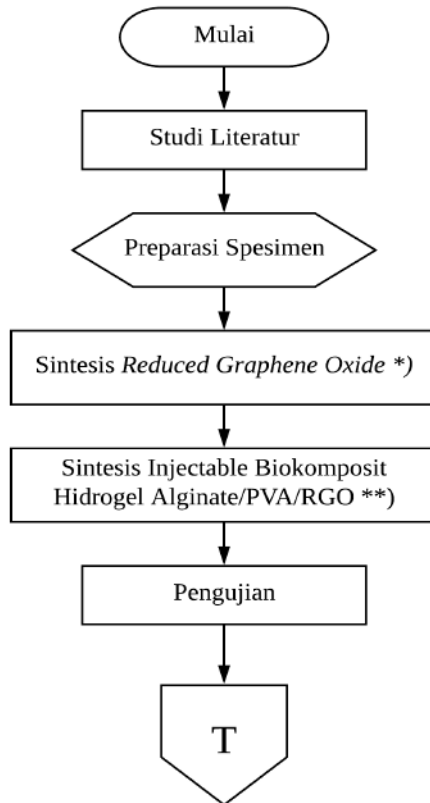
Pada hasil SEM, bakteri tetap berada pada sekitar kedua material meski keberadaan membran pada bakteri tidak utuh seperti pada Gambar 2.12 poin A dan B, maupun hilang. Pada Gambar 2.12 dapat disimpulkan bahwa produk turunan graphene dapat merusak membran sel bakteri.

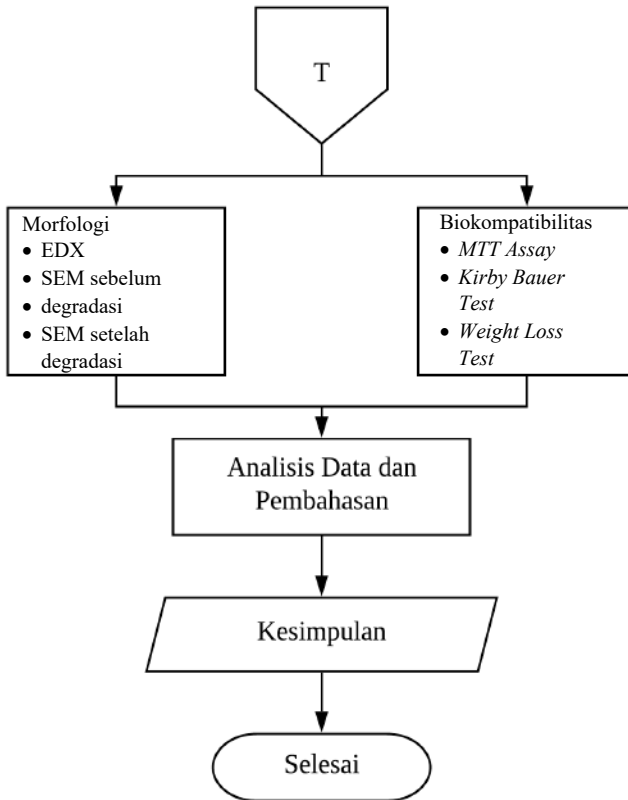
(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Diagram Alir

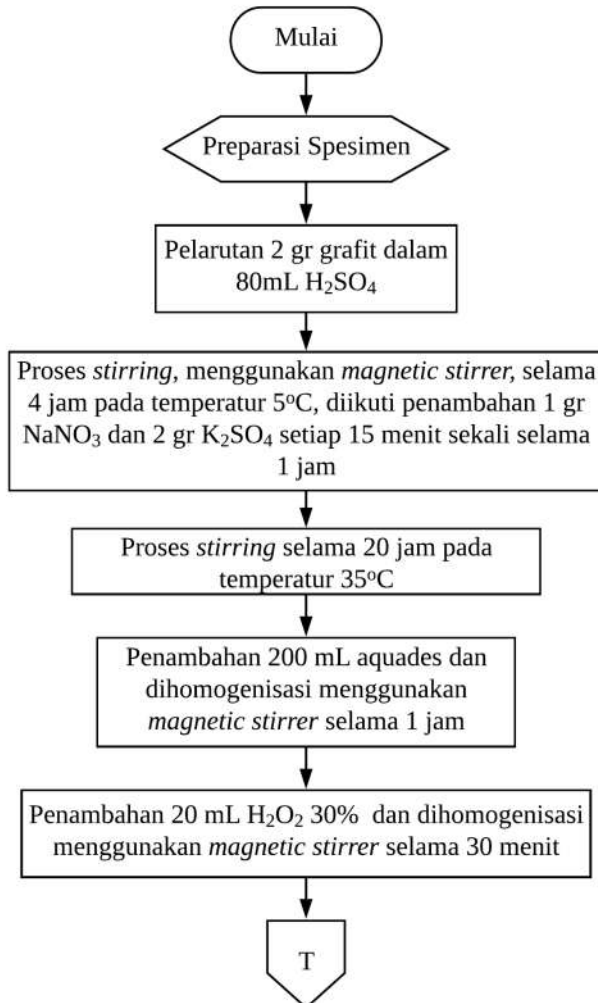
Urutan dari penelitian secara umum ditunjukkan pada Gambar 3.1. Sedangkan proses sintesis rGO secara sistematis disajikan pada Gambar 3.2, selanjutnya sintesis *Injectable* Komposit Alginate/PVA/rGO pada Gambar 3.3

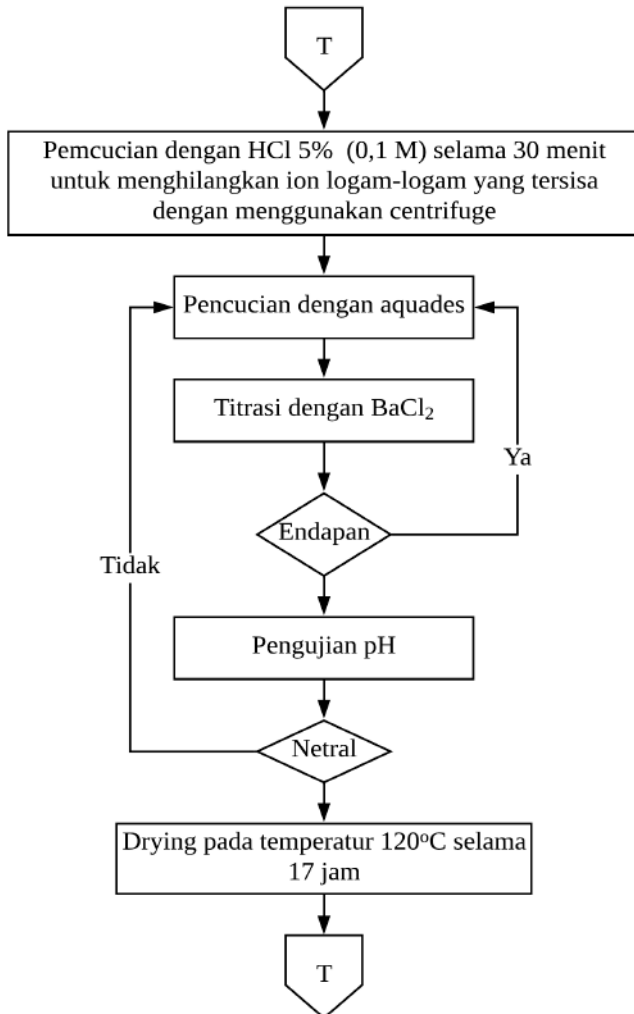


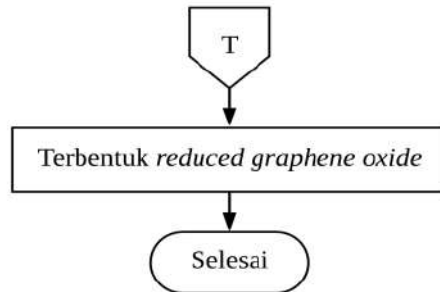


Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

*) Diagram Alir Sintesis *Reduced Graphene Oxide* dari Grafit Menggunakan *Hummer Method*

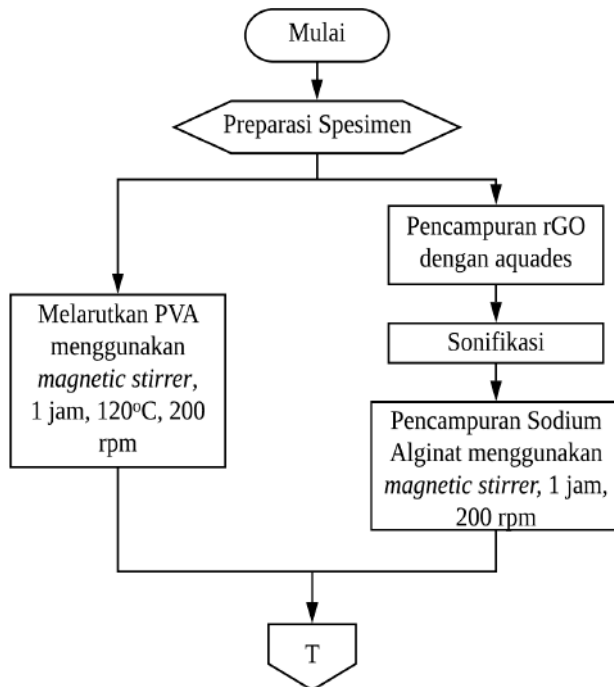


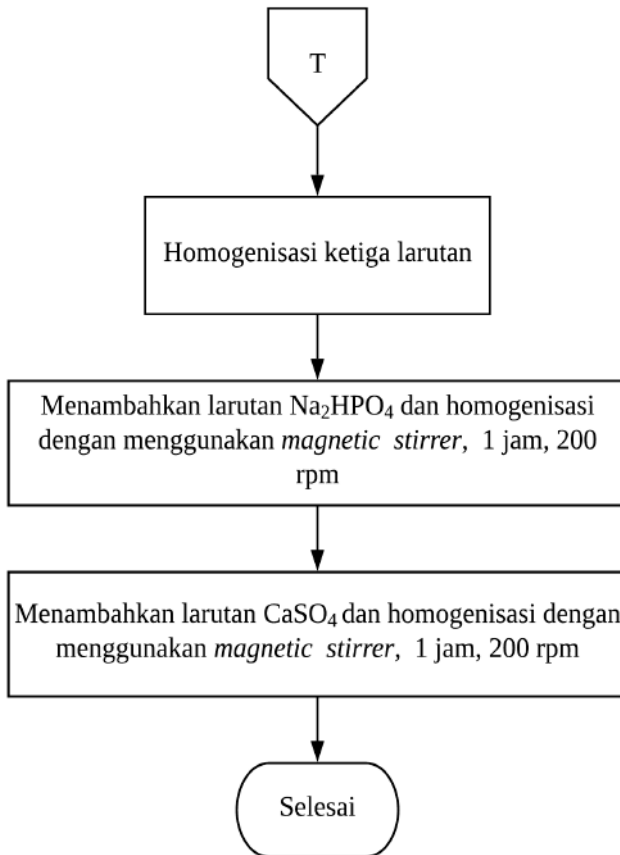




Gambar 3.2 Sintesis Reduced Graphene Oxide

***) Diagram Alir Sintesis *Injectable* Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO





Gambar 3.3 Sintesis Injectable Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Adapun bahan dan alat penelitian yang digunakan sebagai berikut:

3.2.1 Bahan Penelitian

Beberapa bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

1. Grafit
Merupakan serbuk hitam, tidak berbau dan tidak berbahaya bagi kulit.
2. Asam Sulfat (H_2SO_4)
Digunakan dalam bentuk larutan bening 98% lalu diencerkan sesuai konsentrasi yang diperlukan, lalu diencerkan sesuai konsentrasi yang diperlukan. Memiliki bau menyengat, bersifat korosif dan berbahaya bagi tubuh. Diperlukan untuk sintesis rGO. Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada.
3. Sodium Nitrat ($NaNO_3$)
Berbentuk kristal putih, dan tidak berbau. Diperlukan untuk sintesis rGO. Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada.
4. Potassium Permanganat ($KMnO_4$)
Berbentuk serbuk hitam, meninggalkan bekas kecoklatan apabila mengenai kulit. Diperlukan untuk sintesis rGO. Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada.
5. Aquades
Digunakan dalam larutan bening, tidak berbau dan tidak berbahaya bagi tubuh. Digunakan untuk sintesis rGO, mengencerkan larutan, dan membentuk larutan. Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada
6. Hidrogen Peroksida (H_2O_2)
Digunakan dalam bentuk larutan bening, berbau menyengat, dan berbahaya untuk tubuh. Diperlukan untuk sintesis rGO. Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada.
7. Asam Klorida 37% (HCl)
Digunakan dalam bentuk larutan bening pekat 37%, berbau menyengat, dan berbahaya untuk tubuh. Diperlukan untuk sintesis rGO. Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada.

8. Barium Klorida (BaCl_2)
Berbentuk serbuk putih, tidak berbau dan memiliki rasa pahit dan asin. Diperlukan untuk sintesis rGO. Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada.
9. Sodium Alginat
Berbentuk serbuk putih sehingga harus dilarutkan terlebih dahulu dengan aquades sesuai konsentrasi yang dibutuhkan. Sedikit berbau, berwarna putih, dan kental. Diperlukan dalam proses pembuatan biokomposit hidrogel alginat/PVA/rGO. Didapat dari Online Sigma Aldrich.
10. Polivinil Alkohol (PVA)
Berbentuk pallete putih sehingga harus dilarutkan terlebih dahulu dengan aquades sesuai konsentrasi yang dibutuhkan. Tidak berbau, berwarna putih, dan sedikit kental. Diperlukan dalam proses pembuatan biokomposit hidrogel alginat/PVA/rGO. Didapat dari Online Sigma Aldrich.
11. Kalsium Sulfat (CaSO_4)
Berbentuk serbuk putih sehingga harus dilarutkan terlebih dahulu dengan aquades sesuai konsentrasi yang dibutuhkan. Diperlukan dalam proses pembuatan biokomposit hidrogel alginat/PVA/rGO. Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada.
12. Disodium Fosfat (Na_2HPO_4)
Berbentuk serbuk putih, dan tidak berbau. Dapat menyebabkan iritasi pada kulit. Diperlukan dalam proses pembuatan biokomposit hidrogel alginat/PVA/rGO. Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada.
13. *Phosphate Buffered Saline*
Berbentuk larutan bening, tidak berbau. Dapat menyebabkan iritasi pada kulit. Diperlukan dalam proses pembuatan biokomposit hidrogel Alginat/PVA/rGO. Didapat dari PT. Sumber Ilmiah Persada.

3.2.2 Alat Penelitian

Beberapa alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

1. Neraca Analitik
Penggunaan neraca analitik pada penelitian ini sebagai alat untuk menghitung massa serbuk bahan penelitian.
2. *Hot Plate Magnetic Stirrer*
Penggunaan *hot plate magnetic stirrer* pada penelitian ini sebagai alat untuk mengaduk dan menghomogenkan larutan.
3. *Stir bar*
Penggunaan *stir bar* pada penelitian ini sebagai pengaduk pada *hot plate magnetic stirrer*.
4. Gelas Beaker
Penggunaan gelas beaker pada penelitian ini sebagai tempat untuk aktifitas bahan-bahan kimia.
5. Gelas Ukur
Penggunaan gelas ukur pada penelitian ini sebagai untuk menakar larutan kimia yang akan digunakan agar sesuai dengan yang dibutuhkan.
6. *Centrifuge*
Penggunaan *centrifuge* pada penelitian ini sebagai alat untuk memisahkan antara zat terdispersi dengan zat pendispersi.
7. Tabung *Centrifuge*
Penggunaan tabung *centrifuge* pada penelitian ini sebagai tempat larutan yang akan dimasukkan kedalam alat *centrifuge*.
8. *pH Paper*
Penggunaan *pH paper* pada penelitian ini untuk mengetahui nilai pH pada suatu larutan
9. Mortar
Penggunaan mortar pada penelitian ini untuk menghaluskan suatu bahan.
10. Plastik Klip

Penggunaan plastic klip pada penelitian ini untuk menyimpan hasil dari penelitian.

11. Cawan Petri
Penggunaan cawan petri pada penelitian ini sebagai cetakan untuk *hydrogel* yang akan diuji secara fisik, morfologi dan sifat mekanik.
12. *Furnace*
Penggunaan *furnace* pada penelitian ini sebagai untuk proses sintesis *reduced graphene oxide*.
13. *Ceramic Crucible*
Penggunaan *ceramic crucible* pada penelitian ini sebagai tempat bagi bahan ketika akan dipanaskan pada *furnace*.
14. Sonifikator
Penggunaan sonifikator pada penelitian ini untuk memperkecil partikel bahan
15. Inkubator
Penggunaan incubator pada penelitian ini untuk membantu proses degradasi material pada temperatur 37°C.
16. Instrumen Karakterisasi
Untuk instrumen karakterisasi yang digunakan, yaitu:
 - a. *Scanning Electron Microscope* (SEM), alat ini berfungsi untuk mengetahui morfologi suatu material.
 - b. *X-Ray Diffraction* (XRD), alat ini berfungsi untuk mengetahui senyawa dan struktur kristal pada sampel.
17. Instrumen Uji Biokompatibilitas
Untuk instrument uji biokompatibilitas yang digunakan:
 - a. *Plate Reader*, alat ini berfungsi untuk membaca nilai absorbansi sebuah material yang telah ditanami sel, yang merupakan indikasi dari aktifitas biologi sel di dalam material.

3.3 Metode Penelitian

Langkah Sintesis *Reduced Graphene Oxide*

1. Menyiapkan 2 gram grafit

2. *Stirring* 2 gram serbuk grafit dengan ukuran sekitar 150 μm dengan 80 ml H_2SO_4 98% selama 2 jam di dalam *ice bath* pada temperature rata-rata 5°C
3. Penambahan 2 gr KMnO_4 dan 4 gram NaNO_3 setiap 15 menit, hal ini dilakukan berulang selama 1 jam, di dalam *ice bath* pada temperature rata-rata 5°C.
4. Homogenisasi larutan selama 2 jam di dalam *ice bath* pada temperature rata-rata 5°C.
5. Proses *stirring* pada temperatur 35°C selama 20 jam.
6. Penambahan 200 ml aquades
7. Homogenisasi larutan selama 1 jam
8. Penambahan 20 ml hidrogen peroksida (H_2O_2) 30% dan homogenisasi selama 30 menit
9. *Centrifuge* 1 jam lalu diambil endapannya
10. Pencucian dengan HCL 5% (0,1 M) selama 30 menit untuk menghilangkan ion logam-logam yang tersisa
11. Proses pencucian selanjutnya menggunakan aquades secara berkala
12. Titrasi BaCl_2 1 M. Jika muncul endapan putih bersih maka di indikasikan bahwa masih terdapat ion sulfat di dalamnya.
13. Kemudian dilakukan pengujian pH dengan pH meter atau kertas pH. Larutan yang sudah netral dan tanpa pengotor (endapan) lain dilakukan *centrifuge* lagi untuk memisahkan grafit yang belum teroksidasi dengan grafit oksida.
14. Lalu di *drying* pada temperatur 120°C selama 17 jam dalam wadah *ceramic crucible*.

Langkah Sintesis Biokomposit *Hydrogel* Alginat/PVA/rGO

1. Menyiapkan Alginat sebanyak 1.5 g, PVA sebanyak 0,63 g, dan rGO sesuai %wt yang dibutuhkan. Ketiga material diletakkan ke dalam gelas terpisah.
2. Suspensi rGO dan aquades kemudian dilakukan sonifikasi hingga rGO yang berbentuk lembaran menjadi serbuk.

3. Pencampuran Sodium Alginat sebanyak 1,5 gram dengan suspensi rGO dan 40 ml aquades lalu dilakukan *stirring* selama 1 jam dengan kecepatan 200 rotasi per menit (RPM) menggunakan *magnetic stirrer*.
4. Melarutkan PVA dengan aquades sebanyak 15 mL lalu diaduk pada temperature 120°C selama 1 jam, dengan kecepatan putaran 200 rpm.
5. Mencampurkan larutan Alginat/rGO dengan larutan PVA
6. Melarutkan 0,3 g Na_2HPO_4 kedalam 5 mL aquades.
7. Melarutkan 1,5 g CaSO_4 kedalam 10 mL aquades.
8. Mencampurkan larutan Alginat/PVA/rGO dengan larutan Na_2HPO_4 , 200 rpm, selama 1,5 jam.
9. Menambahkan larutan CaSO_4 dengan larutan Alginat/PVA/rGO yang telah ditambahkan dengan Na_2HPO_4 , 450 rpm, selama 20 menit.

3.4 Pengujian

Adapun pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah:

3.4.1 Pengujian Morfologi dan Sifat Fisik

a. SEM-EDX

Scanning Electron Microscopy (SEM) merupakan mikroskop yang memanfaatkan pancaran elektron berenergi tinggi untuk memeriksa objek dalam skala yang sangat kecil. Pengamatan ini memberikan informasi mengenai topografi (jenis permukaan objek), morfologi (bentuk dan ukuran partikel), komposisi (unsur dan senyawa beserta jumlah relatif masing-masing) menggunakan EDS (*Energy Dispersive X-Ray analysis*). SEM digunakan untuk menguji topografi dan morfologi dari semua sample. Tipe SEM yang digunakan yaitu FEI INSPECT S50 di Laboratorium Karakterisasi Material.

Sebelum proses pengujian berlangsung, sampel uji terlebih dahulu diliofiliasi (*freeze drying*), agar mendapatkan material dalam keadaan kering. Kemudian sampel uji dicoating menggunakan coating emas, hal ini dilakukan agar sampel uji

mampu memantulkan electron, dan dapat dibaca topografi nya. Adapun mekanisme pengujian adalah dengan memfokuskan sinar elektron (electron beam) di permukaan obyek dan proses pengambilan gambar dilakukan dengan mendeteksi elektron yang muncul dari permukaan obyek. Elektron yang dipantulkan oleh sampel uji memiliki dua jenis pantulan yaitu pantulan elastis dan non- elastis. Dari pantulan non-elastis didapatkan sinyal elektron sekunder dan karakteristik sinar X. Sedangkan dari pantulan elastis didapatkan sinyal *backscattered electron* (BSE). Sinyal BSE dideteksi dan hasil deteksi digunakan untuk membentuk gambar. Elektron-elektron pada BSE yang terdeteksi selanjutnya diperkuat sinyalnya, kemudian besar amplitudonya ditampilkan dalam gradasi gelap terang pada monitor CRT (Cathode Ray Tube).

3.4.2 Pengujian Biokompatibilitas

a. *MTT assay*

MTT assay merupakan indikator yang sensitif dan akurat terhadap aktivitas metabolisme sel. Pengujian berbasis pada reduksi senyawa MTT (*3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide*) menjadi formazan. pewarna tetrazolium yang larut dalam air akan menjadi kristal formazan yang berwarna ungu, hal ini disebabkan karena adanya aktivitas dehidrogenase dari mitokondria sel. Kemudian produk formazan dianalisis dalam spektrofotometri (550nm) setelah dilarutkan dalam DMSO (Patravale, Dandekar, & Jain, 2012).

Sampel uji pada awalnya dibentuk dengan ukuran 6 mm dengan ketebalan 0,5 mm. Lalu sampel terlebih dahulu disterilisasi dengan menggunakan sinar UV. Pada pengujian ini sampel diletakkan kedalam *MTT Assay Kit* dengan tipe *96 well plate kit*. Lalu kemudian sampel ditanami sel dan diinkubasi selama 24 jam, dengan temperatur 37 dengan dilairi gas CO₂. Setelah inkubasi, *liquid supernatant* pada sampel dibuang, dan sampel diberikan senyawa MTT, kemudian diinkubasi kembali

selama 2 jam. Kemudian hasil diperiksa dengan *MTT Assay reader*.

b. Uji Resistensi Anti Bakteri

Uji resistensi dengan metode Kirby-Bauer *disk diffusion* adalah pengujian menentukan sensitivitas atau resistensi bakteri anaerobik, aerobik dan fakultatif patogenik ke berbagai senyawa antimikroba untuk membantu peneliti dalam memilih opsi pengobatan untuk pasiennya. Organisme patogen tumbuh pada agar Mueller-Hinton di sekitar kertas antimikroba, sebelumnya kertas antimikroba dilapisi senyawa yang ingin diuji. Adanya atau tidak adanya pertumbuhan di sekitar disk adalah ukuran tidak langsung dari kemampuan senyawa tersebut untuk menghambat organisme tersebut (Hudzicki, 2009).

Sampel terlebih dahulu dibentuk dengan diameter 6 mm dan ketebalan 2,5 mm. Lalu sampel diletakkan pada agar (agar berada pada cawan petri) yang sudah ditanamkan bakteri dan diinkubasi pada temperature 30 selama 16 hingga 18 jam. Jarak minimal antar sampel uji adalah 24 mm, dengan jarak sampel dengan permukaan cawan petri terdekat adalah 10 hingga 15 mm (Tendencia, 2004). Adapun bakteri yang digunakan pada pengujian kali ini adalah *s. mutant*.

c. Analisis Degradasi Material

Untuk mengetahui laju peluruhan *Injectable* biokomposit hidrogel alginat/PVA/rGO, maka dilakukan pengujian *weight loss*. Pengujian dilakukan secara *in vitro* dengan cara merendam 40emperat dengan ketebalan 10 mm dan diameter 39 mm dan pH 7.4 pada temperatur 37. Kemudian sampel ditimbang massa sebelum perendaman dan 7, 14, 21, 28 hari setelah perendaman. Setelah 7, 14, 21, 28 hari perendaman, sampel diangkat dan disaring dari larutan dan ditimbang masa sesudah perendaman.

$$W = (ma - mb)/mb \dots\dots\dots(3.1)$$

Dimana *ma* adalah massa yang terukur setelah perendaman PBS dan *mb* adalah massa sebelum perendaman seperti pada Persamaan 3.1 (Jeon, Bouhadir, Mansour, & Alsberg, 2009).

Pengujian degradasi ini dilakukan di Laboratorium Inovasi Material Departemen Teknik Material FTI ITS Surabaya.

3.5 Rancangan Penelitian

Adapun rancangan penelitian pada tugas akhir ini sebagai berikut :

Tabel 3.1 Komposisi Sampel

No	Sampel	Sodium Alginate (dalam 1wt%)	PVA (dalam 1wt%)	rGO (dalam 1wt%)
1	Sampel A	70	30	0
2	Sampel B	70	30	0.4
3	Sampel C	70	30	0.8
4	Sampel D	70	30	1.2
5	Sampel E	70	30	1.6

Tabel 3.2 Rancangan Pengujian Sampel

No	Sampel	Pengujian			
		SEM-EDX	MTT Assay	Uji Resistensi Bakteri	Analisa Degradasi Material
1	Sampel A	v	v	v	v
2	Sampel B	v	v	v	v
3	Sampel C	v	v	v	v
4	Sampel D	v	v	v	v
5	Sampel E	v	v	v	v

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

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

4.1 Hasil Uji Komposisi Komposit Alginat/PVA/rGO dengan *Energy-dispersive X-ray Analyzer Spectroscopy*

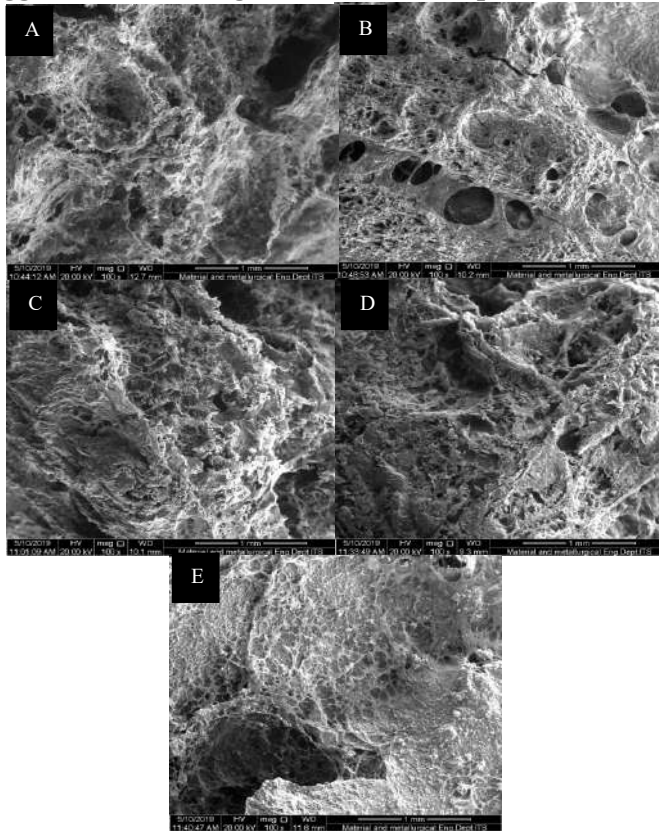
Pengujian *Energy-dispersive X-ray Analyzer Spectroscopy* (EDX) dilakukan pada keseluruhan sampel. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui jumlah kadar karbon yang berada pada tiap sampel sehingga dapat melihat pengaruh penambahan rGO pada kadar komposisi karbon tiap sampel.

Tabel 4. 1 Nilai wt% Karbon Pada Tiap-Tiap Sampel

Jumlah Penambahan rGO	Jumlah Karbon (wt %)
0% rGO	28,50
0,4% rGO	32,41
0,8% rGO	35,38
1,2% rGO	37,64
1,6% rGO	46,77

Dari hasil spektrum EDX yang kemudian disederhanakan pada Tabel 4.1, dapat disimpulkan bahwa penambahan rGO meningkatkan jumlah wt% karbon pada sampel uji. Hal ini menjadi justifikasi bahwa pada sampel memang terkandung rGO dalam kadar yang berbeda-beda, dan penambahan rGO menaikkan jumlah karbon yang terkandung pada komposit.

4.2 Hasil Uji Morfologi Komposit Alginat/PVA/rGO dengan Menggunakan *Scanning Electron Microscope*



Gambar 4.1 Hasil Pengujian SEM. Sampel Komposit Alginat/PVA/rGO. A) Alginat/PVA. B) Alginat/PVA/0.4%rGO. C) Alginat/PVA/0.8%rGO. D) Alginat/PVA/1.2%rGO. E) Alginat/PVA/1.6%rGO. Perbesaran 100X

Gambar 4.1 menunjukkan hasil SEM komposit hydrogel Alginat/PVA/rGO yang telah diberi perlakuan liofilisasi (*freeze-drying*). Pada gambar terlihat pori yang terbentuk akibat kristal es

yang membeku saat proses liofiliasi. Struktur pori sendiri menjadi lebih padat seiring dengan meningkatnya jumlah rGO yang ditambahkan (Yang dkk., 2017). Kepadatan pada struktur hidrogel merupakan indikasi meningkatnya jumlah ikatan *crosslink*, ikatan *crosslink* sendiri disebabkan adanya interaksi antara fiber dengan matriks pada komposit, baik secara kimiawi maupun mekanik. Adapun pada penelitian ini, matriks yang disebut adalah Alginat dan fiber yang dipakai adalah PVA dan rGO. PVA dan Alginat dapat dengan mudah ter-*crosslink* secara homogen, dengan menggunakan dikation (pada penelitian kali ini menggunakan Ca^{2+}). *Crosslink* dapat terjadi dikarenakan PVA dan natrium alginat merupakan dua biopolimer yang dapat larut di dalam air serta keduanya merupakan material hidrofilik (Pradipta dkk., 2018).

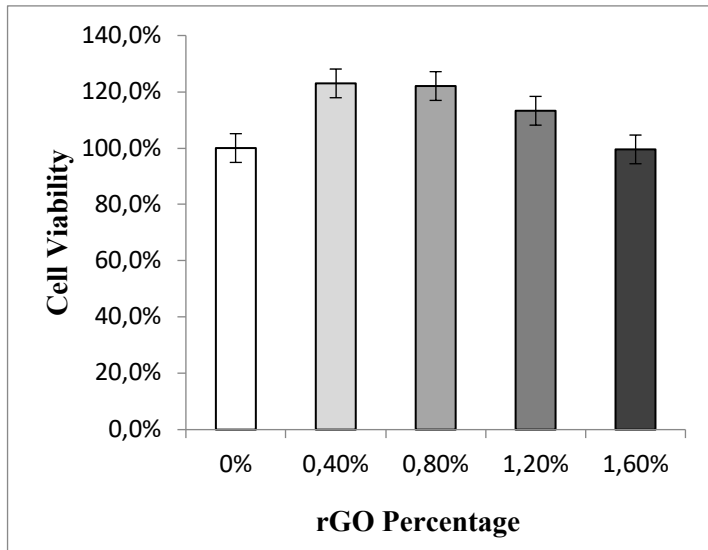
Banyaknya graphene yang ditambahkan dapat menyebabkan sebagian dari graphene yang memiliki ukuran berskala nano menumpuk (membentuk aglomerat), serta membentuk graphite skala mikro (Guo, Li, Li, Wang, & Wang, 2017). Pada Gambar 4.2 (dalam lingkaran berwarna merah), dapat dilihat adanya penumpukan pada graphene sehingga tampak seperti aglomerat pada dasar hidrogel. Adapun pembentukan aglomerat mencegah *crosslink* secara menyeluruh pada material, serta menjadikan material graphene yang semula berskala nano menjadi skala mikro.



Gambar 4.2 Hasil SEM Alginat/PVA/1.6%rGO Perbesaran 1000x

4.3 Hasil Uji *Cell Viability*

Biokompatibilitas merupakan salah satu syarat utama dalam pembuatan *scaffold*. Oleh karena itu, untuk menginvestigasi pengaruh penambahan *Reduced Graphene Oxide* pada komposit hidrogel Alginat/PVA/rGO dalam biokompatibilitas dilakukan pengujian Viabilitas Sel dengan metode MTT Assay selama 24 jam. Hasil dari MTT Assay merupakan Nilai *absorbance* sebuah material yang telah diberikan reagent MTT terhadap cahaya yang diberikan. Nilai *absorbance* terhadap cahaya dipengaruhi oleh jumlah aktivitas mitokondria yang terjadi di dalam material uji, semakin banyak aktivitas mitokondria terjadi, nilai *absorbance* akan semakin besar.



Gambar 4.3 Grafik Persentase *Cell Viability* pada Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO

Tabel 4.2 Nilai Persentase Tiap Sampel

No	Jumlah Presentasi Penambahan rGO pada Komposit Hidrogel	Viabilitas Sel (%)
1	Komposit Alginat/PVA/0% rGO	93,94%
2	Komposit Alginat/PVA/0,4% rGO	123,00%
3	Komposit Alginat/PVA/0,8% rGO	122,05%
4	Komposit Alginat/PVA/1,2% rGO	113,27%
5	Komposit Alginat/PVA/1,6% rGO	99,55%

Persentase viabilitas sel dengan nilai tertinggi dimiliki oleh komposit Alginat/PVA dengan penambahan rGO sebesar 0,4% rGO (wt%), dengan nilai 123,0% (Tabel 4.2). Komposit Hidrogel Alginat/PVA dengan maupun tanpa tambahan rGO memiliki viabilitas sel yang baik, hal ini mengindikasikan bahwa alginat memang memiliki biokompatibilitas yang baik oleh tubuh

mamalia. Begitupun dengan PVA, kedua biomaterial ini (alginat dan PVA) merupakan material yang tidak memiliki toksisitas terhadap sel mamalia (Kamoun, Kenawy, Tamer, El-meligy, & Mohy, 2015).

Dalam penelitian ini, nilai viabilitas sel berubah seiring dengan penambahan konsentrasi rGO, seperti yang ditampilkan pada Gambar 4.3. rGO merupakan material yang unik, dimana dalam beberapa jurnal melaporkan peningkatan viabilitas sel yang baik, dan diantara yang lainnya melaporkan adanya sitotoksitas pada material ini, hal ini dipengaruhi oleh sel yang digunakan dalam studi, dan jenis pengujian yang digunakan (Ou dkk., 2016). rGO mampu menginduksi sel untuk melakukan apoptosis pada dosis rendah, dan nekrosis pada dosis tinggi, ini berlaku untuk semua organisme aerob termasuk bakteri aerob. rGO dalam konsentrasi yang tinggi dapat mengakibatkan sel mengalami stress oksidatif yang mengakibatkan kerusakan pada sel (Akhavan & Ghaderi, 2010; Chatterjee, Eom, & Choi, 2014; Hu dkk., 2010; Wang dkk., 2011). Penambahan senyawa turunan graphene diatas 50 µg/ml dapat mengurangi pertumbuhan sel (Wang dkk., 2011). Nilai viabilitas sel terhadap sel mamalia akan berkurang seiring dengan penambahan kadar rGO, dan sifat antibakterial nya akan bertambah. Disamping itu pada penelitian lain tertulis bahwa penambahan rGO juga dilaporkan menaikkan sifat biokompatibilitas, dimana meskipun rGO secara alami bersifat hidrofobik, namun karena topografinya yang kasar dapat mempengaruhi tingkat *wettability* pada permukaan rGO yang kemudian mempengaruhi proliferasi sel (Lasocka dkk., 2018). Oleh karena itu, penambahan rGO pada komposit Alginat/PVA mengalami kenaikan nilai viabilitas sel dan berkurang seiring dengan penambahan konsentrasi rGO.

4.4 Hasil Uji Degradabilitas





















Adapun hasil uji degradaibilitas dapat dibagi menjadi dua pengamatan.

4.4.1 Pengamatan Visual Uji Degradabilitas dan Hasil Uji Degradabilitas

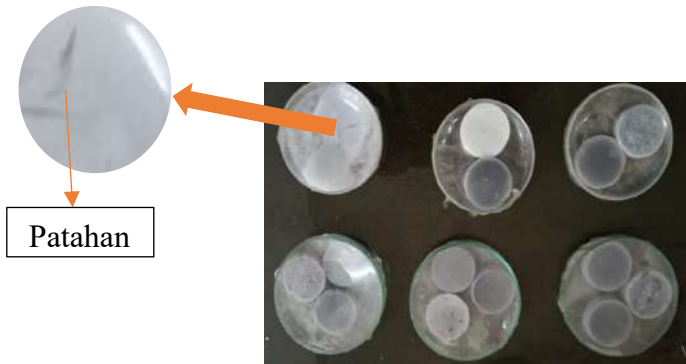
Proses degradasi scaffold secara *in vitro* dilakukan dengan melakukan perendaman di dalam larutan PBS pada temperature 37°C selama 28 hari. Pengukuran berat *scaffold* dilakukan setiap 1 minggu sekali. Larutan PBS ditambahkan setiap 1 minggu sekali setelah penimbangan untuk meyakinkan bahwa seluruh sampel terendam dengan sempurna. Proses degradasi dari komposit hidrogel Alginat/PVA/rGO ini selanjutnya dihitung dari rasio berat pada waktu yang berbeda secara berkala.

Pada pengujian degradabilitas, tampak sampel tidak mengalami perubahan berat yang signifikan (Tabel 4.3). Hal ini dapat dibuktikan dengan rasio degradasi yang rendah pada tiap-tiap material, sehingga bentuk material tidak mengalami perubahan seperti pada Gambar 4.4. Alginat dilaporkan merupakan biomaterial alami yang memiliki tingkat degradasi yang rendah dibandingkan dengan biomaterial alami lainnya seperti collagen (Boonthekul, Kong, & Mooney, 2005; Chuang dkk., 2018). Pada dasarnya tubuh manusia dan mamalia lainnya tidak memiliki enzim tertentu (contoh: alginase) untuk mencerna alginat, dan kemampuan alginat untuk terdegradasi dalam tubuh ditinjau dari banyaknya ion-ion yang terkandung dalam alginat, terutama ion kalsium (Lee & Mooney, 2013; Mohandas dkk., 2015).

Alginat merupakan biomaterial yang didapat dari alam, sehingga untuk mengesktraksinya membutuhkan beberapa tahap. Alginat mengandung unsur kimia lain, seperti Natrium (Na), Kalsium (Ca), Fosfor (P), dan juga Besi (Fe). Oleh karena itu, alginat yang kurang murni lebih cenderung mudah didegradasi, karena lebih banyak mengandung ion (Boonthekul dkk., 2005; Pradipta dkk., 2018; Sachan, Pushkar, Jha, & Bhattacharya, 2009).

Minggu	Nama Sampel				
	0% rGO	0,4% rGO	0,8% rGO	1,2% rGO	1,6% rGO
1					
2					
3					
4					

Gambar 4.4 Hasil Pengujian Degradasi Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO Tampak Hasil Pengujian Minggu 1, 2, 3, dan 4

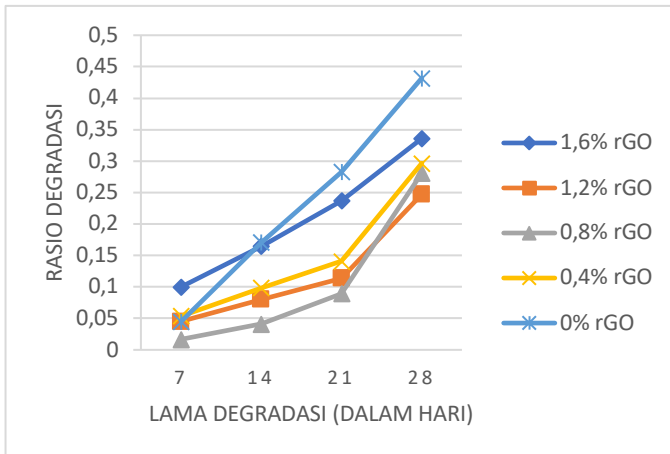


Gambar 4.5 Hasil Pengujian Degradasi Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO Tampak Sampel Pada Minggu 5

Adapun degradasi pada hidrogel Alginat/PVA/rGO disebabkan oleh disosiasinya ion Ca^{2+} yang merupakan *crosslinker* pada komposit alginat. Ca^{2+} bereaksi dengan ion fosfat pada larutan *phosphate buffered saline* dan membentuk kalsium phosphate (CaHPO_4), yang mengakibatkan larutan *phosphate buffered saline* berwarna keruh dan material hidrogel pada Gambar 4.4 terlihat lebih keruh (Sachan dkk., 2009). Oleh karena itu, proses degradasi komposit tidak terjadi pada material pembentuk komposit, melainkan pada pengurangan ikatan *crosslink*, yang mengakibatkan material menjadi lebih rapuh (Gambar 4.5).

Tabel 4.3 Jumlah Rata-Rata Rasio Tiap Sampel Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO

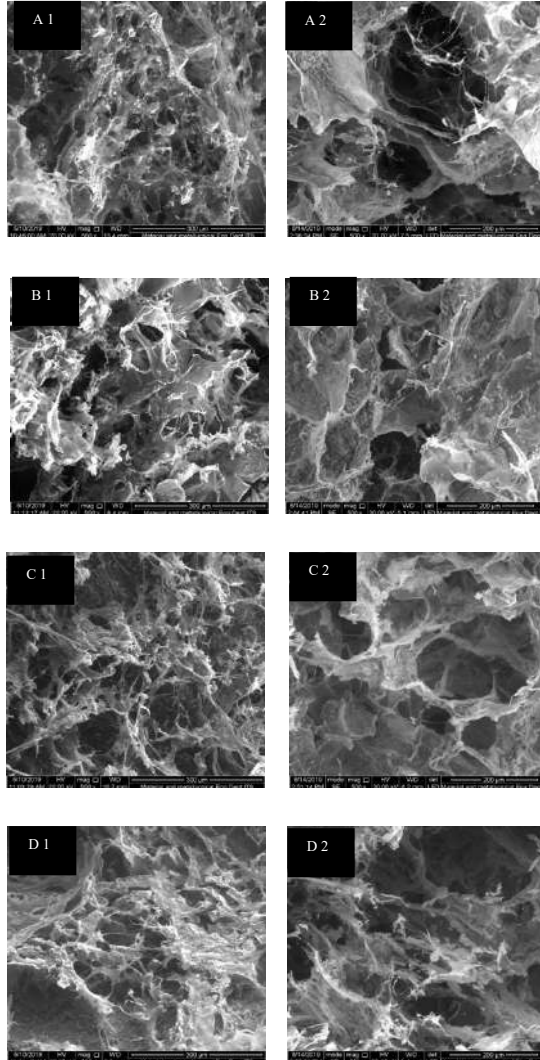
Sampel	7 Hari	14 Hari	21 Hari	28 Hari
0% rGO	0,045	0,171	0,283	0,432
0,4% rGO	0,054	0,098	0,141	0,297
0,8% rGO	0,017	0,041	0,089	0,281
1,2% rGO	0,045	0,080	0,114	0,247
1,6% rGO	0,099	0,165	0,237	0,336

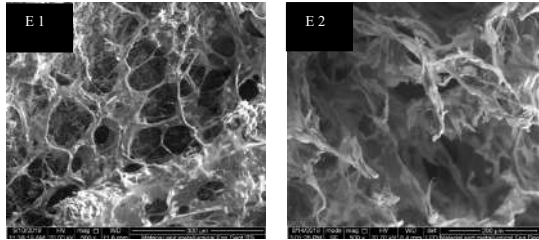


Gambar 4.6 Grafik Rasio Degradasi Berat Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO

Grafik Rasio Degradasi Sampel yang dapat dilihat pada Gambar 4.6, mengindikasikan bahwa penambahan *reduced graphene oxide*, atau graphene dapat mengurangi rasio degradasi material. Akan tetapi, dapat dilihat juga, meskipun penambahan graphene mengurangi rasio degradasi material pada komposit alginat/PVA, jumlah penambahan graphene tidak memiliki pengaruh secara linear pada pengurangan rasio degradasi gel. Dilaporkan bahwa Alginate memiliki degradasi yang cenderung lambat dan tidak dapat diprediksi, seperti Grafik (Gambar 4.6) diatas, hal ini dikarenakan alginate memiliki sensitivitas terhadap ion-ion pembentuk ikatan *crosslink* seperti kalsium, natrium, dan fosfat yang berada pada lingkungannya (Boonthekul dkk., 2005). Dalam hal ini, media degradasi alginate pada penelitian ini yaitu *phosphate buffered saline* (PBS), memiliki senyawa yang mengandung ion-ion tersebut seperti NaCl dan Na_2HPO_4 , sehingga media tersebut menstimulus pembentukan gel kembali didalam alginate.

4.4.2 Pengamatan Sampel Hasil Uji Degradabilitas dengan Menggunakan *Scanning Electron Microscope*





Gambar 4.7 Hasil Pengujian SEM Sampel Komposit Alginat/PVA/rGO Sebelum (Notasi 1) dan Setelah (Notasi 2) Mengalami Degradasi. A) Alginat/PVA. B) Alginat/PVA/0.4%rGO. C) Alginat/PVA/0.8%rGO. D) Alginat/PVA/1.2%rGO. E) Alginat/PVA/1.6%rGO. Perbesaran 500X

Permukaan sampel komposit mengalami perubahan yang signifikan setelah, melalui uji degradasi. Hal ini dapat ditinjau pada Gambar 4.7. Pada Gambar 4.7, tampak bahwa hasil uji degradasi mengakibatkan permukaan komposit hidrogel mengalami kerusakan. Kerusakan pada permukaan hidrogel setelah pengujian degradasi memiliki tampak mengkerut pada tepi poros komposit (Shin dkk., 2013). Meski kelima sampel terdegradasi pada permukaan, tampak bahwa penambahan rGO pada komposit mempengaruhi kepadatan komposit baik sebelum maupun setelah pengujian degradasi. Kepadatan komposit Alginat/PVA/rGO mempengaruhi nilai degradasi komposit, seperti yang telah peneliti jelaskan sebelumnya, bahwa penambahan rGO mempengaruhi kerapatan komposit dan struktur poros pada komposit itu sendiri. Kerapatan meningkat seiring dengan penambahan rGO pada komposit, oleh karena itu jumlah rasio degradasi juga berkurang saat penambahan rGO pada komposit.

4.5 Hasil Uji Anti Bakteri

Alginat termasuk biomaterial yang sulit disterilisasi, sehingga alginat lebih mudah dihindangi bakteri. Proses sterilisasi

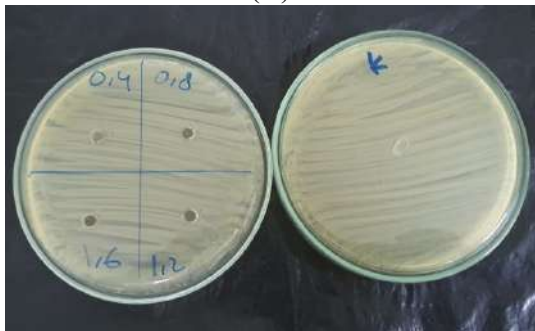
alginat yang umum dilakukan adalah dengan memanaskan alginat dengan autoclave, akan tetapi proses pemanasan pada alginat mengakibatkan viskositas alginat menurun, dan mengurangi sifat mekanik dari gel yang terbentuk. Disamping itu, cara yang dapat digunakan untuk mensterilisasi alginat adalah dengan meradiasikan alginat dengan gelombang γ atau dengan menambahkan larutan etil oksida (Sachan dkk., 2009). Oleh karena itu, pada banyak penelitian, alginat dikompositkan dengan material yang dapat memberikan respon anti bakteri yang lebih baik, pada penelitian lain (Mohandas dkk., 2015; Nalini, Basha, Mohamed Sadiq, Kumari, & Kaviyarasu, 2019).

Tabel 4.4 Hasil Pengujian Anti Bakteri Komposit Hidrogel Alginat/PVA/nGraphene dengan *Diffusion Disk Method*

Sampel	Pengujian 1	Pengujian 2	Pengujian 3
K(0% rGO)	Tidak Ada Zona Inhibisi	Tidak Ada Zona Inhibisi	Tidak Ada Zona Inhibisi
0,4% rGO	Tidak Ada Zona Inhibisi	Tidak Ada Zona Inhibisi	Tidak Ada Zona Inhibisi
0,8% rGO	Tidak Ada Zona Inhibisi	Tidak Ada Zona Inhibisi	Tidak Ada Zona Inhibisi
1,2% rGO	Tidak Ada Zona Inhibisi	Tidak Ada Zona Inhibisi	Tidak Ada Zona Inhibisi
1,6% rGO	Tidak Ada Zona Inhibisi	Tidak Ada Zona Inhibisi	Tidak Ada Zona Inhibisi



(A)



(B)



(C)

Gambar 4.8 Pengujian Anti Bakteri Komposit Hidrogel Alginat/PVA/rGO dengan *Diffusion Disk Method*. (A) Pengujian 1. (B) Pengujian 2. (C) Pengujian 3

Pada penelitian ini, Alginat dikompositkan dengan material PVA dan rGO, dimana dalam penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa rGO memiliki ketahanan terhadap bakteri (Akhavan & Ghaderi, 2010; Hu dkk., 2010). Adapun pengujian anti bakteri pada penelitian ini, menggunakan bakteri *s.mutant* yang dilakukan dengan metode *Disk Diffusion Method*. Pada hasil evaluasi pengujian anti bakteri, yang tertera pada Gambar 4.8 dan Tabel 4.4, menggambarkan bahwa belum terlihat adanya zona inhibisi pada Komposit Alginat/PVA/rGO. rGO mampu merusak membran sel, akan tetapi jumlah rGO dibawah tidak mempengaruhi RNA bakteri, sehingga sel bakteri tetap memiliki RNA meski dengan integritas membran sel yang hampir tidak ada. Hilang nya sel membran bakteri secara keseluruhan mempengaruhi sifat anti bakteri dari material tersebut, dikarenakan kemampuan *survive ability* sel bakteri berkurang ketika membran tidak ada (Pagán & Mackey, 2000).

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian dan analisis data yang telah dilakukan dalam studi pengaruh penambahan komposisi rGO terhadap biokompatibilitas dan biodegradabilitas material injectable komposit hidrogel Alginat/PVA/rGO untuk aplikasi tissue engineering, maka dapat ditarik kesimpulan.

1. Penambahan rGO mengakibatkan morfologi struktur komposit menjadi lebih padat.
2. Adapun penambahan rGO mempengaruhi biokompatibilitas sebagai berikut:
 - a. Penambahan rGO sebanyak 0,4% dapat menaikkan nilai *cell viability* komposit Alginat/PVA/rGO dan mengalami nilai *cell viability* mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya jumlah rGO yang diberikan.
 - b. Pada pengujian *Diffusion Disk Method*, rGO belum memperlihatkan adanya zona inhibisi terhadap bakteri pada komposit Alginat/PVA/rGO,
3. Penambahan rGO dapat menurunkan rasio degradasi komposit Alginat/PVA/rGO.

5.2 Saran

Adapun saran yang dihasilkan setelah melakukan penelitian ini adalah:

1. Pengujian menggunakan SEM dan sitotoksitas untuk mengetahui sifat anti bakteri pada material komposit Alginat/PVA/rGO.
2. Diperlukan adanya pengujian *wettability* untuk meninjau kemampuan adhesi rGO terhadap larutan medium sel.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR PUSTAKA

- Akhavan, O., & Ghaderi, E. 2010. "Toxicity of graphene and graphene oxide nanowalls against bacteria". **ACS Nano**.
- Alam, S. N., Sharma, N., & Kumar, L. 2017. "Synthesis of Graphene Oxide (GO) by Modified Hummers Method and Its Thermal Reduction to Obtain Reduced Graphene Oxide (rGO)". **Graphene**, 06(01), 1–18.
- Boonthekul, T., Kong, H. J., & Mooney, D. J. (2005). "Controlling Alginate Gel Degradation Utilizing Partial Oxidation and Bimodal Molecular Weight Distribution". **Biomaterials**, 26(15), 2455–2465.
- C. S. Figueiredo, K., L. M. Alvers, T., & P. Borges, C. (2008). "Poly(vinyl alcohol) Films Crosslinked by Glutaraldehyde Under Mild Conditions". **Journal of Applied Polymer Science**, 111(7), 3074–3080.
- Campbell, D. (2013). 10 - Injectable biomimetic hydrogels for soft tissue repair. **Biomimetic biomaterials : Structure and applications** (pp. 276–300).
- Chatterjee, N., Eom, H. J., & Choi, J. (2014). "A systems toxicology approach to the surface functionality control of graphene-cell interactions". **Biomaterials**, 35(4), 1109–1127.
- Chen, M., Qin, X., & Zeng, G. (2017). "Biodegradation of Carbon Nanotubes, Graphene, and Their Derivatives". **Trends in Biotechnology**, 35(9), 836–846.
- Cho, S. H., Lim, S. M., & Han, D. K. (2012). "Time-Dependent Alginate / Polyvinyl Alcohol Hydrogels as Injectable Cell Carriers". **Journal of Biomaterials Science**, (April 2013), 863–876.
- Chou, A. I., Akintoye, S. O., & Nicoll, S. B. (2009). "Photo-crosslinked Alginate Hydrogels Support Enhanced Matrix Accumulation by Nucleus Pulposus Cells In Vivo". **Osteoarthritis and Cartilage**, 17(10), 1377–1384.
- Chuang, C., Lin, R., Melero-martin, J. M., Chen, Y., Lin, R.,

-
- Melero-martin, J. M., & Chen, Y. 2018. "Comparison of covalently and physically cross- linked collagen hydrogels on mediating vascular network formation for engineering adipose tissue". **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, 46(S3), S434–S447.
- DeMerlis, C. C., & Schoneker, D. R. 2003. "Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA)". **Food and Chemical Toxicology**, 41(3), 319–326.
- Golafshan, N., Rezasahani, R., Tarkesh Esfahani, M., Kharaziha, M., & Khorasani, S. N. 2017. "Nanohybrid hydrogels of laponite: PVA-Alginate as a potential wound healing material". **Carbohydrate Polymers**, 176(8), 392–401.
- Growney Kalaf, E. A., Pendyala, M., Bledsoe, J. G., & Sell, S. A. 2017. "Characterization and restoration of degenerated IVD function with an injectable, in situ gelling alginate hydrogel: An in vitro and ex vivo study". **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, 72(11), 229–240.
- Guo, H., Li, X., Li, B., Wang, J., & Wang, S. 2017. "Thermal conductivity of graphene/poly(vinylidene fluoride) nanocomposite membrane". **Materials and Design**, 114, 355–363.
- Gurunathan, S., Han, J. W., Kim, J., & Kim, J. 2012. "Oxidative stress-mediated antibacterial activity of graphene oxide and reduced graphene oxide in *Pseudomonas aeruginosa*". **International Journal of Nanomedicine**, 7, 5901–5914.
- Hassanzadeh, P., Atyabi, F., & Dinarvand, R. 2018. "Tissue engineering: Still facing a long way ahead". **Journal of Controlled Release**, 279(2), 181–197.
- Hench, L. L., & Thompson, I. 2010. "Twenty-first century challenges for biomaterials". **Review. Challenges for Biomaterials**, (05), 379–381.
- Herda, E., & Puspitasari, D. 2016. "Tinjauan peran dan sifat material yang digunakan sebagai scaffold dalam rekayasa jaringan". **Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia**, 1(5), 56–63.
-

-
- Hou, Q., Bank, P. A. De, Shakesheff, K. M., Bank, P. De, & Shakesheff, K. 2004. "Injectable scaffolds for tissue regeneration". *Material Chemistry*, 14, 1915–1923.
- Hu, W., Peng, C., Luo, W., Lv, M., Li, X., Li, D., Fan, C. 2010. "Graphene-Based Antibacterial Paper". *ACS Nano*, 4(7), 4317–4323.
- Hudzicki, J. 2009. "Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol". **Kirby Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol**, (12), 1–14.
- Jeon, O., Bouhadir, K. H., Mansour, J. M., & Alsberg, E. 2009. "Biomaterials Photocrosslinked alginate hydrogels with tunable biodegradation rates and mechanical properties". *Biomaterials*, 30(14), 2724–2734.
- Joshi, A., Fussell, G., Thomas, J., Hsuan, A., Lowman, A., Karduna, A., Marcolongo, M. 2006. "Functional compressive mechanics of a PVA/PVP nucleus pulposus replacement". *Biomaterials*, 27(2), 176–184.
- Kamoun, E. A., Kenawy, E. S., Tamer, T. M., El-meligy, M. A., & Mohy, M. S. (2015). "Poly (vinyl alcohol) -alginate physically crosslinked hydrogel membranes for wound dressing applications : Characterization and bio-evaluation". *Arabian Journal of Chemistry*, 8(1), 38–47.
- Kim, S., Yoo, Y., Kim, H., Lee, E., & Lee, J. Y. 2015. "Reduction of graphene oxide / alginate composite hydrogels for enhanced adsorption of hydrophobic compounds". *Nanotechnology*, 405602.
- Lasocka, I., Szulc-Dąbrowska, L., Skibniewski, M., Skibniewska, E., Strupinski, W., Pasternak, I., ... Kowalczyk, P. 2018. "Biocompatibility of pristine graphene monolayer: Scaffold for fibroblasts". *Toxicology in Vitro*, 48(02), 276–285.
- Lee, K. Y., & Mooney, D. J. 2013. "Alginate : properties and biomedical applications". *Prog Polym Sci*, 37(1), 106–126.
- Liu, M., Zeng, X., Ma, C., Yi, H., Ali, Z., Mou, X., He, N. 2017. "Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering". *Bone Research*, 5, 17014.
-

-
- Mahanani, E. S. 2013. "Perancah Hidrogel untuk Aplikasi Rekayasa Jaringan Tulang *Hydrogel Scaffold for Bone Tissue Engineering Application*". **Universitas Muhammadiyah Yogyakarta**, 2(2), 51–56.
- Maitra, J., & Shukla, V. K. 2014. "Cross-linking in Hydrogels - A Review". **Journal of Polymer Science**, 4(2), 25–31.
- Mohandas, A., PT, S. K., Raja, B., Lakshmanan, V.-K., & Jayakumar, R. 2015. "Exploration of alginate hydrogel / nano zinc oxide composite bandages for infected wounds". **Nanomedicine**, 10, 53–66.
- Nalini, T., Basha, S. K., Mohamed Sadiq, A. M., Kumari, V. S., & Kaviyarasu, K. 2019. "Development and characterization of alginate / chitosan nanoparticulate system for hydrophobic drug encapsulation". **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, 52(03), 65–72.
- O'Brien, F. J. 2011. "Biomaterials & scaffolds for tissue engineering". **Materials Today**, 14(3), 88–95.
- Ou, L., Song, B., Liang, H., Liu, J., Feng, X., Deng, B., Shao, L. 2016. "Toxicity of graphene-family nanoparticles: A general review of the origins and mechanisms". **Particle and Fibre Toxicology**, 13(1).
- Pagán, R., & Mackey, B. 2000. "Relationship between membrane damage and cell death in pressure-treated *Escherichia coli* cells: Differences between exponential- and stationary-phase cells and variation among strains". **Applied and Environmental Microbiology**, 66(7), 2829–2834.
- Patravale, V., Dandekar, P., & Jain, R. 2012. "Nanotoxicology: evaluating toxicity potential of drug-nanoparticles". **Nanoparticulate Drug Delivery** (pp. 123–155).
- Pawar, S. N., & Edgar, K. J. 2012. "Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications". **Biomaterials**, 33(11), 3279–3305.
- Piluharto, B., Sjaifullah, A., Rahmawati, I., & Nurharianto, E. 2017. "Membran Blend Kitosan/Poli Vinil Alkohol (PVA): Pengaruh Komposisi Material Blend, pH, dan Konsentrasi
-

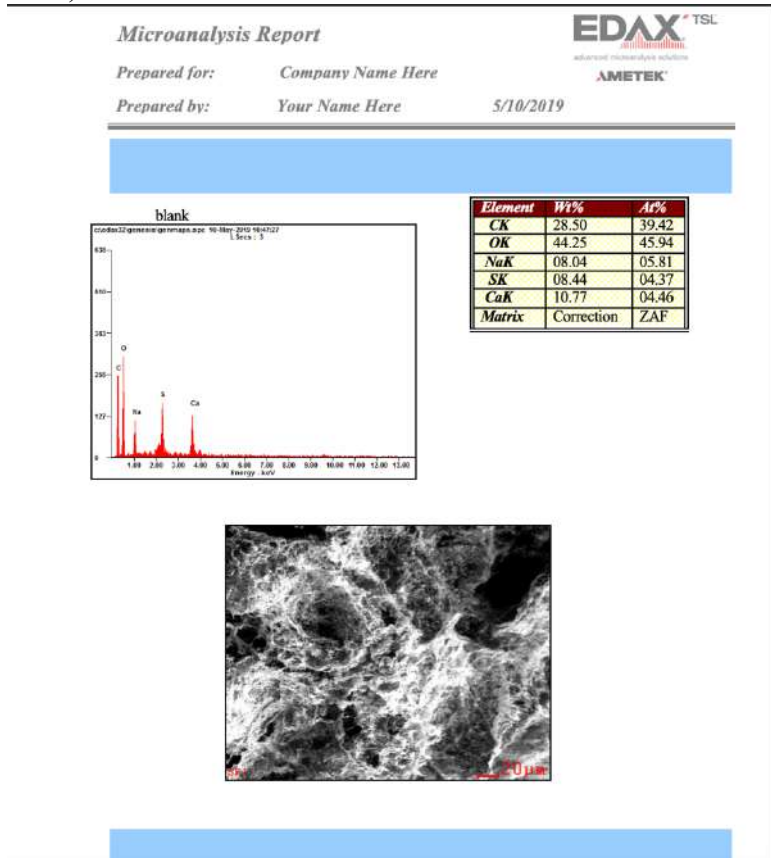
-
- Bahan Pengikat Silang". **Jurnal Kimia Riset**, 2(2), 77–85.
- Pradipta, T., Wicaksono, S. T., & Rasyida, A. 2019. "Studi Pengaruh Penambahan PVA dan Bentonit Terhadap Morfologi dan Sifat Fisik Komposit Berbasis Hidrogel Alginat Sebagai Kandidat Material Perancah Untuk Regenerasi Tulang Rawan". **Jurnal Teknik ITS**, 7(2).
- Reddy, S., Xu, X., He, L., & Ramakrishana, S. 2018. "Allotropic carbon (graphene oxide and reduced graphene oxide) based biomaterials for neural regeneration". **Current Opinion in Biomedical Engineering**.
- Reza Rezaie, H., Bakhtiari, L., & Öchsner, A. 2015. **Biomaterials and Their Applications**.
- Sachan, N. K., Pushkar, S., Jha, A., & Bhattacharya, A. 2009. "Sodium alginate : the wonder polymer for controlled drug delivery". **J. Pharm. Res.**, 2(7), 1191–1199.
- Serrano-Aroca, Á., Iskandar, L., & Deb, S. 2018. "Green synthetic routes to alginate-graphene oxide composite hydrogels with enhanced physical properties for bioengineering applications". **European Polymer Journal**, 103(03), 198–206.
- Shin, S. R., Aghaei-Ghareh-Bolagh, B., Dang, T. T., Topkaya, S. N., Gao, X., Yang, S. Y., Khademhosseini, A. 2013. "Cell-laden microengineered and mechanically tunable hybrid hydrogels of gelatin and graphene oxide". **Advanced Materials**, 25(44), 6385–6391.
- Sonker, A. K., Rathore, K., Nagarale, R. K., & Verma, V. 2017. "Crosslinking of Polyvinyl Alcohol (PVA) and Effect of Crosslinker Shape (Aliphatic and Aromatic) Thereof". **Journal of Polymers and the Environment**.
- Sonker, A. K., Tiwari, N., Nagarale, R. K., & Verma, V. 2016. "Synergistic Effect of Cellulose Nanowhiskers Reinforcement and Dicarboxylic Acids Crosslinking Towards Polyvinyl Alcohol Properties". **Journal of Polymer Science**, 1–11.
- Stauffer, S. R., & Peppast, N. A. 1992. "Poly(vinyl alcohol)
-

-
- hydrogels prepared by freezing-thawing cyclic processing". **Polymer**, 33(18), 3932–3936.
- Tabish, T. A., Pranjol, M. Z. I., Jabeen, F., Abdullah, T., Latif, A., Khalid, A., Zhang, S. 2018. "Investigation into the toxic effects of graphene nanopores on lung cancer cells and biological tissues". **Applied Materials Today**, 12, 389–401
- Tchobanian, A., Oosterwyck, H. Van, & Fardim, P. 2019. "Polysaccharides for tissue engineering : Current landscape and future prospects". **Carbohydrate Polymers**, 205(06), 601–625.
- Thoden, J. B., Timson, D. J., Reece, R. J., & Holden, H. M. 2005. "Molecular structure of human galactokinase: Implications for type II galactosemia". **Journal of Biological Chemistry**, 280(10), 9662–9670.
- Wang, K., Ruan, J., Song, H., Zhang, J., Wo, Y., Guo, S., & Cui, D. 2011. "Biocompatibility of Graphene Oxide". **Nanoscale Research Letters**, 6(1), 1–8.
- Yang, C., Liu, Z., Chen, C., Shi, K., Zhang, L., Ju, Xi.-J., Chu, L.-Y. 2017. "Reduced Graphene Oxide-Containing Smart Hydrogels with Excellent Electro-Response and Mechanical Properties for Soft Actuators". **Applied Materials**, 9, 15758–15767.
- Zhang, L., Wang, Z., Xu, C., Li, Y., Gao, J., Wang, W., & Liu, Y. 2011. "High strength graphene oxide/polyvinyl alcohol composite hydrogels". **Journal of Materials Chemistry**, 21(28), 10399–10406.
- Zhao, Y., Shen, W., Chen, Z., & Wu, T. 2016. "Freeze-thaw induced gelation of alginates". **Carbohydrate Polymers**, 148, 45–51.
- Zia, F., Sobhani, H., Mohammadi, M., Athar, M., Afzal, M., Sultana, T., & Shchipunov, Y. 2017. "Alginate-Based Hybrid Nanocomposite Materials". **Algae Based Polymers, Blends, and Composites: Chemistry, Biotechnology and Materials Science**.
-

LAMPIRAN

A. Hasil Pengujian SEM-EDX

a) Penambahan 0% rGO



Gambar 1 Pengujian SEM-EDX Sampel 0% rGO

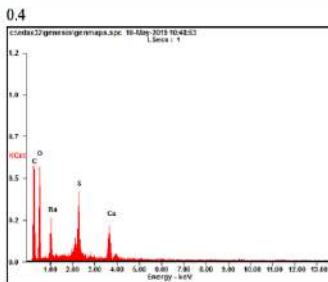
b) Penambahan 0,4% rGO

Microanalysis Report

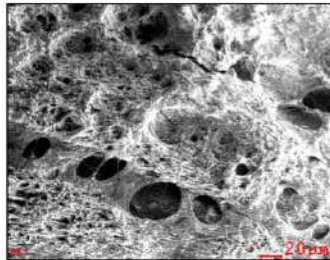
Prepared for: *Company Name Here*

Prepared by: *Your Name Here* 5/10/2019

EDAX[™] TSL
ANALYTICAL TECHNOLOGIES SERVICE
AMETEK

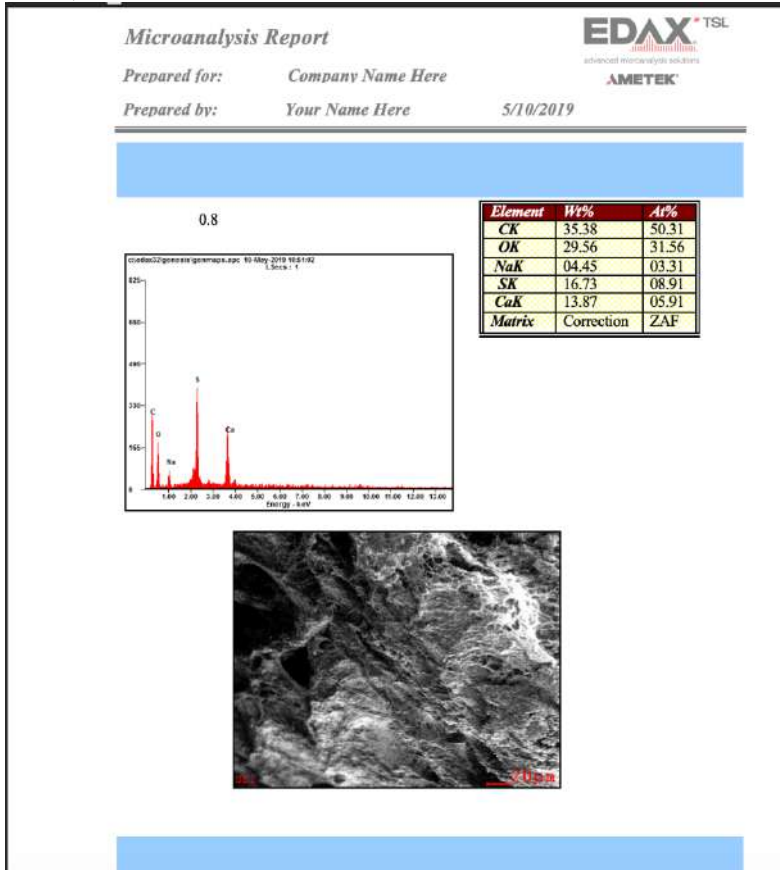


Element	Wt%	At%
CK	32.41	43.76
OK	42.03	42.60
NaK	07.65	05.39
SK	09.82	04.97
CaK	08.09	03.27
Matrix	Correction	ZAF



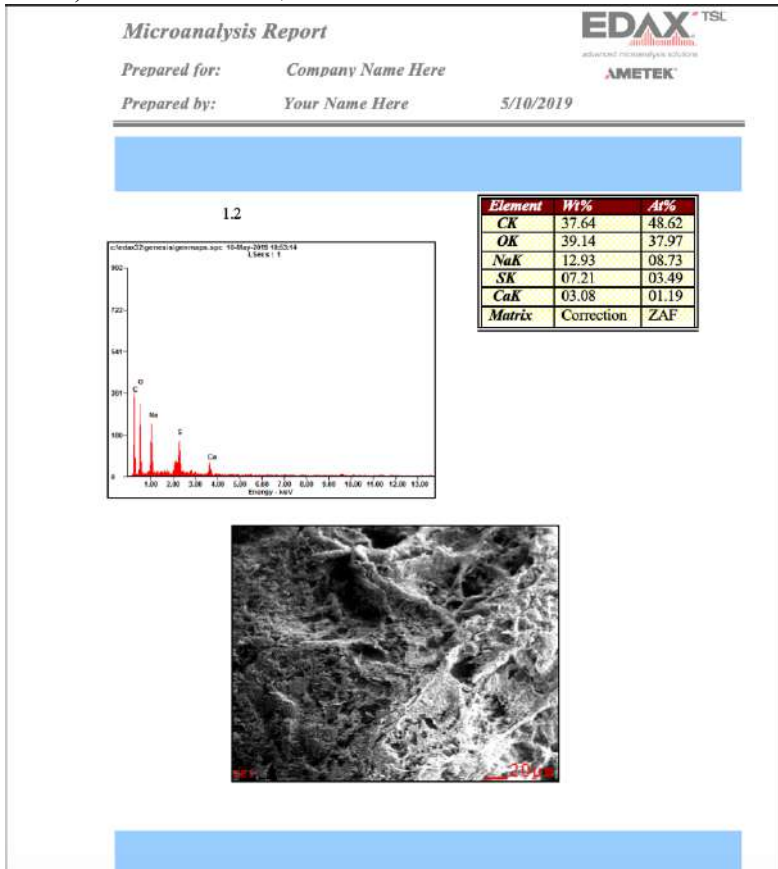
Gambar 2 Pengujian SEM-EDX Sampel 0,4% rGO

c) Penambahan 0,8% rGO



Gambar 3 Pengujian SEM-EDX Sampel 0,8% rGO

d) Penambahan 1,2% rGO



Gambar 4 Pengujian SEM-EDX Sampel 1,2% rGO

e) Penambahan 1,6% rGO

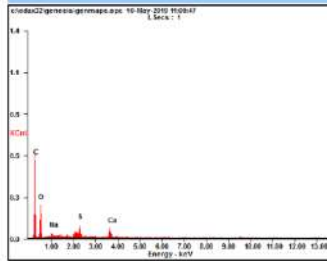
Microanalysis Report



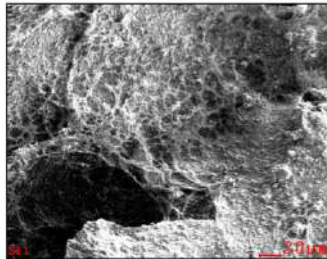
Prepared for: *Company Name Here*

Prepared by: *Your Name Here*

5/10/2019



Element	Wt%	At%
CK	46.77	57.01
OK	40.77	37.31
NaK	02.90	01.85
SK	03.75	01.71
CuK	05.80	02.12
Matrix	Correction	ZAF



Gambar 5 Pengujian SEM-EDX Sampel 1,6% rGO

B. Hasil Pengujian Cell Viability Test

Tabel 1 Tabel Hasil Uji Anti Bakteri Hidrogel PVA/Silikon Rubber RTV585

Kolom	Kontrol Sel		0% rGO	0% rGO	0,4% rGO	0,4% rGO	0,8% rGO	0,8% rGO	1,2% rGO	1,2% rGO	1,6% rGO	1,6% rGO	OD Media	OD Sampel
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
A	0,1 64	0,1 5	0,1 32	0,1 36	0,1 43	0,1 49	0,1 92	0,1 79	0,1 67	0,1 35	0,1 39	0,1 43	0,051	0,05 3
B	0,1 57	0,1 66	0,1 44	0,1 2	0,1 79	0,1 35	0,2 27	0,1 37	0,1 54	0,1 55	0,1 3	0,1 24	0,055	0,05
C	0,1 55	0,1 52	0,1 67	0,1 36	0,1 53	0,1 78	0,1 89	0,1 55	0,1 39	0,1 45	0,1 35	0,1 68	0,058	0,05 3
D	0,2 03	0,1 98	0,2 27	0,1 88	0,1 75	0,2 0,2	0,2 04	0,3 22	0,1 79	0,2 22	0,1 71	0,1 55	0,072	0,08 4
E	0,1 35	0,1 41	0,1 08	0,1 72	0,1 69	0,1 35	0,1 45	0,1 72	0,1 87	0,2 02	0,1 59	0,1 58	0,078	0,06 3
F	0,1 77	0,1 87	0,1 36	0,1 69	0,2 6	0,1 79	0,1 59	0,1 95	0,1 27	0,2 17	0,1 71	0,1 76	0,053	0,05 3

G	0,1 41	0,1 55	0,1 13	0,1 58	0,2 62	0,1 41	0,1 37	0,1 66	0,1 49	0,1 56	0,1 37	0,1 38	0,074	0,07 7
H	0,0 89	0,0 91	0,1 19	0,1 57	0,2 15	0,1 39	0,1 32	0,0 87	0,1 82	0,1 52	0,1 37	0,2 24	0,059	0,06 7
Rata - rata	0,154		0,149		0,176		0,175		0,167		0,154		0,062	0,06 13

Lalu Viabilitas Sel dapat dihitung dengan persamaan 3.1.

- a) Perhitungan Viabilitas Sel Sampel 0% rGO

$$\begin{aligned}
 & \text{Cell Viability} \\
 &= \left(\frac{OD \text{ Sampel} - OD \text{ Kontrol Sampel}}{OD \text{ Kontrol Sel} - OD \text{ Kontrol Media}} \right) \times 100 \% \\
 & \text{Cell Viability} = \left(\frac{0.149 - 0.0613}{0.154 - 0.062} \right) \times 100 \% \\
 & \text{Cell Viability} = 93,94 \%
 \end{aligned}$$

- b) Perhitungan Viabilitas Sel Sampel 0,4% rGO

$$\begin{aligned}
 & \text{Cell Viability} \\
 &= \left(\frac{OD \text{ Sampel} - OD \text{ Kontrol Sampel}}{OD \text{ Kontrol Sel} - OD \text{ Kontrol Media}} \right) \times 100 \% \\
 & \text{Cell Viability} = \left(\frac{0.176 - 0.0613}{0.154 - 0.062} \right) \times 100 \% \\
 & \text{Cell Viability} = 123,00 \%
 \end{aligned}$$

- c) Perhitungan Viabilitas Sel Sampel 0,8% rGO

$$\begin{aligned}
 & \text{Cell Viability} \\
 &= \left(\frac{OD \text{ Sampel} - OD \text{ Kontrol Sampel}}{OD \text{ Kontrol Sel} - OD \text{ Kontrol Media}} \right) \times 100 \% \\
 & \text{Cell Viability} = \left(\frac{0.175 - 0.0613}{0.154 - 0.062} \right) \times 100 \% \\
 & \text{Cell Viability} = 122,05 \%
 \end{aligned}$$

- d) Perhitungan Viabilitas Sel Sampel 1,2% rGO

$$\begin{aligned}
 & \text{Cell Viability} \\
 &= \left(\frac{OD \text{ Sampel} - OD \text{ Kontrol Sampel}}{OD \text{ Kontrol Sel} - OD \text{ Kontrol Media}} \right) \times 100 \% \\
 & \text{Cell Viability} = \left(\frac{0.167 - 0.0613}{0.154 - 0.062} \right) \times 100 \% \\
 & \text{Cell Viability} = 122,05 \%
 \end{aligned}$$

e) Perhitungan Viabilitas Sel Sampel 1,6% rGO

Cell Viability

$$= \left(\frac{OD \text{ Sampel} - OD \text{ Kontrol Sampel}}{OD \text{ Kontrol Sel} - OD \text{ Kontrol Media}} \right) \times 100 \%$$

$$Cell \text{ Viability} = \left(\frac{0.154 - 0.0613}{0.154 - 0.062} \right) \times 100 \%$$

$$Cell \text{ Viability} = 99,55 \%$$

C. Pengolahan Data Uji Degradasi Hidrolitik

Tabel 2 Berat Sampel

	Variabel Sampel	No Sampel	Minggu				
			0	1	2	3	4
Dalam Berat (Gram)	0% rGO	1	12,77	12,18	10,55	9,13	8,98
		2	11,17	10,59	9,21	7,95	7,85
		3	9,56	9,21	8	6,93	6,59
	0,4% rGO	1	14,46	13,96	13,35	12,63	11,21
		2	12,25	12,05	11,81	11,33	9,52
		3	10,48	9,33	8,57	8,17	7,98
	0,8% rGO	1	15,17	14,77	14,25	13,45	11,69
		2	13,52	13,35	13,06	12,52	10,54
		3	13,2	13,05	12,82	12,13	10,46
	1,2% rGO	1	17,63	17,09	16,24	15,25	13,97
		2	14,48	14,26	14,09	13,73	11,89
		3	14,68	13,71	13,05	12,74	11,92
	1,6% rGO	1	12,53	11,56	10,58	9,49	9,31
		2	12,21	11,29	10,36	9,39	9,19
		3	11,96	10,2	9,72	9,13	8,97

Dari data berat maka akan diubah menjadi weight loss berdasarkan persamaan 3.2. contoh perhitungan pada 0% rGO sampel 1 di minggu 1:

Tabel 3 Rasio *Weight Loss*

Variabel Sampel	No Sampel	Minggu			
		1	2	3	4
0% rGO	1	0,046	0,173	0,285	0,422
	2	0,052	0,175	0,288	0,423
	3	0,037	0,163	0,275	0,451
0,4% rGO	1	0,035	0,077	0,127	0,29
	2	0,016	0,036	0,075	0,287
	3	0,109	0,182	0,220	0,313
0,8% rGO	1	0,026	0,060	0,113	0,298
	2	0,013	0,034	0,074	0,283
	3	0,011	0,029	0,081	0,262
1,2% rGO	1	0,031	0,079	0,135	0,261
	2	0,039	0,051	0,075	0,248
	3	0,066	0,111	0,132	0,231
1,6% rGO	1	0,077	0,156	0,243	0,346
	2	0,075	0,152	0,231	0,329
	3	0,147	0,187	0,238	0,336

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

UCAPAN TERIMAKASIH

Saya, Salma Halimah sebagai penulis laporan, mengucapkan terima kasih yang senesar – besarnya dan sesungguhnya – sesungguhnya kepada beberapa pihak yang telah membantu menyelesaikan laporan ini, dan membantu banyak hal dalam pengembangan diri penulis.

1. Orang tua Penulis yaitu Bapak terhormat Akhiyat Mujayin dan Ibu tercinta Rusdarminah serta Saudar-saudara tersayang Syafiq, Husna, Ulfah, Shabrina, dan Fathma Hanun yang telah memberikan dukungan mereka secara moral maupun materi, dan selalu mengawasi dan mendoakan dari belakang.
2. Saudara Yohannes Marudut T. M selaku partner dalam pelaksanaan Tugas Akhir yang senantiasa memberikan saran, ide selama pelaksanaan Tugas Akhir
3. Teman – Teman anggota proyek *IVD Replacement* Yohannes, Salma, Gabriel, Fikri yang telah bersama meneliti, belajar dalam bimbingan Bu Amaliya Rasyida
4. Teman – teman anggota Laboratorium Material inovatif, Lutfi, Umam, Widodo, Amir, Faris, Galih, Bakhtiar, Hayat, Fauzi yang telah menemani penulis berjuang dan berdiskusi dalam penyusunan tugas akhir.
5. Teman – Teman SC Anak Masjid. Afif, Zaid, Ammar, Apoy, Hilman, Nabil, Ihzat, Habli, Junda karena telah memberikan semangat dan ilmu kepada penulis.
6. Seluruh elemen dosen dan karyawan Departemen Teknik Material yang telah membantu kelancaran penulisan tugas akhir.
7. Dan seluruh pihak – pihak lain yang telah membantu kelancaran penyusunan tugas akhir.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BIODATA PENULIS



Salma Halimah, lahir di Jakarta, pada tanggal 28 Desember 1996, merupakan puteri dari Bapak Akhiyat Mujayin dan Ibu Rusdarminah. Dalam keluarga, penulis merupakan anak ketiga dari enam bersaudara. Penulis memiliki riwayat pendidikan SD Ngaliyan 03, Semarang, MTs Husnul Khotimah dan MA Husnul Khotimah, lalu kemudian berkuliah di Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Penulis aktif menjadi panitia di beberapa kepanitiaan di ITS, seperti ITS EXPO, serta PAMMITS. Penulis juga pernah menjadi bagian dari organisasi BK MWA WM, dan menduduki amanah asisten sekertaris jenderal bagian internal. Penulis pernah melakukan program pertukaran mahasiswa khusus riset di *Shibaura Institut of Technology* di bagian departemen *Bioscience and Bioengineering*, dengan topik riset *Evaluation of Inflammation Using Collagen Seeded T-reg Cell Hydrogel*.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)