



**PENGARUH PENAMBAHAN *SILK FIBROIN* TERHADAP  
KARAKTERISTIK *SCAFFOLD DENTAL GYPSUM*  
*HYDROXYAPATITE-GELATIN***

**SKRIPSI**

Oleh

**Aisya Nurrachma**

**NIM 161610101106**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**



**PENGARUH PENAMBAHAN *SILK FIBROIN* TERHADAP  
KARAKTERISTIK *SCAFFOLD DENTAL GYPSUM*  
*HYDROXYAPATITE-GELATIN***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

**Aisya Nurrachma**

**NIM 161610101106**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

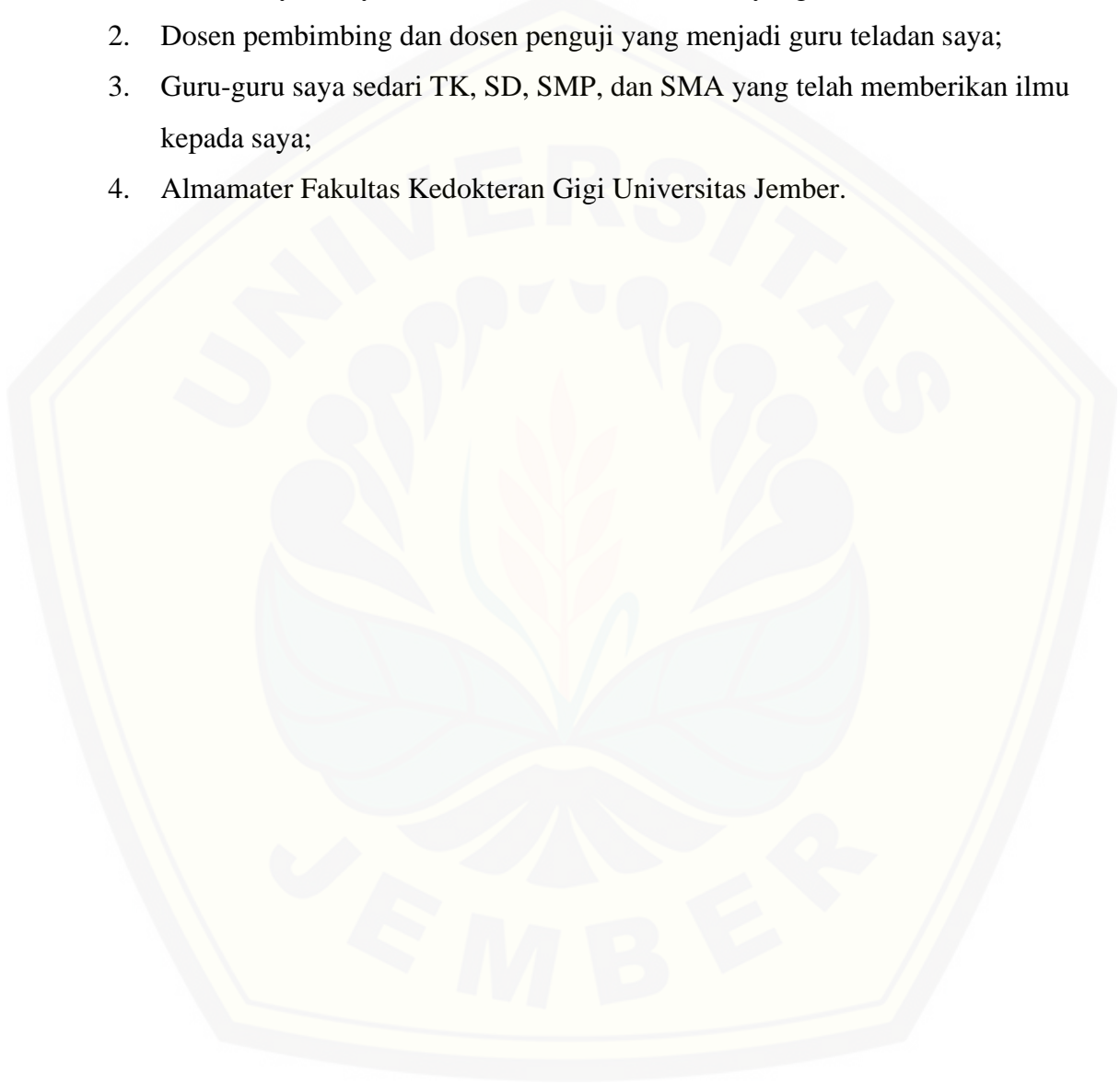
**UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**

**PERSEMBAHAN**

Karya tulis skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Sayuti, Ayahanda Rochim, dan Adik Zain yang tercinta;
2. Dosen pembimbing dan dosen penguji yang menjadi guru teladan saya;
3. Guru-guru saya sedari TK, SD, SMP, dan SMA yang telah memberikan ilmu kepada saya;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



**MOTTO**

*“Extraordinary things only happen to extraordinary people” (C.S. Lewis)\**

“Belajarlah mengucap syukur dari hal-hal baik di hidupmu, dan belajarlah menjadi kuat dari hal-hal buruk di hidupmu” (Bacharuddin Jusuf Habibie)\*\*



---

\* C.S. Lewis, penulis novel fiksi

\*\* Bacharuddin Jusuf Habibie, Presiden ke-3 Republik Indonesia

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aisyah Nurrachma

NIM : 161610101106

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Penambahan *Silk Fibroin* terhadap Karakteristik *Scaffold Dental Gypsum Hydroxyapatite-Gelatin*” adalah benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya plagiat. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 29 Mei 2020

Yang menyatakan,

Aisyah Nurrachma

NIM 161610101106

**SKRIPSI**

**PENGARUH PENAMBAHAN *SILK FIBROIN* TERHADAP  
KARAKTERISTIK *SCAFFOLD DENTAL GYPSUM*  
*HYDROXYAPATITE-GELATIN***

Oleh

Aisya Nurrachma

NIM 161610101106

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Yenny Yustisia, M.Biotech.  
Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MDSc

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengaruh Penambahan *Silk Fibroin* terhadap Karakteristik *Scaffold Dental Gypsum Hydroxyapatite-Gelatin*” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Jumat, 29 Mei 2020

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

**Tim Penguji:**

Dosen Penguji Utama,

Dosen Penguji Anggota,

Prof. Dr. FX Ady Soesetijo, drg., Sp.Prof.  
NIP. 196005091987021001

Dr. drg. Amiyatun Naini, M.Kes  
NIP. 197112261999032001

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Pendamping,

drg. Yenny Yustisia, M.Biotech  
NIP. 197903252005012001

drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MDSc  
NIP. 197905052005011005

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prof.  
NIP. 196990112199601101



## RINGKASAN

**Pengaruh Penambahan *Silk Fibroin* terhadap Karakteristik *Scaffold Dental Gypsum Hydroxyapatite-Gelatin***; Aisyah Nurrachma; 161610101106; 2020; 83 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Terdapat kasus defek tulang luas yang dapat terjadi akibat adanya kelainan gigi dan mulut seperti periodontitis kronis, fraktur, dan sebagainya menyebabkan tingginya kebutuhan *bonegraft* sebagai bahan substitusi tulang. *Bonegraft* dibuat dalam bentuk *scaffold* 3 dimensi sebagai media pertumbuhan tulang baru. *Scaffold* adalah kerangka 3 dimensi sementara yang menyediakan lingkungan bagi pertumbuhan sel, migrasi, adhesi sel, angiogenesis, dan pertumbuhan jaringan baru. Oleh karena itu *scaffold* harus memiliki karakteristik tertentu agar sesuai dengan tubuh yaitu biokompatibel, biodegradable, tidak toksik, kekuatan mekanik baik, osteokonduktif, osteoinduktif, dan porositas yang ideal. Hidroksiapatit merupakan salah satu material yang terdapat pada jaringan tulang dan gigi manusia sehingga dapat digunakan sebagai material *scaffold*. Hidroksiapatit (HA) dapat disintesis dari berbagai macam sumber salah satunya *dental gypsum* tipe II (DGHA II). Akan tetapi *scaffold* DGHA II ini masih memiliki kekurangan yaitu bersifat *brittle* dan memiliki porositas serta kekuatan mekanik yang rendah. Untuk meningkatkan kualitas dari *scaffold* maka perlu ditambahkan bahan polimer lain seperti gelatin yang dapat mendukung proliferasi, adhesi sel, dan sifat plastis agar tidak terlalu kaku serta *silk fibroin* yang dapat mendukung kekuatan mekanik dari *scaffold*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik *scaffold dental gypsum hydroxyapatite* yang dikombinasikan dengan gelatin dan *silk fibroin* yang dibuat menggunakan metode *freeze drying*.

Sampel yang digunakan adalah serbuk hidroksiapatit limbah dental gipsum tipe II, gelatin, dan *silk fibroin* dengan konsentrasi *silk fibroin* berbeda yang kemudian dibekukan dalam waktu 1 jam setelah itu dilakukan *freeze dry* bersuhu -84°C selama 24 jam. Kemudian hasil sintesis *scaffold* dilakukan uji SEM, uji FTIR,



uji porositas, dan uji kekuatan tekan untuk mengetahui karakteristiknya

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh kelompok sampel memiliki karakteristik yang berbeda. Hasil uji SEM didapatkan semua kelompok memiliki tepi pori irregular, ukuran pori yang tidak homogen, dan struktur pori yang terkoneksi. Hasil uji FTIR menunjukkan bahwa seluruh kelompok sampel memiliki gugus fungsi penyusun yang sama. Hasil uji porositas menunjukkan sampel dengan konsentrasi *silk fibroin* tertinggi memiliki porositas yang tinggi dibandingkan dengan sampel lain dengan konsentrasi *silk fibroin* lebih rendah tetapi dengan perbedaan yang tidak signifikan. Hasil uji kekuatan tekan menunjukkan sampel dengan konsentrasi *silk fibroin* tertinggi memiliki kekuatan tekan yang tinggi dibandingkan dengan kelompok sampel lain dengan konsentrasi *silk fibroin* lebih rendah dengan perbedaan yang signifikan.

Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa seluruh kelompok *scaffold* dapat digunakan sebagai material pengganti tulang, akan tetapi masih perlu penelitian lebih lanjut agar karakteristiknya lebih baik.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah swt. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Pengaruh Penambahan *Silk Fibroin* terhadap Karakteristik *Scaffold Dental Gypsum Hydroxyapatite-Gelatin*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah swt. karena atas limpahan rahmat dan pertolongan-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Nabi Muhammad saw. yang menjadi suri tauladan yang menuntun umat Islam menuju jalan terang benderang;
3. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. drg. Yenny Yustisia, M.Biotech., selaku Dosen Pembimbing Utama sekaligus Dosen Pembimbing Akademik saya yang telah banyak memberikan bimbingan, saran, motivasi, serta melibatkan penulis dalam penelitiannya;
5. drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MDSc., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberikan bimbingan, saran, motivasi, serta melibatkan penulis dalam penelitiannya;
6. Prof. Dr. drg. FX Ady Soesetijo, Sp. Pros., selaku Dosen Penguji Utama yang telah memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
7. Dr. drg. Amiyatun Naini, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
8. Ibu dan Ayah saya tercinta, Sayuti dan Rochim Andri Fibria, yang selalu memberi dukungan, doa, motivasi, cinta, dan segalanya untuk saya;
9. Adik saya, Zain Nur Ramadhian, yang saya sayangi;
10. Teman-teman SD, SMP, SMA, dan e55 Teknik Elektro ITS Angkatan 2015 yang memberikan dukungan kepada saya dan telah kebersamaan dalam menuntut ilmu;

11. Tim DGHA 4, Risna dan Fitri yang selalu bersama dalam suka, duka, jatuh, dan bangun selama penelitian dan penyusunan skripsi;
12. Teman-teman dekat saya selama kuliah di FKG UNEJ, Ibek, Nancy, Diva, Fitri, Risna, Hasna, Brina, Nadiah, Saras, dan Ajeng yang selalu mendukung dan memotivasi saya;
13. Seluruh mahasiswa DEXTRA angkatan 2016 atas kekompakannya serta semangatnya dalam menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Gigi UNEJ;
14. Semua pihak yang ikut terlibat secara langsung maupun tidak langsung yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terima kasih banyak.

Jember, 29 Mei 2020

Penulis

**DAFTAR ISI**

|   |      |
|---|------|
| <b>HALAMAN JUDUL</b> .....                                      | i    |
| <b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....                                | iii  |
| <b>HALAMAN MOTTO</b> .....                                      | iv   |
| <b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....                                 | v    |
| <b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....                               | vi   |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....                                 | vii  |
| <b>RINGKASAN</b> .....  | viii |
| <b>PRAKATA</b> .....  | x    |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....   | xii  |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....                                      | xv   |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....                                       | xvi  |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....                                    | xvii |
| <b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....                                 | 1    |
| 1.1 Latar Belakang .....  | 1    |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                                       | 3    |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                                     | 3    |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....                                    | 3    |
| <b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....                            | 5    |
| 2.1 <i>Bone Graft</i> .....                                     | 5    |
| 2.2 Hidroksiapatit .....  | 5    |
| 2.3 Hidroksiapatit Sintesis Limbah Gypsum Kedokteran Gigi ..... | 7    |
| 2.4 Gelatin .....   | 8    |
| 2.5 <i>Silk Fibroin</i> .....                                   | 9    |
| 2.6 <i>Scaffold</i> 3 Dimensi .....                             | 13   |
| 2.7 <i>Scaffold</i> Hidroksiapatit .....                        | 15   |
| 2.8 <i>Scaffold</i> HA-Gelatin .....                            | 17   |

|  |           |
|--|-----------|
| 2.9 Scaffold HA-Gelatin-Silk Fibroin .....                     | 17        |
| 2.10 Metode Freeze drying .....                                | 19        |
| 2.11 Uji SEM .....   | 20        |
| 2.12 Uji FTIR .....  | 20        |
| 2.13 Uji Mekanik .....   | 22        |
| 2.14 Kerangka Konsep .....                                     | 23        |
| 2.15 Hipotesis .....   | 23        |
| <b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>                          | <b>24</b> |
| 3.1 Jenis Penelitian .....                                     | 24        |
| 3.2 Rancangan Penelitian .....                                 | 24        |
| 3.3 Waktu dan Tempat Penelitian .....                          | 24        |
| 3.4 Identifikasi Variabel Penelitian .....                     | 31        |
| 3.4.1 Variabel Bebas .....                                     | 31        |
| 3.4.2 Variabel Terikat .....                                   | 32        |
| 3.4.3 Variabel Kontrol .....                                   | 32        |
| 3.5 Definisi Operasional Variabel .....                        | 32        |
| 3.6 Pengambilan Sampel .....                                   | 33        |
| 3.6.1 Populasi .....   | 33        |
| 3.6.2 Teknik Pengambilan Sampel .....                          | 33        |
| 3.6.3 Pengelompokkan Sampel .....                              | 33        |
| 3.7 Alat dan Bahan Penelitian .....                            | 34        |
| 3.8 Prosedur Penelitian .....                                  | 25        |
| 3.8.1 Persiapan Alat dan Bahan .....                           | 25        |
| 3.8.2 Sterilisasi Alat .....                                   | 26        |
| 3.8.3 Pembuatan Sampel <i>Silk Fibroin</i> .....               | 26        |
| 3.8.4 Pembuatan Sampel DGHA-Gelatin- <i>Silk Fibroin</i> ..... | 27        |
| 3.8.5 Uji Karakterisasi dengan SEM dan <i>ImageJ</i> .....     | 28        |
| 3.8.6 Uji FTIR .....   | 30        |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.8.7 Uji Porositas .....                | 34        |
| 3.8.7 Uji Sifat Mekanik .....            | 36        |
| 3.9 Analisis Data .....                  | 36        |
| 3.10 Alur Penelitian .....               | 38        |
| <b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b> | <b>39</b> |
| 4.1 Hasil dan Analisa Penelitian .....   | 39        |
| 4.1.1 Hasil Karakterisasi SEM .....      | 39        |
| 4.1.2 Hasil Uji FTIR .....               | 40        |
| 4.1.3 Hasil Uji Porositas .....          | 43        |
| 4.1.4 Hasil Uji Sifat Mekanik .....      | 45        |
| 4.2 Pembahasan .....                     | 49        |
| <b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b> | <b>57</b> |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>              | <b>59</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>                     | <b>66</b> |



**DAFTAR GAMBAR**

|   | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Struktur kristal Hidroksiapatit .....                               | 5       |
| 2.2 Struktur Hidroksiapatit pada Gigi .....                             | 5       |
| 2.3 Struktur kimia gelatin .....  | 7       |
| 2.4 Struktur kokon <i>Bombyx morii</i> .....                            | 9       |
| 2.5 Struktur kimia <i>silk fibroin</i> .....                            | 10      |
| 2.6 Prosedur ekstraksi <i>silk fibroin</i> .....                        | 11      |
| 2.7 Hasil spektra FTIR serbuk DGHA tipe II .....                        | 15      |
| 2.8 Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit .....                            | 15      |
| 2.9 Contoh Hasil SEM <i>Scaffold</i> .....                              | 19      |
| 2.10 Contoh Hasil Uji FTIR <i>Scaffold</i> Hidroksiapatit-Gelatin ..... | 21      |
| 3.1 Skema rancangan penelitian uji porositas dan uji kekuatan tekan ..  | 30      |
| 4.1 <i>Scaffold</i> DGHA-Gelatin- <i>Silk Fibroin</i> .....             | 38      |
| 4.2 Hasil SEM <i>Scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....                     | 39      |
| 4.3 Spektrum FTIR <i>Scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF 2,8% .....            | 41      |
| 4.4 Spektrum FTIR <i>Scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF 2% .....              | 41      |
| 4.5 Spektrum FTIR <i>Scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF 1,2% .....            | 42      |
| 4.6 Grafik prosentase porositas <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....   | 44      |
| 4.7 Grafik kekuatan tekan <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....         | 46      |

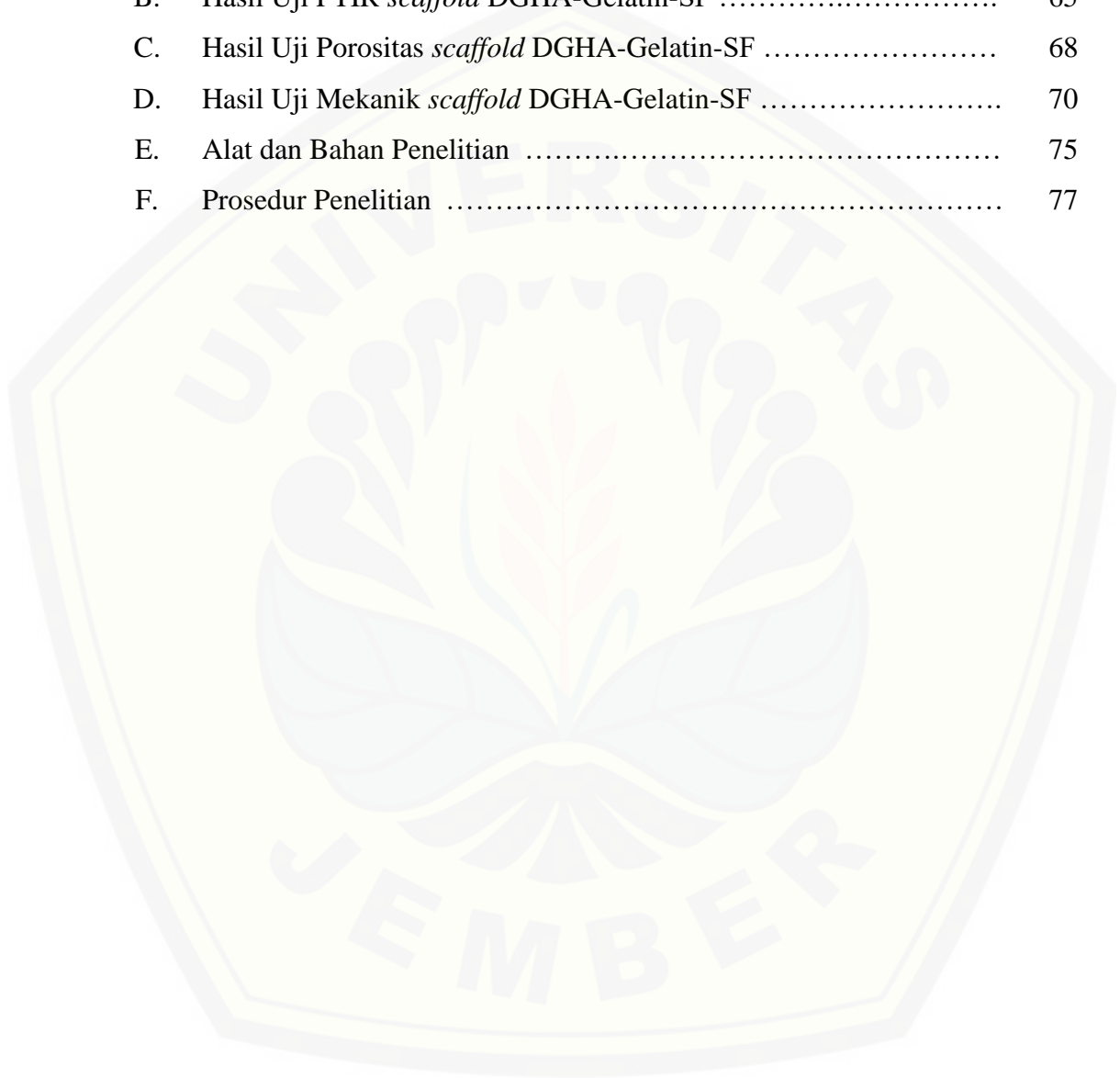


**DAFTAR TABEL**

|   | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Daerah amida dan panjang gelombang protein penyusun <i>Silk Fibroin</i>                         | 10      |
| 4.1 Diameter Pori <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....   | 40      |
| 4.2 Luas pori <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....   | 40      |
| 4.3 Prosentase porositas <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin- <i>Silk Fibroin</i> .....                    | 44      |
| 4.4 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro wilk</i> Porositas <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....        | 44      |
| 4.5 Hasil Uji Homogenitas <i>levene's test</i> Porositas <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....      | 44      |
| 4.6 Hasil uji <i>one way anova</i> Porositas <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....                  | 45      |
| 4.7 Hasil uji Kekuatan Tekan <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....                                  | 45      |
| 4.8 Hasil uji normalitas <i>Shapiro wilk</i> Kekuatan Tekan <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....   | 46      |
| 4.9 Hasil uji homogenitas <i>levene's test</i> Kekuatan Tekan <i>Scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF ..... | 46      |
| 4.10 Hasil uji <i>one way anova</i> Kekuatan Tekan <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....            | 47      |
| 4.11 Hasil uji LSD Kekuatan Tekan <i>Scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....                             | 47      |
| 4.12 Karakteristik <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....  | 48      |

**DAFTAR LAMPIRAN**

|  | Halaman |
|--|---------|
| A. Hasil Uji SEM <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF.....        | 62      |
| B. Hasil Uji FTIR <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....      | 65      |
| C. Hasil Uji Porositas <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF ..... | 68      |
| D. Hasil Uji Mekanik <i>scaffold</i> DGHA-Gelatin-SF .....   | 70      |
| E. Alat dan Bahan Penelitian .....                           | 75      |
| F. Prosedur Penelitian .....                                 | 77      |



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Dalam bidang kedokteran gigi, terdapat beberapa kasus defek tulang luas yang diakibatkan karena kasus reseksi mandibular, fraktur, *cleft alveolar*, *cleft palate*, dan penyakit periodontal atau periodontitis (Sugiyono *et al.*, 2012; Mahanani, 2013; Park *et al.*, 2016). Prevalensi dari periodontitis terutama di Indonesia masih terbilang tinggi. Data RISKESDAS tahun 2018 menunjukkan persentase kasus periodontitis di Indonesia sebesar 74,1% (KEMENKES, 2018). Penyakit periodontitis ini dapat menyebabkan terjadinya kerusakan atau defek tulang yang apabila tidak segera dilakukan perawatan dapat menyebabkan kehilangan gigi. Dalam membantu proses penyembuhan defek tulang tersebut, dapat dilakukan terapi dengan menggunakan material pengganti yaitu *bonegraft*. Tingkat kebutuhan perawatan dengan *bonegraft* masih termasuk tinggi di dunia medis. Berdasarkan data dari kasus fraktur pada pasien yang dirawat di Staf Medis Fungsional (SMF) Ilmu Bedah Rumah Sakit Umum DR. Soetomo Surabaya tahun 2001-2005, kerusakan tulang yang diakibatkan oleh fraktur menunjukkan bahwa pasien kasus fraktur maksilofasial akibat kecelakaan lalu lintas adalah sekitar 64,38%, dan kasus fraktur mandibula serta maksila adalah sekitar 29,85% (Reksoprawiro, 2006). *Bonegraft* dalam bidang kedokteran gigi dapat dimanfaatkan untuk rekonstruksi defek tulang luas pada kasus pasca pencabutan, trauma, penyakit periodontitis kronis, dan periodontitis marginalis.

Dalam aplikasinya, *bonegraft* dibuat dari satu atau beberapa material yang dibentuk menjadi *scaffold*. *Scaffold* merupakan media atau kerangka 3 dimensi sementara yang berperan dalam menyediakan lingkungan untuk membangun dan membantu sel dalam melakukan adhesi, proliferasi, dan diferensiasi yang pada akhirnya menghasilkan jaringan yang diharapkan (Herda, 2016). Syarat pembuatan *scaffold* yang ideal antara lain memiliki sifat osteokonduktif, osteoinduktif, osteogenik, *biodegradable*, mikrostruktur yang baik, kemampuan dalam merangsang adhesi sel, dan sifat mekanik yang tepat (Rahmitasari, 2016).

Salah satu material yang dapat digunakan dalam pembuatan *scaffold* dari

bahan keramik adalah hidroksiapatit. Hidroksiapatit yang digunakan dapat berasal dari limbah dental gipsum tipe II (DGHA II) yang banyak dihasilkan dari sisa penggunaan gipsum tipe II dalam bidang kedokteran gigi. Pemanfaatan DGHA II ini efektif untuk mengurangi pencemaran akibat dari pembuangan limbah dental gipsum. Susunan kristal dalam hidroksiapatit memiliki gambaran yang mirip dengan hidroksiapatit pada tulang. Material ini bersifat biokompatibel dan osteokonduktif sehingga dapat meningkatkan proses regenerasi tulang (Branzino 2006; Ardhiyanto, 2011). Namun, material hidroksiapatit memiliki sifat biomekanik yang lemah yaitu kekuatan mekanik yang rendah, bersifat *brittle*, dan porositas yang rendah (Tripathi *et al.*, 2012; Milla *et al.*, 2018). Oleh karena itu, hidroksiapatit perlu dikombinasikan dengan bahan biopolimer untuk membentuk *scaffold*. Biopolimer dari alam lebih banyak dipilih sebagai material *scaffold* karena memiliki sifat biokompatibel, *biodegradable*, tidak toksik, dan lebih banyak ketersediaannya dibanding polimer sintetik (Venkatesan *et al.*, 2015; Milla *et al.*, 2018). Salah satu biopolimer yang dapat digunakan adalah gelatin.

Gelatin memiliki sifat biokompatibel, imunogenisitas rendah, plastis, adhesif, dan berperan baik dalam adhesi dan pertumbuhan sel (Islam *et al.* 2015; Li *et al.*, 2017). Gelatin mudah didapatkan di Indonesia karena dapat diekstraksi dari jaringan kolagen kulit dan tulang hewan seperti sapi. Dalam penelitian sebelumnya, telah diteliti mengenai *scaffold* dengan bahan DGHA II dan gelatin menggunakan teknik *freeze dry*. Dari hasil penelitian tersebut didapatkan *scaffold* dengan kombinasi bahan DGHA dan gelatin dapat mengurangi sifat *brittle* dari *scaffold*. Namun *scaffold* ini masih memiliki kekurangan pada kekuatan mekanisnya yang masih berbeda dari kekuatan mekanis tulang sebenarnya, yaitu tulang *cancellous* sebesar 2-12 Mpa dan tulang *cortical* sebesar 30-160 MPa (Indriani, 2014). Oleh karena itu, *scaffold* DGHA-gelatin ini perlu dikombinasikan dengan bahan lain untuk meningkatkan kekuatan mekanisnya. Salah satu bahan yang dapat digunakan adalah *silk fibroin*.

*Silk fibroin* adalah serat protein yang diekstraksi dari kokon ulat sutera (*Bombyx morii*). Di Indonesia sendiri terdapat beberapa peternakan ulat sutera *Bombyx morii* yang mudah ditemukan, salah satunya yang kami gunakan untuk

penelitian ini adalah dari Pusat Pembibitan Ulat Sutera (PPUS) Candiroto, Kabupaten Temanggung, Provinsi Jawa Tengah. Dari penelitian-penelitian sebelumnya diketahui bahwa *silk fibroin* memiliki sifat material yang unggul yang dapat menjadikannya sebagai bahan yang baik untuk biomaterial. Virlan *et al.* (2015), menemukan bahwa *silk fibroin* memiliki sifat-sifat biokompatibilitas dan biodegradabilitas yang tinggi, fleksibel dan stabil dalam lingkungan biologis, memiliki kekuatan mekanik yang adekuat, serta mampu berinteraksi dengan *growth factor*.

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya, penggunaan *silk fibroin* telah terbukti berhasil dalam regenerasi tulang, ligamen, kartilago, diskus intervertebral, dan jaringan ikat *spinal cord* (Nisal, 2018). *Silk fibroin* diketahui dapat meningkatkan kekuatan mekanik dari *scaffold* karena terdapat struktur  $\beta$ -sheet yang bersifat stabil dan kokoh. Jika dibandingkan dengan *scaffold* berbahan gelatin saja, *silk fibroin* mampu memberi stabilitas mekanis yang lebih baik.

Dalam penelitian ini akan diteliti bagaimana karakteristik *scaffold dental gypsum hydroxyapatite* yang dikombinasikan dengan gelatin dan *silk fibroin* menggunakan teknik *freeze drying*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana karakteristik *scaffold dental gypsum hydroxyapatite* yang dikombinasikan dengan gelatin dan *silk fibroin*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui karakteristik *scaffold dental gypsum hydroxyapatite* yang dikombinasikan dengan gelatin dan *silk fibroin*

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi ilmiah tentang karakteristik *silk fibroin* sebagai biomaterial pengganti tulang
2. Memberikan informasi ilmiah tentang karakteristik *scaffold dental gypsum hydroxyapatite* yang dikombinasikan dengan gelatin dan *silk fibroin*

3. Sebagai bahan acuan untuk penelitian selanjutnya mengenai pembuatan *scaffold* dari *dental gypsum hidroksiapatit-gelatin-silk fibroin*





## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Bone Graft*

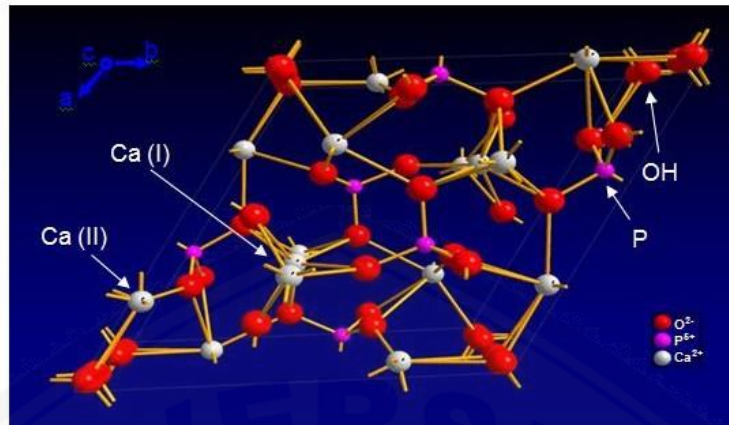
*Bone graft* atau cangkok tulang digunakan untuk mengganti bagian tulang yang mengalami defek atau untuk membantu penyembuhan dari fraktur tulang. Perawatan defek tulang secara *autolog* membutuhkan kuantitas yang besar. Selain itu perawatan defek tulang menggunakan teknik *autograft* dapat beresiko kematian, sehingga beberapa metode perawatan menggunakan material pengganti tulang telah dikembangkan beberapa tahun ini.

Secara teoritis, pengganti cangkok tulang yang ideal harus memiliki karakteristik osteogenik, biokompatibel, dapat diserap secara biologis, mampu memberikan dukungan struktural, mudah digunakan secara klinis dan hemat biaya.

### 2.2 Hidroksiapatit

Hidroksiapatit adalah komponen anorganik utama penyusun jaringan tulang dan gigi. Komposisi tulang secara umum terdiri dari 60% material anorganik, 30% organik dan 10% air. Material anorganik tulang seperti kalsium (Ca) dan fosfor (P) tersedia dalam jumlah yang banyak. Selain itu, terdapat beberapa mineral lain dalam jumlah sedikit antara lain: bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ), magnesium (Mg), natrium (Na), kalium (K), tembaga (Cu), seng (Zn), mangan (Mn), dan lainnya. (Kalfas, et al., 2001). Matrik organik tulang sebesar 33%, terdiri dari kolagen Tipe I sebesar 28% dan protein non kolagen sebesar 5% seperti *bone cialloprotein*, *osteocalcin*, *osteonectin*, *osteopontin* dan *proteoglicans*; terdapat juga *growth factor* dan protein serum sedangkan matrik anorganik tulang sebesar 67% tersusun dari hidroksiapatit dengan rumus kimia  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (Nanci, 2005).





Gambar 2.1 Struktur kristal Hidroksiapatit (Rivera, 2011)

Hidroksiapatit alami ataupun hidroksiapatit sintetis memiliki sifat dan karakteristik yang hampir sama sehingga hidroksiapatit disebut sebagai biomaterial pengganti tulang manusia di masa depan. Kristal hidroksiapatit mempunyai ukuran yang sama dengan kristal hidroksiapatit tulang, yaitu berkisar 20 – 50 nm (Rocha, 2005). Secara stokiometri Ca/P hidroksiapatit memiliki rasio 1,67 dan secara kimia sama dengan mineral tulang manusia (Swain, 2009; Herliansyah *et al.*, 2009).



Gambar 2.2 Struktur Hidroksiapatit pada Gigi (Sumber: Rocha, 2005)

Adanya kesamaan struktur kimia dengan mineral jaringan tulang manusia, maka hidroksiapatit sintetis menunjukkan daya afinitasnya dengan baik yaitu dapat berikatan secara kimiawi dengan tulang (Ohtsuki, 2008). Hidroksiapatit ini memiliki sifat osteoinduktif, tidak toksik, dan tidak menyebabkan terjadinya inflamasi (Teimouri *et al.*, 2015). Hidroksiapatit memiliki kemampuan osteokonduksi, dan osteoinduksi sehingga dapat menstimulasi adanya proses osteogenesis. (Ardhiyanto, 2011). Osteokonduksi merupakan sifat material yang

mampu memfasilitasi dan memandu sel-sel dalam melakukan adhesi, proliferasi sel-sel osteogenik serta menyediakan struktur yang saling berhubungan (interkonektivitas) agar sel-sel dapat bermigrasi dan pembentukan pembuluh darah baru. Osteoinduksi merupakan sifat material dengan kemampuan untuk memandu *stem cells* dari lingkungannya untuk berdiferensiasi menjadi osteoblas. Osteointegrasi adalah sifat material dalam kemampuan membentuk ikatan antara permukaan tulang dengan biomaterial. Hal ini berarti hidroksiapatit menghasilkan potensi osteokonduktif, dan biokompatibilitas yang sangat baik. Biokompatibel adalah sifat dimana material tersebut tidak menyebabkan reaksi penolakan dari sistem imun tubuh manusia karena dianggap sebagai benda asing. Dari penelitian sebelumnya, hidroksiapatit ternyata mampu menciptakan lingkungan yang sesuai dan dapat menjadi media perlekatan sel-sel punca/*stem cells* yang kemudian dapat berdiferensiasi menjadi osteoblas hingga menjadi sel matang sehingga proses osteogenesis dapat terjadi dalam *scaffold* untuk proses regenerasi tulang dalam kasus defek tulang (Ardhiyanto, 2011).

### 2.3 Hidroksiapatit Sintesis Limbah Gypsum Kedokteran Gigi

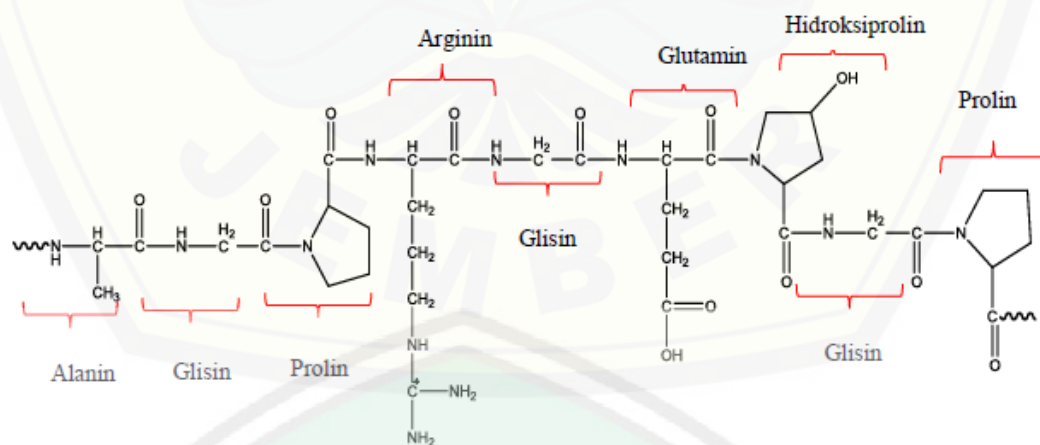
Menurut spesifikasi ADA (*American Dental Association*) No. 25, dental gypsum di bidang kedokteran memiliki 5 tipe yaitu tipe I, II, III, IV, dan V. Dalam bidang kedokteran gigi, tipe gypsum yang sering dipakai adalah tipe II, III, dan IV. Tipe gypsum yang digunakan dalam penelitian ini adalah gypsum tipe II. Model plaster (Tipe II) memiliki kekuatan 1.300 lb/inchi<sup>2</sup> dan berwarna putih. Model plaster tersusun atas kalsium sulfat  $\beta$ -hemihidrat yang terdiri dari partikel kristal ortorombik yang lebih besar dengan pori-pori (Anusavice, 2003).

Produk gypsum kedokteran gigi diperoleh dengan cara mengonversi batuan gypsum alami dalam bentuk kalsium sulfat dihidrat ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) menjadi senyawa kalsium sulfat hemihidrat  $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$  melalui proses pemanasan yang disebut metode *hydrothermal* yaitu dengan mereaksikan limbah gypsum yang dihaluskan dengan larutan *diammonium hydrogen phosphat* (DHP)  $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$  (Haries, 2015).

## 2.4 Gelatin

Gelatin ( $C_{102}H_{151}N_{31}O_{39}$ ) merupakan suatu derivat senyawa protein yang diperoleh dari jaringan kolagen yang terdapat pada kulit, tulang, dan jaringan ikat hewan seperti sapi. Gelatin berasal dari kolagen yang terbentuk melalui proses hidrolisis asam. Gelatin merupakan protein yang berbentuk serabut dengan berat molekul sekitar 75 kDa dan terdiri atas beberapa rantai peptida berbentuk spiral yang terjalin satu sama lain, sehingga terlihat menyerupai batang yang kaku. (Winarno, 2004).

Struktur gelatin terdiri dari rantai asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida (Gambar 2.3). Rantai asam amino dominan yang terdapat dalam gelatin adalah glisin (26-34%), prolin (10-18%) dan hidroksiprolin (7-15%). Susunan asam amino dalam gelatin hampir mirip dengan kolagen, dimana glisin sebagai asam amino utama dan merupakan 2/3 bagian dari seluruh asam amino yang menyusunnya, dan 1/3 bagian asam amino lainnya diisi oleh prolin dan hidroksiprolin. Gelatin mengandung sekuens asam amino *arginine-glycine-aspartic* (RGD) yang dapat mendukung aktivitas sel karena dapat berikatan dengan reseptor sel (integrin) sehingga dapat meningkatkan adhesi dan proliferasi sel (Moisenovich *et al.*, 2013; Dararutana *et al.*, 2015).



Gambar 2.3 Struktur kimia gelatin (Sumber: Imeson, 1992)

Gugus fungsi gelatin yang dapat diamati pada pembacaan FTIR antara lain kelompok OH, C-O, N-H dari amida sekunder yang didukung dengan adanya kelompok gugus fungsi C-N, C=O, dan NCO sebagai gugus fungsi utama dari

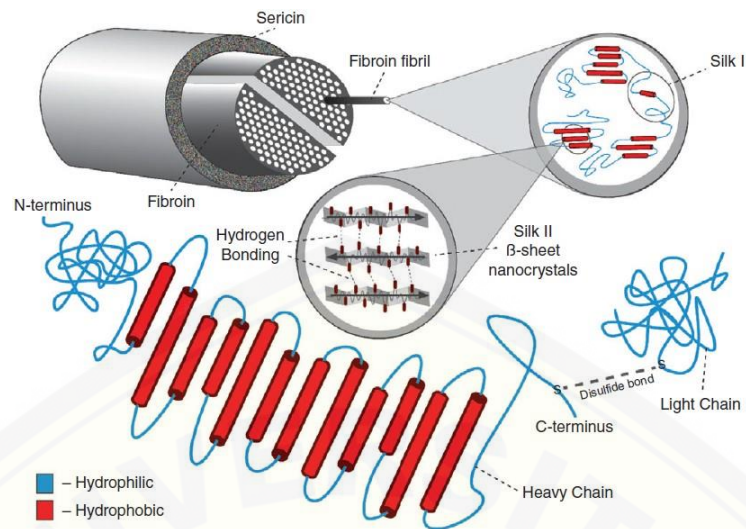
gelatin (Amertaningtyas *et al.*, 2017). Struktur utama gelatin adalah amida sekunder yang terdiri gugus karbonil (C=O) yang berikatan dengan gugus amin (N-H). Gugus fungsi gelatin pada puncak spektrum FTIR menunjukkan penyerapan gelatin yang terbagi menjadi empat bagian, yaitu amida A ( $3600-2300\text{ cm}^{-1}$ ), amida I ( $1636-1661\text{ cm}^{-1}$ ), amida II ( $1560-1335\text{ cm}^{-1}$ ), dan amida III ( $1300-1200\text{ cm}^{-1}$ ) dengan amida II (sekunder) sebagai gugus fungsi utama dari gelatin (Muyonga *et al.*, 2004).

Gelatin memiliki beberapa sifat unggul yang dapat menjadikannya salah satu material *scaffold* yaitu biokompatibel, imunogenisitas rendah, plastis, adhesif, dan berperan baik dalam adhesi dan pertumbuhan sel sehingga bagus sebagai material pengganti tulang (Islam *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2017). Kekurangan pada bahan gelatin ini terletak pada sifat mekaniknya yang kurang baik. Gelatin hanya dapat digunakan dengan baik pada jaringan lunak karena modulus elastisitas dan kekuatan mekaniknya yang kurang cocok untuk jaringan keras (Kim *et al.*, 2004). Akan tetapi, penambahan gelatin pada *scaffold* dapat membantu perlekatan sel, differensiasi, reproduksi, dan migrasi sel (Teimouri *et al.*, 2015).

## 2.5 *Silk Fibroin*

*Silk fibroin* adalah serat protein yang diekstraksi dari kokon ulat sutera (*Bombyx morii*). Kepompong ulat sutera tersusun atas 70-80% fibroin, 20-30% serisin, 0,4-0,8% materi lilin, dan 1,2-1,5% karbohidrat (Nurwenda, 2011). *Silk-fibroin* merupakan protein makromolekul yang mengandung lebih dari 5000 macam asam amino esensial dan didominasi oleh serin, glisin, dan alanin. Komponen asam amino serin, glisin, dan alanin ini membentuk suatu struktur kristalin  $\beta$ -Sheet yang berkontribusi dalam memberikan sifat mekanis yang adekuat (Teimouri *et al.*, 2015)



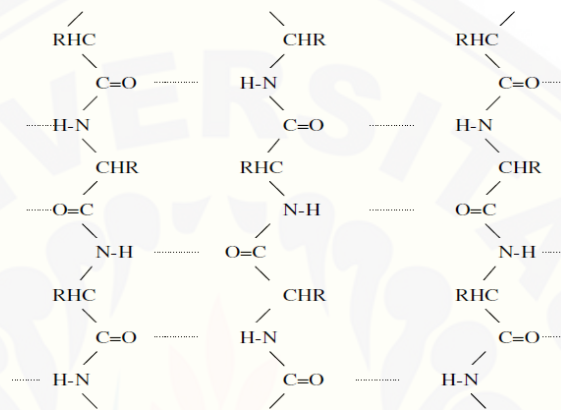


Gambar 2.4 Struktur kokon *Bombyx morii* (Sumber: DeBari dan Abbott, 2019)

Secara umum struktur *copolymer* fibroin tersusun atas daerah hidrofobik yang panjang dan daerah hidrofilik yang pendek (Nultsch dan Germershaus, 2017). Serat-serat fibroin disusun oleh tiga jenis protein dengan berat molekul berbeda, yaitu protein rantai panjang atau *heavy chain* dengan berat molekul 391 kDa, protein rantai pendek atau *light chain* dengan berat molekul 25,8 kDa, dan glikoprotein p25 dengan berat molekul 25 kDa. *Light chain* berikatan dengan *heavy chain* melalui ikatan disulfida tunggal dekat dengan C-terminus (akhir dari rantai asam amino, diakhiri oleh gugus karboksil (-COOH)), sedangkan p25 berikatan dengan *heavy chain* melalui interaksi hidrofobik. *Heavy chain* mengandung blok-blok asam amino repetitif hidrofobik Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser dan pengulangan dipeptida Gly-Ala/Ser/Tyr, yang membentuk 12 domain kristalin (Melke, 2015). *Heavy chain* memiliki peran utama dalam memberikan kekuatan mekanik dan karakteristik fisik (Nugraha, 2018).

*Silk fibroin* memiliki struktur *dimorphic* yaitu, silk I dan silk II. Silk I terdapat struktur  $\alpha$ -*helix* bersifat hidrofilik dan ditemukan dalam kelenjar dan silk II tersusun atas kristal antiparalel  $\beta$ -*sheets* bersifat hidrofobik dan ditemukan dalam serat sutera (Han *et al.*, 2014).  $\beta$ -*sheets* dibentuk dari gaya intramolekul dan intermolekul seperti ikatan hidrogen, gaya *van der Waals*, dan interaksi hidrofobik (Koh *et al.*, 2015). Beberapa pelarut seperti methanol atau ethanol dapat mengeliminasi air dan membentuk ikatan-ikatan hidrogen dari fase amorf serat

yang dapat meningkatkan jumlah dari  $\beta$ -sheets. Hal tersebut dapat meningkatkan kristalisasi dari serat fibroin sehingga meningkatkan kekuatan dan stabilitas (Marelli *et al.*, 2016). Larutan *silk fibroin* yang masih baru didominasi dengan struktur *random coil* yang secara bertahap berubah menjadi  $\beta$ -sheet selama proses gelasi (Lu *et al.*, 2017). Komponen lain yaitu glikoprotein p25 (*proteome 25*) berperan dalam mempertahankan integritas *silk fibroin* (Zafar, 2014).



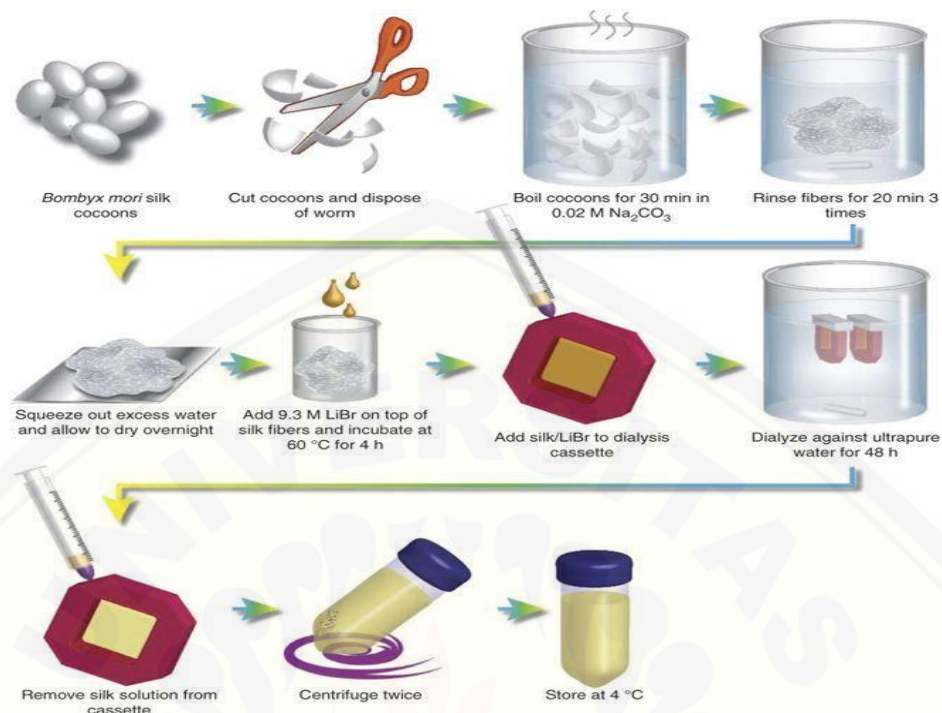
Gambar 2.5 Struktur kimia *Silk Fibroin* (Sumber: Thorpe, 2016)

Senyawa penyusun *silk fibroin* dapat diketahui melalui uji FTIR (*Fourier Transform Infrared*). Spektrum-spektrum puncak FTIR yang terdapat pada *silk fibroin* terbagi menjadi 3 daerah yaitu amida I (C=O), amida II (N-H), dan amida III (C=N, N-H) dengan puncak-puncak yang ditunjukkan pada tabel 2.1

Tabel 2.1 Daerah amida dan panjang gelombang protein penyusun *Silk Fibroin* (Sumber: Kamalha *et al.*, 2013)

| Conformation    | Amides and Wavelengths ( $\text{cm}^{-1}$ ) |                     |                            |
|-----------------|---|---------------------|----------------------------|
|                 | I (CO stretch)                              | II (NH deformation) | III (CN stretch, NH bends) |
| $\alpha$ -helix | 1648-1660                                   | 1540-1550           | 1304-1313                  |
| $\beta$ -sheet  | 1625-1640, 1690 weak                        | 1520-1530           | 1219-1245                  |
| $\beta$ -turns  | 1660-1685                                   |                     | 1265-1291                  |
| Random coil     | 1625-1660, 1640-1648                        | 1520-1545           | 1257-1258                  |
| 310-helix       | 1660-1670                                   |                     | 1265-1291                  |

Teknik ekstraksi *silk fibroin* dari kepompong ulat sutera disebut dengan teknik *degumming*. *Degumming* adalah teknik ekstraksi fibroin dengan memisahkannya dari kandungan sericin/*gum* (Sah, 2010).



Gambar 2.6 Prosedur ekstraksi *silk fibroin* dari kepompong ulat sutera (Sumber: Rockwood *et al.*, 2011)

Material *silk fibroin* memiliki sifat-sifat unggul dalam hal biokompatibilitas dan biodegradabilitas yang tinggi, tidak memicu respon imunologis, kekuatan mekanis yang baik, fleksibel dan stabil dalam lingkungan biologis, serta mampu berinteraksi dengan *growth factor* yang ada dalam tubuh (Virilan *et al.*, 2015; Varkey, 2015). Keunggulan yang dimiliki oleh *silk fibroin* menyebabkan material ini berpotensi dimanfaatkan dalam aplikasi biomaterial kedokteran gigi seperti *scaffold*. Struktur kristalin  $\beta$ -sheet dari *silk fibroin* menyediakan kekuatan mekanis yang adekuat. Jika dibandingkan dengan *scaffold* berbahan kolagen, *scaffold silk fibroin* mampu memberi stabilitas mekanis yang lebih baik dengan durasi degradasi yang lambat (Zafar, 2014; Virilan, 2015).

Berdasarkan penelitian Neve (2014), pada fase *remodeling* tulang, *silk fibroin* berperan dalam memperlambat pertautan fibrin untuk mempercepat proses regenerasi tulang. Dengan sifat mekanisnya yang unggul, *silk fibroin* mampu mempertahankan volume dan kepadatan tulang selama proses pematangan tulang. Sementara itu, osteoblas dan osteoklas akan mensekresikan metalloproteinase yaitu



enzim protease yang akan meresorpsi *scaffold silk fibroin* melalui proses enzimatik.

## 2.6 Scaffold 3 Dimensi

Salah satu faktor penting dalam cangkok tulang adalah struktur dari *scaffold*, yang merupakan matriks atau struktur buatan yang diperlukan untuk infiltrasi sel, dan pendukung fisik sel yang mengarah kepada proliferasi, dan diferensiasi sel ke dalam jaringan fungsional atau organ manusia. *Scaffold* merupakan suatu struktur tiga dimensi yang digunakan sebagai media penyangga sementara untuk mendukung proses pertumbuhan dan pengembangan jaringan baru. *Scaffold* perlu memiliki karakteristik biokompatibel agar tidak memunculkan penolakan oleh tubuh.

Sifat lain yang juga harus dimiliki oleh *scaffold* ialah porus. Sifat porus pada *scaffold* dapat dihasilkan dengan menggunakan metode *freeze drying*. Pori-pori yang terdapat pada *scaffold* memiliki fungsi sebagai ruang bagi sel untuk menempel dan tumbuh menjadi suatu jaringan tulang baru. Sel atau jaringan pada tubuh manusia berada di antara matriks ekstraselular sehingga pertumbuhan sel sangat bergantung pada karakteristik dari matriks ekstraselular. Matriks ekstraselular terdiri dari molekul struktural dan fungsional yang terorganisir dalam struktur tiga dimensi yang khas di setiap jenis jaringan, dan berfungsi sebagai penyokong mekanis tempat penempelan sel, pertumbuhan sel, pembaharuan sel, dan menyediakan lingkungan jaringan mikro (Nugraha, 2018). Struktur mikro yang sesuai dapat mendukung pembentukan tulang baru dan terbentuknya vaskularisasi, kontrol biodegradabilitas, dan sifat mekanis yang sesuai. *Scaffold* dibentuk menyerupai matriks ekstraselular area asli jaringan tubuh dimana sel-sel akan tumbuh (Wibowo, 2015). Peran *scaffold* adalah sebagai matriks ekstraselular sementara yang memungkinkan sel untuk memformulasikan lingkungan pertumbuhan dirinya sendiri. Peran tersebut diwujudkan dalam bentuk dukungan kepada sel untuk dapat menempel (*attachment*) dan tumbuh (*proliferation*). Bentuk *scaffold* dapat berupa lembaran serat atau membran berpori sesuai dengan jaringan target. Lingkungan untuk jaringan tulang atau kartilago, membran berpori lebih sesuai karena strukturnya mirip dengan matriks ekstraselular aslinya, yaitu sel-sel

kondrosit yang tertanam dalam lakuna-lakuna berbentuk pori (Wibowo, 2018).

Ukuran rata-rata sel pada manusia adalah berkisar 2-120  $\mu\text{m}$ . Oleh karena itu, ukuran pori-pori yang dihasilkan harus sesuai agar proliferasi dan adhesi sel dapat terjadi. Jika pori-pori terlalu kecil, sel-sel tidak dapat bermigrasi. Sebaliknya, jika pori-pori terlalu besar, ada penurunan luas permukaan spesifik yang membatasi penempelan sel serta dapat menurunkan kekuatan mekanik (Nugraha, 2018). Ukuran pori *scaffold* yang optimal untuk aplikasi perbaikan jaringan tulang berkisar pada rentang 100 – 300  $\mu\text{m}$  (Milla *et al.*, 2018). Akan tetapi ukuran pori dengan diameter >300  $\mu\text{m}$  lebih baik untuk pembentukan tulang dan pembuluh darah baru (Ichsan, 2012).

*Scaffold* perlu memiliki porositas yang tepat agar dapat digunakan untuk pengangkutan nutrisi dan oksigen di dalamnya (Teimouri *et al.*, 2015). Porositas adalah persentase ruang kosong dalam fase padat dari *scaffold*. Porositas *scaffold* yang ideal yaitu sekitar 80-90% dengan pori yang saling terkoneksi yang berfungsi untuk pembuangan sisa metabolisme serta pengangkutan nutrisi. Porositas yang besar meningkatkan adanya perlekatan sel yang lebih banyak karena menghasilkan area permukaan *scaffold* yang lebih luas (Milla *et al.*, 2018). Porositas tulang *cancellous* adalah 30%-90% sedangkan tulang trabekular berkisar antara 50-95% (Indriani, 2014).

*Scaffold* perlu memiliki sifat penting yaitu *biodegradable*. Material *scaffold* harus dapat didegradasi oleh tubuh dalam laju degradasi yang tidak terlalu cepat maupun tidak terlalu lambat. Laju degradasi *scaffold* harus sesuai dengan laju pertumbuhan jaringan tulang baru. Material *scaffold* harus dapat didegradasi oleh tubuh, dapat dimetabolisme, dan dieliminasi dari tubuh (Luo, 2015).

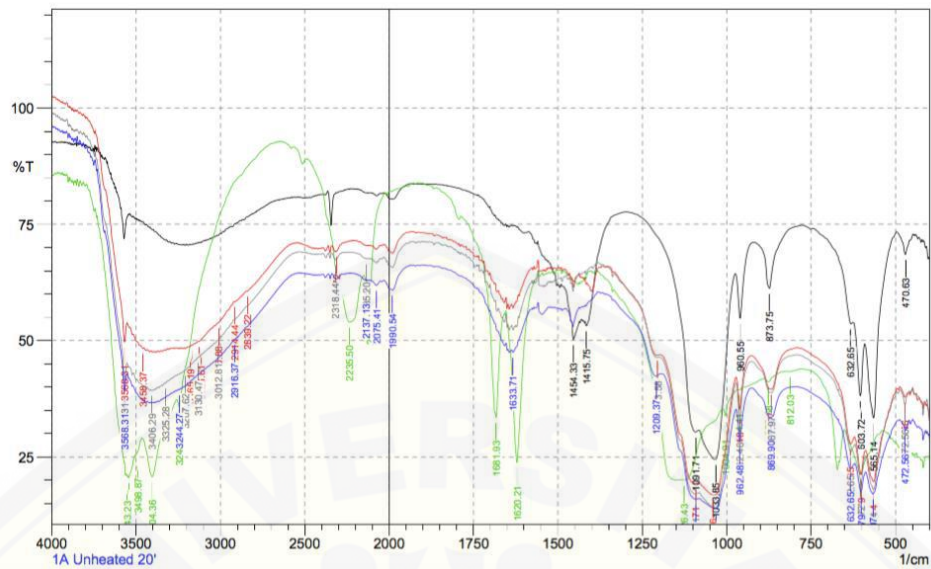
Sifat lain yang perlu dimiliki *scaffold* adalah kekuatan mekanis yang adekuat. Kekuatan mekanis merupakan kemampuan suatu benda untuk menahan dari kerusakan akibat beban yang dikenakan seperti beban tarikan, tekanan, geseran, puntiran, dan kombinasi. Sifat mekanik yang cukup berfungsi untuk mempertahankan struktur dan fungsi *scaffold* setelah implantasi dan selama proses *remodeling* tulang (Nugraha, 2018). Besar kekuatan mekanik dapat dipengaruhi oleh besarnya porositas *scaffold*. Porositas yang tinggi dapat meningkatkan

kekuatan mekanik dari *scaffold*. Nilai porositas yang ideal adalah berkisar 80-90%. Akan tetapi porositas *scaffold* yang terlalu tinggi dapat menurunkan sifat mekaniknya. Agar diperoleh kekuatan mekanik yang baik maka porositas *scaffold* perlu dikontrol dan disesuaikan (Anwar *et al.*, 2014). Kekuatan mekanis yang dimiliki setidaknya mirip dengan tulang asli yaitu, 2-12 MPa.

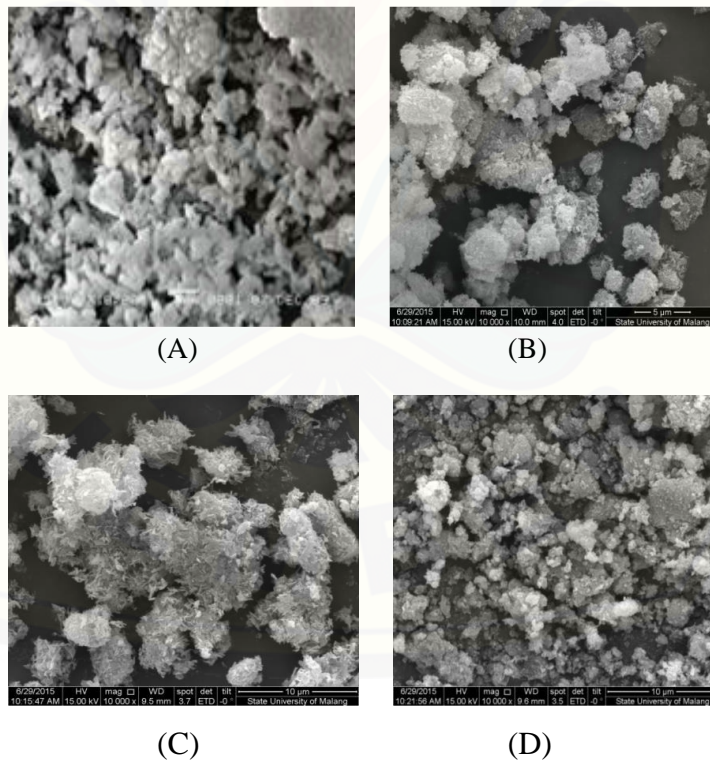
## 2.7 Scaffold Hidroksiapatit

Material *scaffold* dapat bersumber dari bahan-bahan anorganik dan bahan-bahan organik. Material anorganik *scaffold* yang dapat digunakan antara lain hidroksiapatit dikarenakan di dalam struktur tulang alveolar terdapat kandungan hidroksiapatit sebanyak 67%. Sumber hidroksiapatit yang dapat digunakan yaitu dari limbah dental gipsum kedokteran gigi tipe II (DGHA II). Bahan hidroksiapatit ini memiliki fungsi sebagai *filler* atau bahan pengisi dari kerangka *scaffold*. Akan tetapi *scaffold* DGHA ini masih memiliki sifat biomekanik yang lemah yaitu kekuatan mekanik yang rendah, bersifat *brittle*, dan porositas yang rendah (Tripathi *et al.*, 2012; Milla *et al.*, 2018). Oleh karena itu, *scaffold* DGHA ini perlu dikombinasikan dengan material organik lain yaitu bahan biopolimer sebagai matriks/bahan pengikat yang dapat mendukung karakteristiknya seperti gelatin dan *silk fibroin* yang memiliki beberapa kelebihan sifat fisik, mekanis, dan kimianya.

Hidroksiapatit yang disintesis dari limbah dental gipsum tipe II diketahui memiliki karakterisasi yang mirip dengan hidroksiapatit alami. Spektrum FTIR dari limbah dental gipsum tipe II menunjukkan karakteristik puncak penyerapan hidroksiapatit yang menunjukkan adanya fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), hidroksil ( $\text{OH}^-$ ), dan karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) (Ardhiyanto *et al.*, 2016).



Gambar 2.7 Hasil spektra FTIR serbuk DGHA tipe II tanpa pemanasan 20 menit (merah), DGHA tipe II tanpa pemanasan 30 menit (biru), DGHA tipe II tanpa pemanasan 40 menit (abu-abu), HAp 200 (hijau) dan DGHA tipe II (hitam) (Sumber: Ardhiyanto *et al.*, 2016).



Gambar 2.8 Gambaran SEM serbuk hidroksiapatit dengan pembesaran 10.000x: HAp 200 (A), DGHA tipe II tanpa pemanasan 20 menit (B), DGHA tipe II tanpa pemanasan 30 menit (C), DGHA tipe II tanpa pemanasan 40 menit (D). (Sumber: Ardhiyanto *et al.*, 2016).



Berdasarkan hasil karakterisasi SEM, terdapat sedikit perbedaan antara partikel HAp-200 dan DGHA II, yaitu partikel dari HAp-200 cukup padat, teraglomerasi, dan ukurannya cukup homogen. Sedangkan DGHA II bentuk partikelnya tidak beraturan dan tidak homogen tetapi penyebaran partikelnya cukup merata dengan permukaan kasar (Ardhiyanto *et al.*, 2016).

## 2.8 Scaffold Hidroksiapatit (HA)-Gelatin

Salah satu cara untuk meningkatkan bioaktivitas dari hidroksiapatit/HA adalah dengan menambahkan gelatin. Pemilihan bahan gelatin didasarkan pada sifat-sifatnya yang unggul dalam hal biokompatibilitas serta strukturnya yang ada dalam tulang asli. Di dalam tulang asli mengandung bahan kolagen sebagai matriks tulang. Gelatin merupakan protein derivat dari kolagen yang berfungsi menjadi *plasticizer* untuk menambah kekuatan dari hidroksiapatit dan meningkatkan adhesi sel. Gelatin mengandung sekuens asam amino arginin-glisin-aspartic acid (RGD) yang mendukung dalam penempelan dan proliferasi sel (Ramadoss, 2018). Hidroksiapatit yang bersifat rapuh/*brittle* dikombinasikan dengan gelatin yang memiliki sifat elastik yang bagus agar tidak terlalu kaku, tahan terhadap fraktur, dan meningkatkan bioaktivitasnya sehingga biokompatibel dengan tubuh (Thorpe, 2016). Berdasarkan penelitian sebelumnya Noviyanti (2018), penambahan gelatin dalam pembuatan *scaffold* DGHA II terbukti dapat memperbaiki porositas *scaffold*, mengurangi sifat *brittle*, dan meningkatkan kekuatan tekan akan tetapi masih belum tercapai hasil yang optimal seperti tulang asli.

## 2.9 Scaffold Hidroksiapatit (HA)-Gelatin-Silk Fibroin

*Silk fibroin* diketahui memiliki sifat-sifat unggul sebagai material pengganti tulang yang meliputi kekuatan mekanik, biokompatibilitas, dan *biodegradable*. Farokhi (2017), menyatakan penggunaan material organik gelatin dan *silk fibroin* dapat meningkatkan karakteristik dari *scaffold* yang lebih baik. *Silk fibroin* mendukung kekuatan mekanis dari *scaffold* karena terdapat struktur kristal antiparalel  $\beta$ -Sheet bersifat hidrofobik yang rapat. Ikatan hidrogen pada struktur *silk fibroin* menambah konformasi fleksibilitas. Ikatan hidrogen ini memberikan

kerapatan pada struktur protein dan secara spesifik pada interaksi antarmolekul (Ramadoss, 2018).

*Silk fibroin* juga memiliki sifat *biodegradable* yang baik. Hal ini dibuktikan dalam penelitian Jo (2017) pada defek kalvaria tikus yaitu degradasi yang stabil dan tidak memicu respon imun. Mekanisme degradasi *silk fibroin* disebut hidrolisis enzim-katalis dimana *silk fibroin* nantinya akan didegradasi oleh enzim metalloproteinase atau protein XIV dalam bentuk peptida-peptida dan asam amino bebas yang dapat dengan mudah dimetabolisme dan dieliminasi dari tubuh (Luo *et al.*, 2015; Ramadoss, 2018). Selain itu, diketahui bahwa ulat sutera *Bombyx morii* memproduksi *protease inhibitor* di dalam kelenjar sutera yang kemudian menempel pada kokon untuk perlindungan terhadap terjadinya degradasi proteolitik prematur sehingga degradasi yang terjadi tidak terlalu cepat (Altman, 2003).

Dalam hal biokompatibilitas, *scaffold* dengan bahan *silk fibroin* ini dapat berinteraksi baik dengan sel-sel dalam tubuh. Di dalam tubuh manusia terdapat komponen fibrinogen yang terdapat dalam plasma darah yang berfungsi dalam proses pembekuan darah dengan mengubahnya menjadi benang-benang fibrin yang memiliki struktur serat mirip dengan serat fibroin. Pada saat *scaffold* dengan bahan *silk fibroin* ini diaplikasikan, serat dari *silk fibroin* dapat berikatan dengan komponen fibrinogen yang ada dalam tubuh manusia. Berdasarkan penelitian Santin (2002) yang dilakukan secara *in vivo*, berkas-berkas dari fibrinogen terikat dengan permukaan serat fibroin melalui ikatan ramifikasi trifurkasi, dan setiap cabang akan terjadi ramifikasi lanjutan dengan ukuran yang lebih kecil (Santin *et al.*, 2002).

Gelatin mendukung dalam hal elastisitas dari jaringan dan bioaktivitas dari sel mengingat struktur gelatin merupakan *derivate* dari kolagen yang ada di dalam matriks ekstraseluler tulang asli. Gelatin mengandung sekuens asam amino arginin-glisin-aspartic acid (RGD) yang mendukung dalam penempelan dan proliferasi sel karena dapat berikatan dengan reseptor sel (*integrin*) ( Dararutana *et al.*, 2015; Ramadoss *et al.*, 2018).

Pengaruh penambahan *silk fibroin* ke dalam larutan gelatin akan menyebabkan gelatin berinteraksi dengan partikel fibroin, sehingga memisahkan

partikel-partikel gelatin satu dengan yang lain, dengan demikian menunjukkan pori-pori yang saling berhubungan dan terdistribusi secara merata. Selain itu adanya gelatin pada *silk fibroin* dapat mengubah *random coil* menjadi  $\beta$ -sheet dengan adanya interaksi hidrofobik sehingga mampu meningkatkan struktur  $\beta$ -sheet (Ramadoss *et al.*, 2018). Adanya gugus amida (N-H) dan karboksil (C=O) pada gelatin dan *silk fibroin* berperan sebagai daerah nukleasi dari deposisi mineral-mineral tulang. Dari hasil penelitian Mobika (2020), gelatin dapat meningkatkan kemampuan mineralisasi dari komposit. Selain itu, mengkombinasikan *silk fibroin* dengan hidroksiapatit diketahui dapat meningkatkan pembentukan kristal hidroksiapatit di sepanjang sumbu c dan pengaturan struktur dan sifat antara *silk fibroin* dan hidroksiapatit ditemukan selama pembuatan komposit. Nukleasi dari hidroksiapatit meningkatkan pembentukan orientasi molekul dan kristalisasi dari *silk fibroin* (Moisenovich *et al.*, 2014)

Berdasarkan hasil penelitian Moisenovich (2014), yang meneliti karakteristik dari *scaffold* fibroin, *scaffold* fibroin-gelatin, *scaffold* HA-fibroin, dan *scaffold* HA-fibroin-gelatin didapatkan hasil karakteristik terbaik adalah pada *scaffold* HA-fibroin-gelatin dari segi morfologi, porositas, dan kekuatan mekaniknya.

## 2.10 Metode Freeze Drying

Metode *Freeze-drying* digunakan untuk menyintesis *scaffold* yang memiliki pori. Proses *freeze dry* terdiri dari dua tahap, yaitu pembekuan dan pengeringan tanpa melalui fase cair (Ichsan, 2012). Pembekuan dilakukan di dalam *freezer* bersuhu sangat rendah. Kemudian dilanjutkan proses pengeringan yang dilakukan pada *vacuum freeze dry chamber* yang disebut liofilisasi. Liofilisasi adalah proses mengeringkan suatu bahan dengan cara menyublimkan air. Sublimasi terjadi dari sebuah cairan beku yang mengalir langsung menjadi uap (sublimasi) tanpa mengalami fase cair terlebih dahulu (Purnama, 2006).

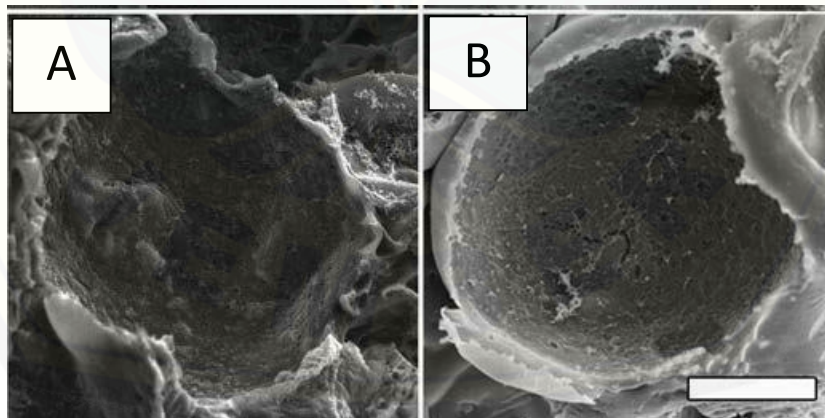
Sampel ditempatkan dalam *freezer* bersuhu sangat rendah misalkan pada suhu  $-60^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam. Pada saat pembekuan pertama ini terbentuk kristal-kristal es pada sampel. Kristal-kristal es ini nantinya akan membentuk pori dari *scaffold*.



Proses yang kedua adalah tahap pengeringan dengan sublimasi air atau liofilisasi. Sampel beku diliofilisasi sampai kering dalam pengering beku atau mesin *freeze dry* bersuhu  $-84^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam dimana kristal es tersebut tersublimasi dengan proses sublimasi langsung dan meninggalkan struktur yang berpori. Sampel *scaffold* kering (*lyophilized*) dinetralkan oleh 10% NaOH untuk menghilangkan asetat kemudian dicuci dengan air suling (Ichsan, 2013).

### 2.11 Uji SEM

*Scanning electron microscopy* (SEM) dapat memberikan informasi tentang struktur mikro permukaan sampel dan dapat melihat pori-pori dan morfologi *scaffold*. *Scanning Electron Microscopy* merupakan sejenis mikroskop yang menggunakan elektron sebagai pengganti cahaya untuk melihat benda dengan resolusi tinggi. Analisis SEM bermanfaat untuk mengetahui mikrostruktur (termasuk porositas) benda padat. Berkas sinar elektron dihasilkan dari filamen yang dipanaskan yang disebut *electron gun*. Hasil dari uji SEM ini berupa gambar yang terdiri dari titik-titik dengan berbagai intensitas permukaan *Cathode Ray Tube* (CRT) sebagai topografi gambar. Kemudian gambar hasil uji SEM diolah dalam *software ImageJ*.



Gambar 2.9 Contoh Hasil SEM *Scaffold* HA-Fibroin (A) dan *Scaffold* HA-gelatin-fibroin (B) (Sumber: Moisenovich, 2014)

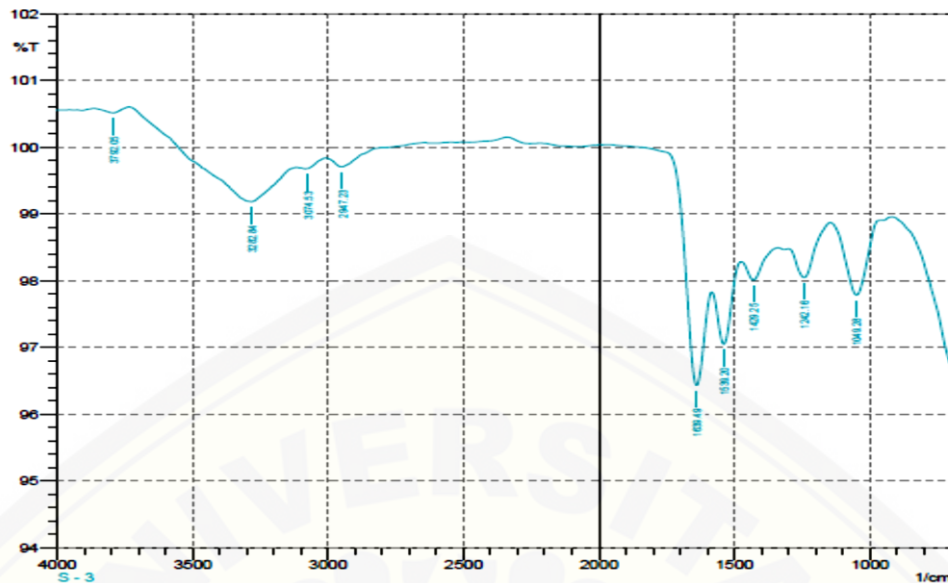
### 2.12 Uji FTIR

*Fourier Transformed Infrared* (FTIR) merupakan alat atau instrument yang dapat digunakan untuk melihat gugus fungsi dari sampel yang dianalisis tanpa

merusak sampel. *Fourier transform infrared spectroscopy* (FTIR) merupakan metode analisis spektroskopi dengan menggunakan sinar infra merah. FTIR dikembangkan karena adanya kebutuhan untuk bisa mengukur frekuensi inframerah suatu sampel secara bersamaan. Pada spektroskopi ini, sinar infra merah dengan menembus sampel. Spektrum yang dihasilkan menunjukkan transmisi dan absorpsi molekuler, yang hasilnya berupa spektrum. Spektrum inframerah yang dihasilkan oleh dua sampel yang unik dan berbeda akan berbeda juga (Pratiwi, 2011).

Kualitas sampel dan juga komponen-komponen penyusun suatu campuran dapat diketahui dengan menggunakan spektroskopi FTIR. Kelebihan spektroskopi FTIR dibandingkan dengan yang lain antara lain adalah kecepatan, sensitivitas, peralatan yang sederhana, dan tidak perlu dikalibrasi karena alat tersebut dapat mengkalibrasi dirinya sendiri (Pratiwi, 2011).

Prinsip kerja FTIR adalah suatu sumber infra merah akan mengemisikan energi infra merah dan berjalan melalui sebuah optik dari spektrometer. Intensitas dari frekuensi sinar ditransmisikan dan diukur oleh detektor. Hasil dari detektor adalah interferogram, yaitu domain waktu yang menggambarkan pola interferensi. Pengukuran tersebut kemudian diubah dengan adanya ADC (*Analog to Digital Converter*) menjadi suatu format digital yang dapat dibaca oleh komputer. Interferogram tersebut kemudian diubah menjadi suatu pita spectrum dalam domain frekuensi oleh FFT (*Fast Fourier Transform*).



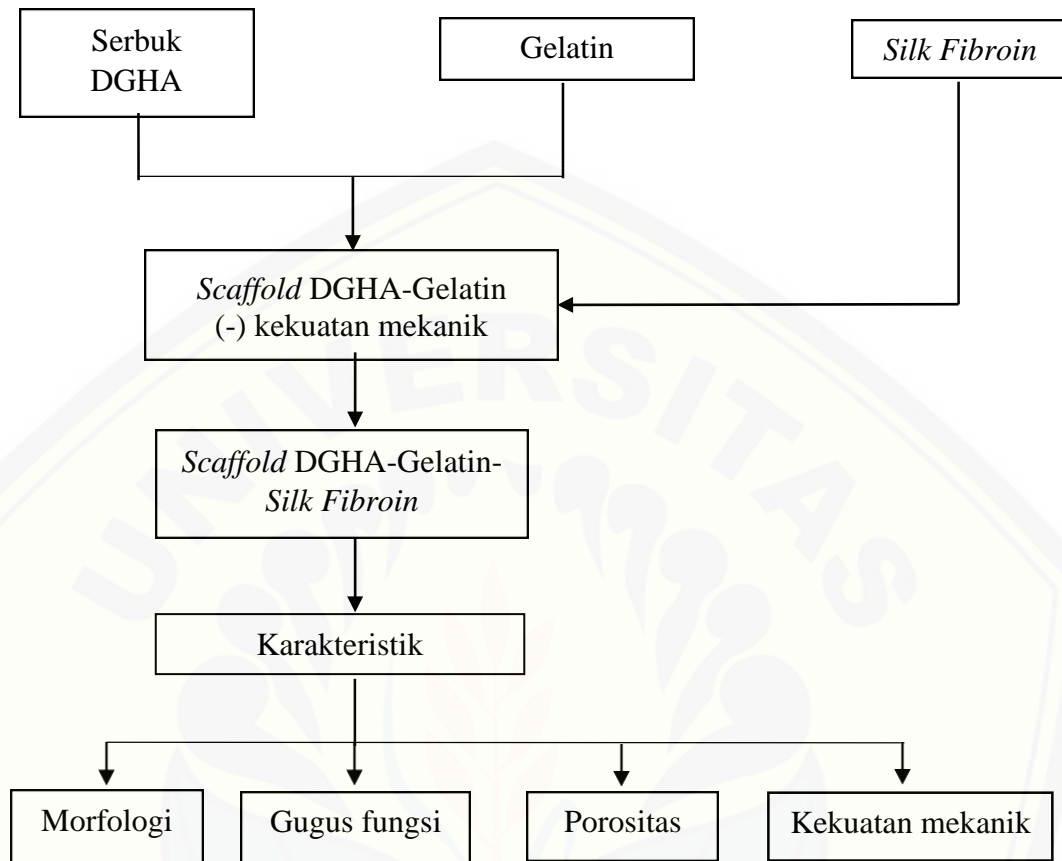
Gambar 2.10 Contoh Hasil Uji FTIR *Scaffold* Hidroksiapatit-Gelatin (Sumber: Hossan *et al.*, 2014)

### 2.13 Uji Mekanik

Kekuatan mekanik adalah gaya maksimal yang dapat diterima oleh suatu benda atau spesimen uji. Uji mekanis bertujuan untuk mengetahui bagaimana sifat mekanik dari material yang digunakan karena selain sifat kimia dan sifat fisik, sifat mekanik juga diperlukan dalam mendukung karakter suatu bahan dalam hal ini *scaffold* (Arifin, 2012)

Uji mekanis yang dapat dilakukan adalah uji kuat tekan. Uji kuat tekan dilakukan pada *teflon mold* berukuran diameter 5 mm dan tinggi 10 mm. Kekuatan tekan (*Compressive strength*) dilakukan dengan memberikan gaya pada permukaan spesimen. Nilainya ditentukan sebagai gaya yang diberikan hingga spesimen rusak dibagi luas permukaan spesimen (Fraunhofer, 2013).

## 2.14 Kerangka Konsep



## 2.15 Hipotesis

Penambahan bahan *silk fibroin* dapat mempengaruhi karakteristik dari *scaffold dental gypsum hydroxyapatite-gelatin* dengan karakteristik lebih baik.

### BAB 3. METODE PENELITIAN

Metode penelitian dilakukan dalam beberapa tahapan penelitian, yaitu:

**Tahap I: Sintesis dan Karakterisasi pada *scaffold* DGHA-Gelatin-SF**

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif

#### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

##### 3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2019-Januari 2020

##### 3.2.2 Tempat Penelitian

1. Proses sintesis hidroksiapatit, pembuatan *scaffold*, dan uji porositas dilakukan di Laboratorium Teknologi Kedokteran Gigi dan Laboratorium *Bioscience* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
2. Proses *freeze drying* dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember
3. Uji FTIR dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi Universitas Jember
4. Proses karakterisasi SEM dilakukan di Laboratorium SEM Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember
5. Uji kekuatan tekan dilakukan di Laboratorium Material Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

#### 3.3 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.3.1 Alat Penelitian

- a. Neraca digital (*Adam, UK*)
- b. *Microtube* (*NEST, USA*)
- c. Gelas Ukur (*Pyrex, Germany*)
- d. Beaker Glass (*Pyrex, Germany*)



- e. *Petridisk (Pyrex, Germany)*
- f. *Tabung Erlenmeyer (Pyrex, Germany)*
- g. *Handscoon non-powder (Maxter, Malaysia)*
- h. *Pinset (Dentica, USA)*
- i. *Pengaduk kaca*
- j. *Sendok stainless steel*
- k. *Alumunium foil (Bagus, Indonesia)*
- l. *Magnetic stirrer ukuran 2 cm dan 4 cm*
- m. *Hot plate Stirrer (LabTech, England)*
- n. *Ultrasonic homogenizer Sonic Ruptor 400 (OMNI INC, US)*
- o. *Syringe 12 ml dan needle ukuran besar (OneMed, Indonesia)*
- p. *Freezer*
- q. *Freeze Drying VaCo 5-II-D (Zirbus, Germany)*
- r. *Termometer (Zeal, England)*
- s. *Penjepit*
- t. *Mesin Scanning Electron Microscopy (JOEL, USA)*
- u. *Software ImageJ 1.49V*

### 3.3.2 Bahan Penelitian

- a. *Serbuk DGHA II*
- b. *Gelatin (Laboratorium Bio Analitika, Surabaya)*
- c. *Kokon *Bombyx morii**
- d. *Aquades*
- e. *Air*
- f. *Hexane*
- g. *Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhydrous*
- h. *CaCl<sub>2</sub> anhydrous*
- i. *Ethanol absolut*

## 3.4 Prosedur Penelitian

### 3.4.1 Persiapan Alat dan Bahan

Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian.

#### 3.4.2 Sterilisasi Alat

Alat dibersihkan dengan air mengalir dan dimasukkan dalam *autoclave* pada suhu 50°C.

#### 3.4.3 Pembuatan Sampel *Silk Fibroin*

- a. Menyortir kepompong ulat sutera (*Bombyx morii*) kemudian memotong sampai berukuran kecil
- b. Memanaskan 2 liter aquades dalam *beaker glass* ukuran 2 liter hingga mendidih dan menutupnya menggunakan aluminium foil
- c. Menimbang  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sebanyak 4.240 mg di atas neraca
- d. Memasukkan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ke dalam aquades mendidih dan biarkan hingga larut sempurna (untuk menyiapkan larutan 0.02 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )
- e. Menambahkan kepompong ulat sutera ke dalam larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,02 M saat mulai mendidih selama 30 menit sambil sesekali diaduk menggunakan spatula kaca
- f. Mengangkat kepompong dengan spatula kemudian memeras fibroin hingga tidak terasa licin
- g. Menakar 1 liter aquades dimasukkan ke dalam *beaker glass* berukuran 2 liter
- h. Memasukkan fibroin ke dalam aquades
- i. Membilas fibroin selama 20 menit di atas *hotplate stirrer* sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, dan mengulangi pembilasan ini hingga 3 kali
- j. Memeras kelebihan air pada fibroin, kemudian meletakkannya pada aluminium foil bersih dan biarkan kering selama satu malam.
- k. Melarutkan *silk fibroin* yang telah dipisahkan dari serisin (*degummed SF*) ke dalam pelarut ternary yaitu campuran dari  $\text{CaCl}_2/\text{H}_2\text{O}/\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  dengan rasio 1:8:2 dalam rasio mol.
- l. Menyiapkan pelarut ternary di dalam *glass bottle* dengan memasukkan

27.745 mg (1 mol) anhydrous  $\text{CaCl}_2$  ke dalam 36 ml aquades (8 mol) kemudian diaduk hingga  $\text{CaCl}_2$  terlarut sempurna dan menunggu hingga dingin. Kemudian menambahkan 29.2 ml  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  (2 mol) absolute ke dalam larutan dan menunggu hingga dingin

- m. Memasukkan *degummed* SF ke dalam pelarut ternary
- n. Memasukkan *glass bottle* berisi campuran fibroin dan pelarut ternary ke dalam *beaker glass* berukuran 500 ml
- o. Melarutkan fibroin selama 4 jam pada suhu  $70^\circ\text{C}$  di atas *hotplate stirrer*.
- p. Melembabkan membrane *dialysis* di dalam air selama beberapa menit.
- q. Memasukkan larutan fibroin ke dalam membrane *dialysis*, memasang karet dan penjepit di kedua ujung *membrane dialysis*
- r. Mendialisis larutan fibroin di dalam *beaker glass* berisi 2 liter aquades di atas *hotplate stirrer* selama 72 jam
- s. Mengganti aquades dalam beaker glass setiap 1 jam, 4 jam, sore, pagi, dan malam berikutnya, serta di pagi hari pada hari berikutnya
- t. Memasukkan larutan fibroin ke dalam tabung kerucut (*conical tube*) 50 ml.
- u. Kemudian larutan disentrifugasi dengan perputaran 8000 rpm selama 10 menit dengan suhu  $20^\circ\text{C}$ .
- v. Larutan kemudian disimpan pada suhu  $4^\circ\text{C}$  (Rockwood *et al.*, 2011; Zhang, 2018)

#### 3.4.4 Pembuatan Sampel DGHA-Gelatin-Silk Fibroin

- a. Menimbang dan menakar DGHA II, gelatin, dan silk fibroin serta memisahkan menjadi 3 kelompok dengan komposisi berbeda masing-masing:  
Kelompok 1= 250 mg : 300 mg : 7 ml  
Kelompok 2= 250 mg : 300 mg : 5 ml  
Kelompok 3= 250 mg : 300 mg : 3 ml
- b. Menakar aquades dalam gelas ukur sebanyak 3 ml/5 ml/7 ml.
- c. Memanaskan 20 ml air hingga mencapai suhu  $40^\circ\text{C}$  menggunakan

*beaker glass* berukuran besar pada *hotplate stirrer*.

- d. Setelah mencapai suhu 40°C, memanaskan 3 ml aquades (kelompok 1) dengan menggunakan *beaker glass* berukuran 5 ml diletakkan ke dalam *beaker glass* berisi 20 ml air yang dipanaskan, suhu dipertahankan pada 40°C.
- e. Memasukkan 300 mg gelatin (kelompok 1) ke dalam *beaker glass* berisi 3 ml aquades kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga larutan homogen dan ditunggu 5 menit.
- f. Mencampur 250 mg serbuk DGHA pada larutan gelatin yang sudah homogen kemudian menggunakan *Ultrasonic Homogenizer Sonic Ruptor* selama 1 menit.
- g. Mencampur 7 ml *Silk Fibroin* pada campuran DGHA-Gelatin yang sudah homogen kemudian menggunakan *Ultrasonic Homogenizer Sonic Ruptor* selama 4 menit 30 detik.
- h. Memasukkan hasil pencampuran DGHA-Gelatin-SF ke dalam *microtubes*.
- i. Mengulangi kembali tahapan yang sama dengan kelompok sampel yang lain.
- j. Membekukan sampel pada suhu -60°C pada *freezer* selama 1 jam.
- k. Memasukkan sampel ke dalam *freeze dryer* untuk proses pengeringan beku selama 24 jam pada suhu -84°C.
- l. Melakukan uji karakterisasi untuk melihat morfologi, porositas, dan kekuatan tekan *scaffold* DGHA II-Gelatin-*Silk Fibroin*

#### 3.4.5 Uji Karakterisasi dengan SEM dan *ImageJ*

- a. Mengambil sampel dari masing-masing kelompok, kemudian dibersihkan dan dijauhkan dari air.
- b. Sampel dipotong menggunakan *cutter* dengan arah longitudinal dan transversal.
- c. Sampel dilapisi menggunakan *gold coating* agar konduktivitas listriknya baik.

- d. Merekatkan sampel pada *holder* menggunakan *carbon tape*.
- e. Memasukkan sampel ke dalam mesin SEM
- f. Melakukan analisa SEM dengan mengamati bentuk dan interkoneksi pori.
- g. Gambar SEM penampang memanjang/longitudinal digunakan untuk mengetahui interkoneksi pori *scaffold* sedangkan gambar SEM penampang melintang/transversal digunakan untuk mengukur besar pori *scaffold*.
- h. Melakukan pengukuran besar pori (luas pori dan diameter pori) menggunakan *software ImageJ 1.49V*.
- i. Membuka aplikasi, kemudian klik *File* pada *toolbar*, lalu klik *open*, selanjutnya pilih gambar.
- j. Menyamakan skala antara ukuran pixel gambar dengan ukuran acuan gambar dengan cara menarik garis lurus pada skala acuan gambar sampel SEM lalu klik *analyze* dan pilih *set scale*.
- k. Setelah itu, akan muncul kotak dialog untuk menyamakan pixel gambar dengan ukuran perbesaran dari gambar sampel SEM. Mengganti ukuran pada *know distance* sesuai skala acuan pada gambar yaitu 1 mm dan mengganti *unit of length* menjadi  $\mu\text{m}$ .
- l. Kemudian memotong gambar SEM dari informasi mengenai gambar tersebut kemudian klik *image* kemudian klik *duplicate*, muncul jendela baru yang berisi hanya gambar SEM secara keseluruhan.
- m. Klik jendela baru tersebut agar aktif, kemudian ubah format gambar yang masih RGB menjadi 32-bit dengan klik *image* kemudian klik *type* dan pilih 32-bit.
- n. Klik *set measurements*, centang pada *area* dan *feret's diameter* dan klik *OK*.
- o. Mengukur diameter dan luas pori dengan cara mengklik *freehand selection* kemudian menggambar tepi pori secara manual menggunakan *mouse*
- p. Setelah itu, akan muncul tabel hasil pengukuran pori *scaffold* DGHA-



Gelatin-SF *image*

- q. Setelah itu, akan muncul tabel hasil pengukuran pori *scaffold* DGHA-Gelatin- Silk Fibroin
- r. Simpan hasil pengukuran pori dengan cara klik file pada *toolbar* dari tabel hasil perhitungan, lalu pilih *save as*. Hasil pengukuran juga di *copy all* dan di *paste* pada *microsoft excel*.
- s. Data hasil pengukuran pori akan menghasilkan data *area* yaitu luas pori dan *feret's diameter* yaitu diameter pori. Nilai dalam satuan  $\mu\text{m}$ .

3.4.6 Uji FTIR

- a. Sampel terdiri dari tiga kelompok yaitu: kelompok 1 *scaffold* DGHA-Gelatin-SF 2,8%, kelompok 2 *scaffold* DGHA-Gelatin-SF 2%, dan kelompok 3 *scaffold* DGHA-Gelatin-SF 1,2%
- b. Mengambil sampel dari setiap kelompok, dibersihkan dan dijauhkan dari air untuk melakukan uji FTIR
- c. Menghancurkan sampel yang berupa *scaffold* menjadi serbuk menggunakan mortal dan pastle
- d. Mencampur serbuk DGHA-Gelatin-SF dengan serbuk KBr (5-10 % sampel dalam serbuk KBr)
- e. Meletakkan hasil campuran pada tempat sampel
- f. Melakukan interpretasi hasil yang tampak pada monitor (Balgies, 2011).

## Tahap II: Uji Porositas dan Kekuatan Tekan pada Scaffold DGHA-Gelatin-SF

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental murni.

### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

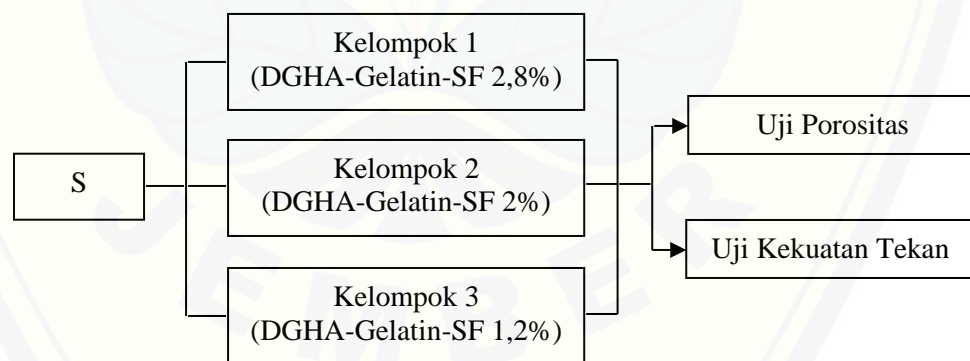
#### 3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2019-Januari 2020

#### 3.2.2 Tempat Penelitian

- a. Uji porositas dilakukan di Laboratorium Teknologi Kedokteran Gigi dan Laboratorium *Bioscience* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- b. Uji kekuatan tekan dilakukan di Laboratorium Material Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

### 3.3 Rancangan Penelitian



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian uji porositas dan uji kekuatan tekan  
Keterangan:

S = Subyek

### 3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Konsentrasi *Silk Fibroin* pada pembuatan *scaffold* DGHA-Gelatin-*Silk*

### *Fibroin*

#### 3.4.2 Variabel Terikat

- a. Porositas *scaffold* DGHA-Gelatin-Silk *Fibroin*
- b. Kekuatan tekan *scaffold* DGHA-Gelatin-Silk *Fibroin*

#### 3.4.3 Variabel Kontrol

- a. Suhu pembekuan  $-60^{\circ}\text{C}$  dan waktu pembekuan 1 jam *scaffold* DGHA-Gelatin-Silk *Fibroin* dengan metode *freeze drying*
- b. Suhu *freeze dry*  $-84^{\circ}\text{C}$  dan waktu *freeze dry* 24 jam waktu pembekuan *scaffold* DGHA-Gelatin-Silk *Fibroin* dengan metode *freeze drying*.
- c. Komposisi DGHA dan Gelatin

### **3.5 Definisi Operasional Variabel**

3.5.1 Konsentrasi *Silk Fibroin* pada serbuk DGHA dan Gelatin adalah jumlah larutan *silk fibroin* yang ditambahkan ke dalam campuran serbuk DGHA dan gelatin dalam pembuatan *scaffold* dengan metode *freeze drying* yaitu 2,8%; 2%; dan 1,2%.

#### 3.5.2 Karakteristik *Scaffold* DGHA-Gelatin-Silk *Fibroin* (SF)

Karakteristik *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF adalah ciri-ciri *scaffold* yang dihasilkan dari hidroksiapatit, gelatin dan *silk fibroin* menggunakan metode *freeze drying* dengan melihat porositas dan kekuatan mekanik dari *scaffold* yang meliputi:

- a. Morfologi adalah bentuk permukaan, luas pori, dan ukuran pori *scaffold* DGHA-Gelatin-SF yang dilihat menggunakan alat SEM dan diukur menggunakan *software ImageJ*.
- b. Gugus fungsi adalah atom tertentu yang terikat dalam susunan tertentu yang memberikan sifat fisik dan kimia tertentu senyawa.
- c. Porositas adalah prosentase ruang kosong dalam fase padat *scaffold* DGHA-Gelatin-SF yang diukur menggunakan metode *liquid displacement* dalam satuan persen.

- d. Kekuatan mekanik adalah kemampuan *scaffold* DGHA-Gelatin-SF dalam menahan kekuatan tekan yang diuji dengan menggunakan alat uji tekan *Universal Testing Machine* dengan satuan *Mega Pascal (MPa)*.

### 3.6 Pengambilan Sampel

#### 3.6.1 Populasi

Populasi meliputi *scaffold* DGHA-Gelatin-Silk Fibroin yang dibuat dengan metode *freeze drying*

#### 3.6.2 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik yang digunakan adalah *simple random sampling* agar semua sampel dalam populasi memiliki peluang yang sama. Penetapan jumlah sampel yang diambil dihitung menggunakan rumus Daniel:

$$n = \frac{(Z\alpha)^2 \sigma \rho^2}{\delta^2}$$

Keterangan:

n : besar sampel minimal

Z $\alpha$  : batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas atas nilai kemaknaan (1,96)

$\sigma \rho^2$  : diasumsikan  $\sigma \rho^2 = \delta$

Perhitungan jumlah sampel untuk setiap kelompok penelitian adalah sebagai berikut:

$$n = \frac{(1,96)^2 \sigma \rho^2}{\delta^2}$$

$$n = 1,96^2$$

$$n = 3,84 \rightarrow 4$$

Dari hasil perhitungan menggunakan rumus Daniel diperoleh jumlah minimal sampel untuk setiap kelompok adalah 4 sampel *scaffold* DGHA-Gelatin-Silk Fibroin

#### 3.6.3 Pengelompokan Sampel

- a. Kelompok 1 merupakan sampel larutan DGHA-Gelatin-*Silk Fibroin* dengan komposisi DGHA 250 mg, Gelatin 300 mg, *Silk Fibroin* 280 mg dalam 10 ml aquades (DGHA-Gelatin-SF 2,8%) menggunakan metode *freeze drying*.
- b. Kelompok 2 merupakan sampel larutan DGHA-Gelatin-*Silk Fibroin* dengan komposisi DGHA 250 mg, Gelatin 300 mg, *Silk Fibroin* 200 mg dalam 10 ml aquades (DGHA-Gelatin-SF 2%) menggunakan metode *freeze drying*.
- c. Kelompok 3 merupakan sampel larutan DGHA-Gelatin-*Silk Fibroin* dengan komposisi DGHA 250 mg, Gelatin 300 mg, *Silk Fibroin* 120 mg dalam 10 ml aquades (DGHA-Gelatin-SF 1,2%) menggunakan metode *freeze drying*.

### **3.7 Alat dan Bahan Penelitian**

#### 3.7.1 Alat Penelitian

- a. Gelas Ukur (*IWAKI, Indonesia*)
- b. *Universal Testing Machine*(*Shimadzu, Japan*)
- c. *Vacuum chamber*
- d. *Vacuum pump* (*Pall Corporation, USA*)
- e. *Power Vibrator KV-56* (*Wassermann, Germany*)
- f. *Wire*

#### 3.7.2 Bahan Penelitian

- a. Scaffold DGHA-Gelatin-*Silk Fibroin*
- b. *Hexane*

### **3.8 Prosedur Penelitian**

#### 3.8.1 Persiapan Alat dan Bahan

Menyiapkan alat dan bahan penelitian

#### 3.8.2 Uji Porositas

- a. Menyiapkan alat dan bahan yaitu *vacuum chamber*, *vacuum pump*, tabung silinder, gelas ukur 5 ml, dan *hexane*.
- b. Menuangkan *hexane* sebanyak 2 ml pada gelas ukur ukuran 5ml, dan



- dicatat sebagai  $V_1$  (Volume Awal).
- c. Memasukkan sampel scaffold DGHA-Gelatin-Silk Fibroin dengan diameter 8 mm dan tinggi 10 mm dengan berat  $W$  dimasukkan ke dalam *hexane* ( $V_1$ ) di dalam tabung dan diberi pemberat dari *wire* hingga seluruh sampel terendam dalam *hexane*
  - d. Kemudian didiamkan kira-kira selama 5 menit. Dalam siklus evakuasi-repressurization ini diperlukan untuk mendorong *heksane* masuk melalui pori-pori scaffold yang kering
  - e. Memasukkan gelas ukur ke dalam *vacuum chamber* dan menutup rapat, *vacuum chamber* sudah dimodifikasi pada bagian tutupnya kemudian dihubungkan pada alat *vacuum pump*
  - f. Menghidupkan alat *vacuum pump* dengan tekanan 2 bar serta alat *power vibrator* untuk memudahkan gelembung keluar
  - g. Kemudian mengamati adanya gelembung udara yang muncul sekitar 10 menit sampai tidak terlihat gelembung udara dan mematikan alat *vacuum pump*.
  - h. Mengeluarkan gelas ukur dari *vacuum chamber*
  - i. Melihat pada angka berapa kenaikan volume *hexane* + *scaffold* dan dicatat sebagai  $V_2$ .
  - j. Mengeluarkan sampel *scaffold* + *hexane* secara perlahan dari tabung dan *hexane* residual atau volume *hexane* yang terjadi setelah *scaffold* dikeluarkan dicatat sebagai  $V_3$ .
  - k. Kemudian hasil dihitung menggunakan rumus:

$$\varepsilon = \frac{V_1 - V_3}{V_2 - V_3} \times 100\%$$

Keterangan :

$\varepsilon$  : porositas *scaffold*

$V_1$  : volume *hexane* (ml)

$V_2$  : volume *hexane* + *scaffold* (ml)

$V_3$  : volume *hexane* residual (ml)

(Lu *et al.*, 2017)

### 3.8.3 Uji Sifat Mekanik

- Menyamakan tinggi dan mengurangi bagian yang tidak rata pada sampel *scaffold* berdiameter 8 mm dan tinggi 10 mm menggunakan pisau silet.
- Meletakkan sampel pada alat uji tekan *Universal Testing Machine*.
- Mengatur waktu dan kecepatan uji tekan yaitu 1 mm/min dengan tekanan dan memasukkan tinggi *scaffold* pada *software* alat uji tekan tersebut. Pada *software* ini alat otomatis berhenti apabila sudah mencapai 50% dari tinggi sampel.
- Kemudian hasil dari uji ini dihasilkan data uji tekan dalam bentuk N (Newton) yang kemudian di konversi ke rumus Megapascal (Tormos dan Madihally, 2017):

$$\text{MPa} = \frac{n}{\text{mm}^2} = \frac{n}{\pi r^2}$$

Pa : kekuatan tekan *scaffold* (pascal)

$n$  : kekuatan tekan *scaffold* (newton)

$\text{mm}^2$  : luas permukaan benda

$\pi$  : 3,14

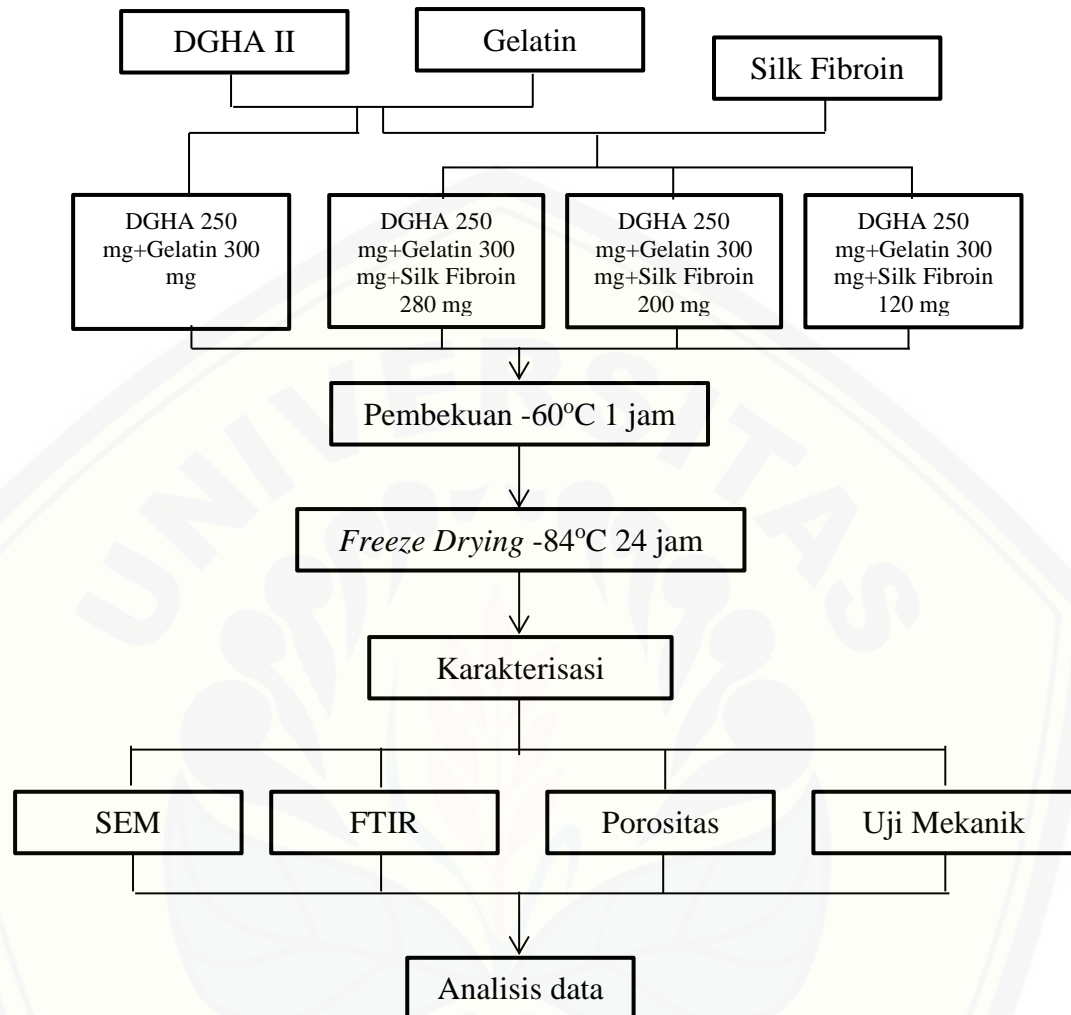
$r$  : jari-jari *scaffold* (mm)

$$\begin{aligned} \text{Luas permukaan scaffold} &= 3,14 \times 4^2 \\ &= 50,24 \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

## 3.9 Analisis Data

Data penelitian yang dihasilkan berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif diperoleh dari hasil penelitian FTIR dan SEM yaitu gugus fungsi dan morfologi *scaffold* yang dianalisis secara deskriptif untuk mengetahui senyawa penyusun, bentuk pori, ukuran pori, diameter pori, luas pori, dan interkoneksi pori dari *scaffold*. Data kuantitatif diperoleh dari hasil penelitian uji porositas dan uji kekuatan tekan. Porositas *scaffold* diukur menggunakan rumus *liquid displacement*/perpindahan cairan dan kekuatan tekan *scaffold* diukur menggunakan

alat *Universal Testing Machine*. Analisis data statistik yang diperoleh dari hasil pengukuran uji porositas dan uji tekan dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas untuk mengetahui data yang dihasilkan termasuk data parametrik ataupun non parametrik. Uji normalitas yang digunakan adalah uji *shapiro wilk test*, dan uji homogenitas dilakukan menggunakan uji *levene* dengan derajat kemaknaan ( $p \geq 0,05$ ). Kemudian apabila data yang diperoleh memenuhi seluruh persyaratan dari data parametrik yaitu data terdistribusi normal, homogen, dan data rasio atau interval, maka dilakukan uji perbedaan masing- masing sampel dengan menggunakan uji statistik *one way anova* dan dilakukan uji *Least Significance Different (LSD)* apabila terdapat perbedaan yang signifikan dalam perbandingan sampel. Sedangkan bila hasil uji homogenitas dan normalitas tidak memenuhi persyaratan data parametrik ( $p < 0,05$ ), maka dilakukan uji beda *Kruskal Wallis*. Jika hasil uji beda tersebut signifikan ( $p < 0,05$ ), maka di lakukan uji *Mann Whitney* untuk menuntukan ada tidaknya perbedaan yang bermakna antar kelompok sampel. Adanya perbedaan yang bermakna ditandai dengan signifikansi  $p < 0,05$ .

**3.10 Alur Penelitian**

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diatas dapat disimpulkan hasil karakterisasi *scaffold* DGHA-Gelatin-SF 2,8%, *scaffold* DGHA-Gelatin-SF 2%, dan *scaffold* DGHA-Gelatin-SF 1,2% sebagai berikut:

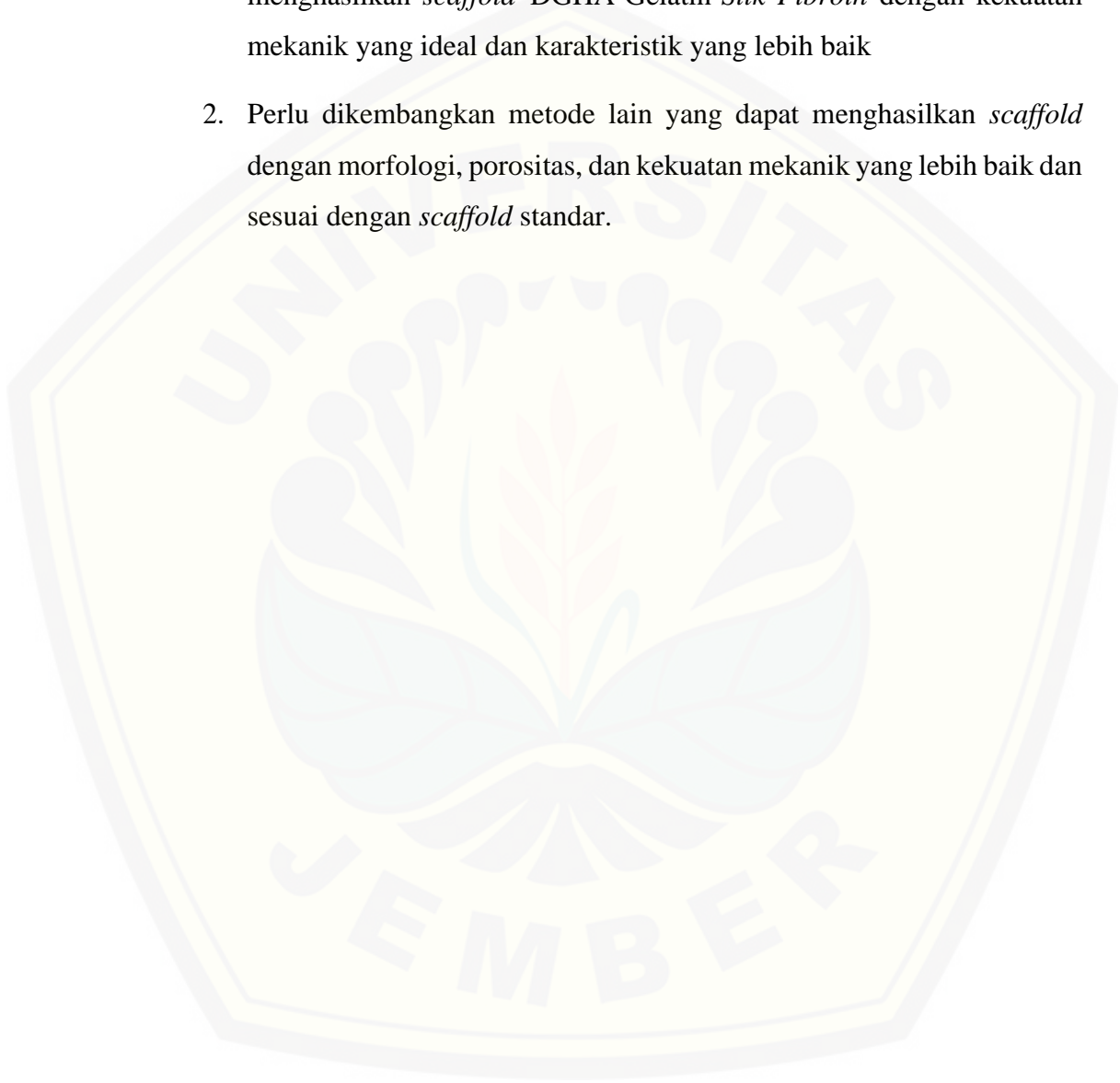
1. Kombinasi antara DGHA, gelatin, dan *silk fibroin* menghasilkan *scaffold* dengan karakteristik yang lebih baik.
2. Karakterisasi FTIR pada semua kelompok sampel menunjukkan masing-masing memiliki senyawa penyusun utama sampel.
3. Karakterisasi SEM menunjukkan semua kelompok menghasilkan ukuran pori yang bervariasi dengan tepi pori *irregular*, ukuran yang tidak homogen, dan saling terkoneksi. *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF 2,8% memiliki ukuran rata-rata pori terkecil dan *scaffold* DGHA-Gelatin-SF 1,2% memiliki ukuran rata-rata pori terbesar. Ukuran pori berkisar antara 161-616  $\mu\text{m}$  dan telah memenuhi syarat ideal ukuran pori *scaffold*.
4. Karakterisasi prosentase porositas menunjukkan antar kelompok sampel menghasilkan prosentase porositas yang berbeda-beda. *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF 2,8% menghasilkan prosentase porositas terbesar sebesar 83,98% dan *scaffold* DGHA-Gelatin-SF 2% menghasilkan prosentase porositas terkecil sebesar 80% dan telah memenuhi syarat ideal porositas *scaffold*
5. Karakterisasi sifat mekanik menunjukkan *scaffold* DGHA-Gelatin-SF 2,8% menghasilkan kekuatan tekan terbesar sebesar 0,55 MPa dan *scaffold* DGHA-Gelatin-SF 1,2% menghasilkan kekuatan tekan terkecil sebesar 0,42 MPa. Seluruh kelompok *scaffold* memenuhi syarat kekuatan mekanik *scaffold*, akan tetapi belum mencapai nilai yang optimal.



## 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan:

1. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk menentukan formulasi komposisi DGHA-Gelatin-*Silk Fibroin* yang tepat agar dapat menghasilkan *scaffold* DGHA-Gelatin-*Silk Fibroin* dengan kekuatan mekanik yang ideal dan karakteristik yang lebih baik
2. Perlu dikembangkan metode lain yang dapat menghasilkan *scaffold* dengan morfologi, porositas, dan kekuatan mekanik yang lebih baik dan sesuai dengan *scaffold* standar.



DAFTAR PUSTAKA

- Amertaningtyas, D., Y. Erwanto, Z. Bachruddin, Jamhari. 2017. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectra, Amino Acid Profile and Microstructure of Gelatin from Madura and Crossbed Ongole Cattle Hides. *The 7th International Seminar on Tropical Animal Production*. Yogyakarta
- Altman, Gregory H., F. Diaz, C. Jakuba, T. Calabro, R. L. Horan, J. Chen, H. Lu, J. Richmond, D. L. Kaplan. 2003. Silk-based biomaterials. *Biomaterials* 24: 401–416
- Anusavice, Kenneth J. 2003. Phillips: Buku Ajar Ilmu Bahan Kedokteran Gigi. Jakarta: EGC
- Anwar, S. A., Solechan, dan S. Raharjo. 2014. *Scaffold* Rekonstruksi Mandibula dari Material *Bhipasis Calcium Phospate* dengan Penguat Cangkang Kerang Srimping Menggunakan Metode *Functionally Graded Material*. *Jurnal TRAKSI*. 14(1): 1-19
- Ardhiyanto, Hengky Bowo. 2011. Peran Hidroksiapatit sebagai Bone Graft dalam Proses Penyembuhan Tulang. *Stomatognatic (Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Jember)* Vol. 8 No. 2: 118-21
- Ardhiyanto, Hengky Bowo, Y. Yustisia, A. Naini. 2016. Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Limbah *Dental Gypsum* Tipe 2 sebagai Bahan Baku *Bone Graft*. *Proceedings Book FORKINAS VI FKG UNEJ 14th-15<sup>th</sup> October 2016* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember: 285-293
- Arifin, Tadjul. 2016. Uji Kuat Tekan Scaffold Hidroksiapatit Sintesis Limbah Dental Gypsum Tipe II dan Tipe III. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Azadi, Mohammad, Zahra Shams Ghahfarokhi, Abbas Teimouri. 2017. Modification of Silk Fibroin and Gelatin-Chondroitin Sulfate Matrix with the Addition of Nanohydroxyapatite by Freeze Drying Method for Tissue Engineering Application. *Journal of Pharmaceutical and Applied Chemistry*. 3(3): 253-258.
- Bronzino, J. D. 2006. *Tissue Engineering and Artificial Organs*, 3rd edition. CRC Press.
- Cao, Zhengbing, J. Wen, J. Yao, X. Chen, Y. Ni, Z. Shao. 2013. Facile fabrication of the porous three-dimensional regenerated silk fibroin scaffolds. *Materials Science and Engineering C* 33; 3522–3529
- Dararutana, C., J. Ratanavaraporn, S. Honsawek, S. Kanokpanont, S.

- Damrongsakkul. 2015. Characteristics and osteoconductivity of bone composite scaffolds made of Thai silk fibroin, gelatin and inorganic compounds: A comparative study of  $\beta$ -tricalcium phosphate and hydroxyapatite. *Macromolecular Symposia*, 354(1), 258–264.
- DeBari, M. K., & Abbott, R. D. 2019. Microscopic considerations for optimizing silk biomaterials. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 11(2), 1–9.
- Eroschenko, V.P. 2008. *diFiore's Atlas of Histology with The Function Correlation eleventh edition*. Lippincott Williams & Wilkins, Philedelphia
- Farokhi, Mehdi, F. Mottaghitalab, S. Samani, M.A. Shokrgozar, S. C. Kundu, R. L. Reis, Y. Fattahi, D. L. Kaplan. 2017. Silk fibroin/hydroxyapatite composites for bone tissue engineering. *Biotechnology Advances*
- Haries, Yusron. 2015. Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Limbah Gypsum Kedokteran Gigi Tipe III. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Herda, Ellyza. 2016. Tinjauan Peran dan Sifat Material yang Digunakan sebagai *Scaffold* dalam Rekayasa Jaringan. *Jurnal Material Kedokteran Gigi* 1(5):56-63
- Herliansyah, M.K., C. Muzafar, A.E. Tontowi. 2012. Natural Bioceramics Bone Graft: A Comparative Study of Calcite Hydroxyapatite, Gypsum Hydroxyapatite, Bovine Hydroxyapatite and Cuttlefish Shell Hydroxyapatite. *Proceedings of the Asia Pacific Industrial Engineering & Management Systems Conference 2012 V. Kachitvichyanukul, H.T. Luong, and R. Pitakaso Eds.* pp. 1137-1146.
- Hossan, J., M.A. Gafur, M.R. Kadir, M. Mainul. 2014. Preparation and Characterization of Gelatin- Hydroxyapatite Composite for Bone Tissue Engineering. 57(01), 113–122.
- Ichsan, Miranda Zawazi. 2012. Sintesis Makroporus Komposit Kolagen Hidroksiapatit sebagai Kandidat Bone Graft. *Skripsi*. Departemen Fisika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga
- Imeson. 1992. Thickening and gelling agent for food. New York: Academic Press
- Indriani, A. dan S. Aminatun. 2014. Upaya Meningkatkan Kuat Tekan Komposit HA-Kitosan sebagai Kandidat Aplikasi Implan Tulang Kortikal. *Jurnal Fisika dan Terapannya*. 2 (3):1-16.
- Islam, Md Minhajul, M.A. Khan, M.M. Rahman. 2015. Preparation of gelatin based porous biocomposite for bone tissue engineering and evaluation of gamma irradiation effect on its properties. *Materials Science and Engineering C* 49:

648–655

- Kalfas, Iain H. 2001. Principles of bone healing. *Neurosurg Focus* Vol 10 (4): Article 1
- Kamalha, Edwin, Y. Zheng, Y. Zeng, M.N. Fredrick. 2013. FTIR and WAXD Study of Regenerated Silk Fibroin. *Advanced Materials Research*. 677: 211-215
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. *Laporan Nasional RISKESDAS*. p: 207
- Ko, CC., M.J. Somermn, K.N. An. 2007. Motion and bone generation. *Engineering of Functional Skeletal Tissues*.: 111-4.
- Koh, Leng-Duei, Y. Cheng, C. Teng, Y.W. Khin. 2015. Structures, mechanical properties and applications of silkfibroin materials. *Progress in Polymer Science* 46: 86–110
- Krishnamurithy, G., Science M, Medicine CC. 2013. A Review On Hydroxyapatite-Based Scaffolds As A Potential Bone Graft Substitute For Bone Tissue Engineering Applications. *JUMMEC*.;16(2):1–6.
- Li, Mingzhong., M. Ogizo, N. Minohoura. 2002. Enzymatic Degradation Behavior of Porous Silk Fibroin Sheets. *Biomaterials* 24 (2003) 357-365
- Li, Jianqing., W. Qiuke, Y. Gu, Y. Zhu, L. Chen, Y. Chen. 2017. Production of Composite Scaffold Containing Silk Fibroin, Chitosan, and Gelatin for 3D Cell Culture and Bone Tissue Regeneration. *Medical Science Monitor* 23: 5311-5320
- Libbrecht, K. G. 2005. *The Physic of Snow Crystals*. Pasadena. Institute of Physch Publishing.
- Lu, Y., S. Zhang, X. Liu, S. Ye, X. Zhou, Q. Huang, L. Ren. 2017. Silk/agarose scaffolds with tunable properties: Via SDS assisted rapid gelation. *RSC Advances*, 7(35), 21740–21748.
- Luetchford, Kim A., Julian B. Chaudhurib, Paul A. De Banka. 2019. Silk Fibroin/Gelatin Microcarriers as Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Materials Science & Engineering C*. 106(2020): 1-9.
- Luo, Zuwoi., Q. Zhang, M. Shi, Y. Zhang, W. Tao, M. Li. 2015. Effect of Pore Size on the Biodegradation Rate of Silk Fibroin Scaffolds. *Advances in Materials Science and Engineering* Volume 2015, ID 315397
- Marelli, Benedetto, N. Patel, T. Duggan, G. Perotto, E. Shirman, C. Lia, D. L. Kaplan, F. G. Omenetto. 2016. Programming function into mechanical forms by directed assembly of silk bulk materials. *PNAS Early Edition*



- Melke, Johanna, S. Midha, S. Ghosh, K. Ito, S. Hofmann. 2015. Silk fibroin as biomaterial for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia*
- Milla, Lalita El., D.J. Indrani, B. Irawan. 2018. Sintesis dan Uji Porositas *Scaffold* Hidroksiapatit/Alginat. *Odonto Dental Journal* Volume 5. Nomer 1
- Mobika, J., M. Rajkumar, S.P. Linto Sibi, V. N. Priya. 2020. Fabrication of bioactive hydroxyapatite/silk fibroin/gelatin cross-linked nanocomposite for biomedical application. *Materials Chemistry and Physics* 250: 123187
- Moisenovich, M et al. 2014. Composite Scaffolds Containing Silk Fibroin, Gelatin, and Hydroxyapatite for Bone Tissue Regeneration and 3D Cell Culturing. *Acta naturae* Vol. 6 No. 1 (20)
- Muyonga, J.H., C.G.B. Cole, K.G. Duodu. 2004. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry* 85: 81–89
- Nanci, A. 2005. *Oral Histology Development Structure And Function* 6th edition. Mosby Elsevier. New Delhi, p: 111-144
- Neve, A., Cantatore FP, Maruotti N, Carrado A, Ribatti D. 2014. Extracellular matrix modulates angiogenesis in physiological ad pathological conditions. *BioMed Res*; 1: 1-10
- Nisal, Anuya, R. Sayyad, P. Dhavale, B. Khude, R. Deshpande, V. Mapare, S. Shukla, P. Venugopalan. 2018. Silk fibroin micro-particle scaffolds with superior compression modulus and slow bioresorption for effective bone regeneration. *Scientific Reports* | 8:7235
- Noviyanti, Nur Wahyu. 2018. Karakteristik *Scaffold* Hidroksiapatit Limbah *Dental Gypsum* Tipe II (DGHA II)-Gelatin Menggunakan Metode *Freeze Drying* dengan Rasio Komposisi yang Berbeda. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Nugraha, Febri Ramdani. 2018. Evaluasi Arsitektur dan Permeabilitas Scaffold Fibroin Sutra Hasil Fabrikasi Direct Dissolution Salt Leaching. *Tesis*. Institut Teknologi Bandung
- Nurwenda, H., F. Lestari, S. Hazar. 2011. Uji Aktivitas Hemostatik Ekstrak Protein Fibroin Kepompong Ulat Sutera (*Bombyx Mori*) pada Mencit Jantan Galur Swiss-Webster. *Prosiding SNaPP2011 Sains, Teknologi, dan Kesehatan*; 2(1): 165-72.
- Oduote, Jamiu K., Y. Danyuo, A. D. Baruwa, A. A. Azeez. 2019. Synthesis and Characteristic of Hydroxyapatite from Bovine Bone for Production of Dental Implant. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*. 00(0): 1-7



- Othsuki, M. 2009. Bone-grafting Materials Their Uses Advantages and Disadvantages. *The Journal of the American Dental Association*, Vol. 133.
- Park, Ye Ri, H.W. Ju, J. M. Lee, D. Kim, O. J. Lee, B M. Moon, H. J. Park, J. Y. Jeong, Y. K. Yeon, C. H. Park. 2016. Three-dimensional electrospun silk-fibroin nanofiber for skin tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules* 93:1567–1574
- Petrauskaite, Odeta, G. Juodzbaly, P. Viskelis, J. Liesiene. 2016. Control of The Porous Structure of Cellulose-Based Tissue Engineering Scaffolds by Means of Lyophilization. *Cellulose Chemistry and Technology*. 50(1): 23-30.
- Rahmitasari, Fitria. 2016. *Scaffold* 3D kitosan dan kolagen sebagai *graft* pada kasus kerusakan tulang (Study Pustaka). *Jurnal Material Kedokteran Gigi* 5(2):1-7
- Ramadoss, Preethi., V. Subha, S. Kirubanandan. 2018. Gelatin-Silk Fibroin Composite Scaffold as A Potential Skin Graft Material. *Journal of Materials Science & Surface Engineering*, 6(2): 761-766
- Reksoprawiro, S. 2006. Bedah Kepala Leher XI Penggunaan Miniplate pada Penatalaksanaan Fraktur Maxilofacial. *Farmacia*. Vol.7 No.1. Surabaya,p : 56.
- Rivera-Muñoz, Eric M. 2011. Hydroxyapatite-Based Materials: Synthesis and Characterization. *Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges*. Mexico: Universidad Nacional Autónoma de México
- Rocha, A. F. Lemos, S. Kannan, S. Agathopoulos, J. M. F. Ferreira. 2005. Hydroxyapatite scaffolds hydrothermally grown from aragonitic cuttlefish bones. *Journal of Materials Chemistry* Issue 47
- Rockwood, D. N., R.C. Preda, T. Yücel, X. Wang, M.L. Lovett, D.L. Kaplan .2011. Materials fabrication from Bombyx mori silk fibroin. *Nature Protocols*, 6(10), 1612–1631
- Sah, Mahesh Kumar, A. Kumar, K. Pramanik. 2010. The extraction of fibroin protein from *Bombyx mori* silk cocoon: Optimization of process parameters. *International Journal of Bioinformatics Research*, ISSN: 0975–3087, Volume 2, Issue 2
- Santin, Matteo., S. P. Denyer, A.W. Lloyd, A. Motta. 2002. Domain-Driven Binding of Fibrin(ogen) onto Silk Fibroin Biomaterials. *Journal Of Bioactive And Compatible Polymers*, Vol. 17
- Savina, I. N., G. C. Ingavle, A. B. Cundy, dan S. V. Mikhalovsky. 2016. A Simple Method for Production of Large Volume 3D Macroporous Hydrogel for Advanced Biotechnological, Medical, and Environmental Applications. *Scientific Reports*. 6:21154.

- Scaglione, S., P. Giannoni, P. Bianchini, M. Sandri, R. Marotta, G. Firpo, U. Valbusa, A. Tampieri, A. Diaspro, P. Bianco, dan R. Quarto. 2012. Order Versus Disorder: In Vivo Bone Formation within Osteoconductive Scaffolds. *Scientific Reports*. 2(274): 1-6.
- Sibte, S., A. Abidi, Q. Murtaza. 2014. Synthesis and Characterization of Nano-hydroxyapatite Powder Using Wet Chemical Precipitation Reaction. *J Mater Sci Technol*;30(4):307-10.
- Teimouri, A., M. Azadi, R. Emadi, J. Lari, A.N. Chermahini. 2015. Preparation, characterization, degradation and biocompatibility of different silk fibroin based composite scaffolds prepared by freeze-drying method for tissue engineering application. *Polymer Degradation and Stability*, 121, 18-29.
- Thorpe, Abbey, S. Creasey, C. Sammon, C.L. Le Maitre. 2016. Hydroxyapatite nanoparticle injectable hydrogel scaffold to support osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Novel Nanoparticle European Cells and Materials* Vol. 32 ISSN: 1473-2262
- Tripathi G dan B. Basu . 2012. A porous hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering: Physico-mechanical and biological evaluations. *Ceram Int.*;38(1):341-9.
- Varkey, A., E. Venugopal, P. Sugumaran, G. Janarthanan, M.M. Pillai, S. Rajendran. 2015. Impact of silk fibroin based scaffold structures on human osteoblast MG63 cell attachment and proliferation. *Int J Nanomed*:10;43-5.
- Venkatesan, J., I. Bhatnagar, P. Manivasagan, K. Kang, S. Kim. 2015. Alginate composites for bone tissue engineering: A review. *Int J Biol Macromol.*;72:269-81
- Virlan, MJR., B. Calenic, C. Zaharia, M. Greabu. 2015. Silk-fibroin and potential uses in regenerative dentistry - A systematic review. *Stoma Edu J*; 1(2): 32-9
- Weska, R. F., W. C. Vieira, G.M. Nogueira, M.M. Beppu. 2009. Effect of freezing methods on the properties of lyophilized porous silk fibroin membranes. *Materials Research*, 12(2), 233-237.
- Wibowo, Untung Ari. 2015. Kajian Awal Pembuatan Scaffold Berbahan Dasar Fibroin Sutera untuk Aplikasi Rekayasa Jaringan Kulit. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Wibowo, Untung Ari. 2018. Pengembangan Material *Scaffold* Fibroin Sutra untuk Aplikasi Rekayasa Jaringan Kartilago. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan Dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama

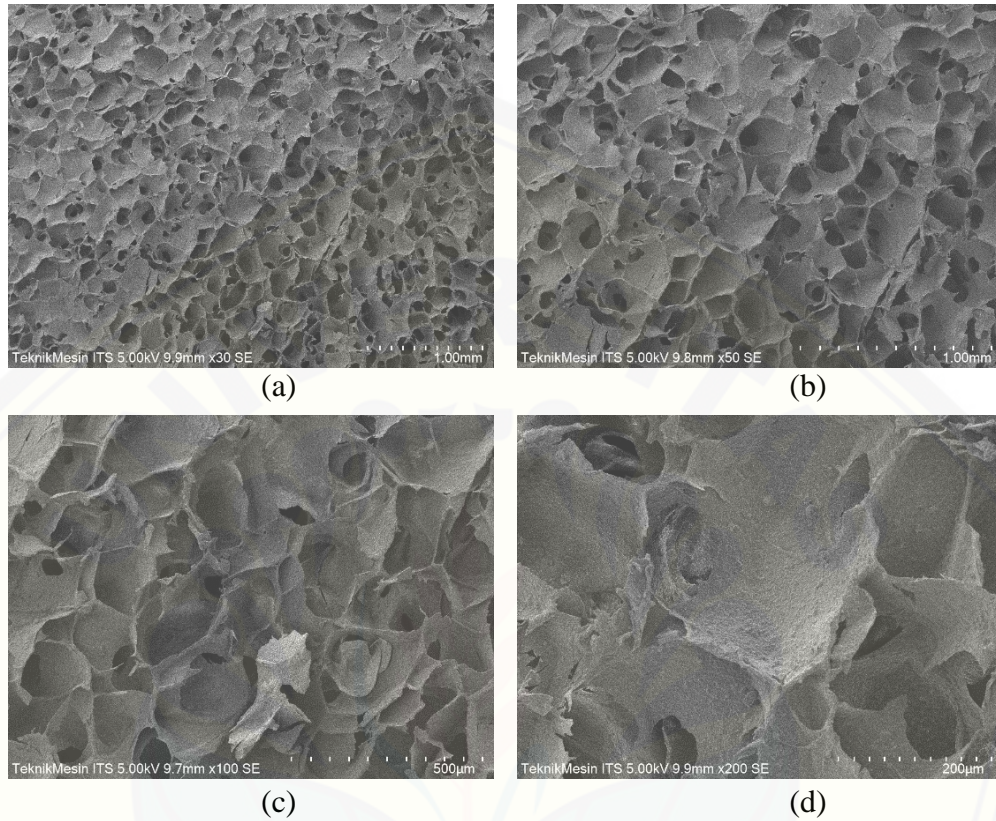
Zafar, M., H. Khalid, K. Al-Samadani. 2014. Potential use of natural silk-fibroin for bio-dental applications. *J Taibah Univ Med Sci*:9(3); 171-3

Zhang, Y.Q. 2018. Preparation of Silk Fibroin Nanoparticles and Enzyme-Entrapped Silk Fibroin Nanoparticles. *Bio-Protocol*, 8(24), 20–24.



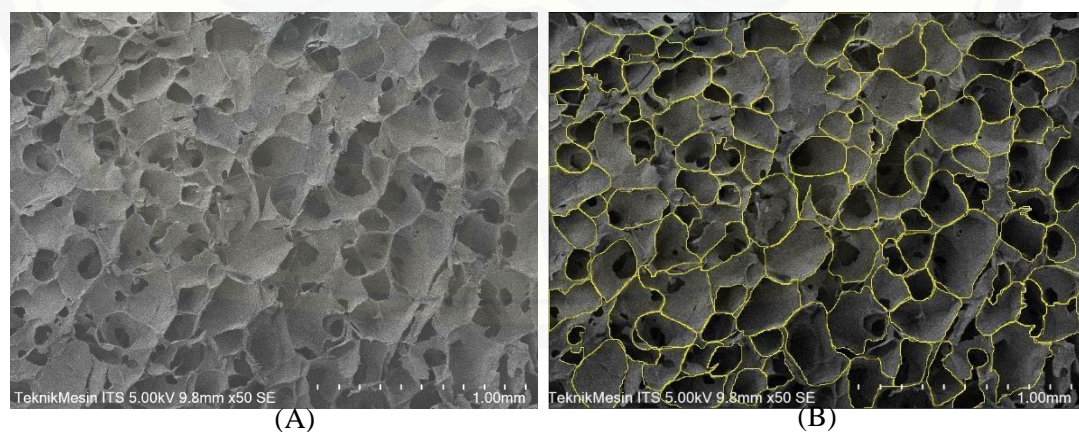


## Lampiran A. Hasil Uji SEM

A.1 Hasil Uji SEM *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF 2,8%

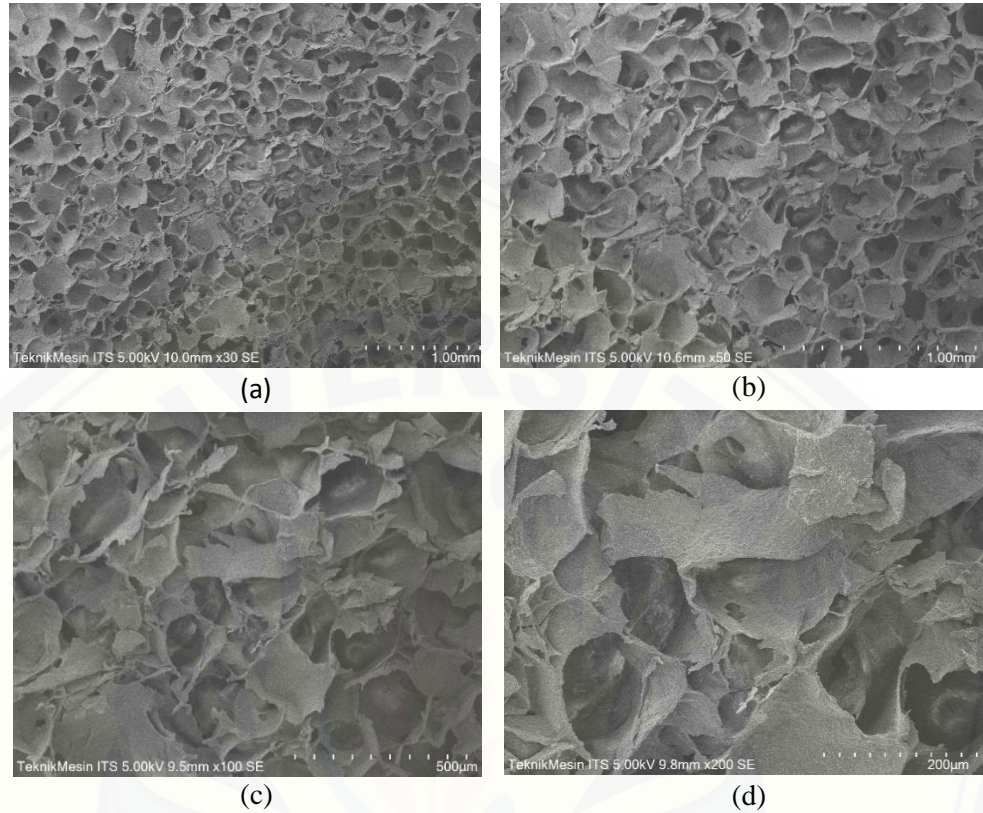
(a) Perbesaran 30x; (b) Perbesaran 50x; (c) Perbesaran 100x; (d) Perbesaran 200x

Gambar Hasil SEM Kelompok 1



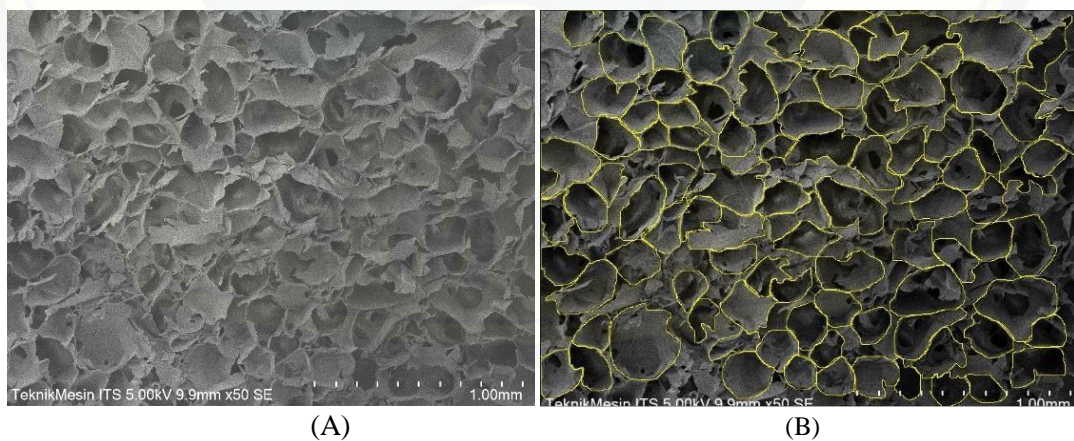
Gambar SEM perbesaran 50x (A) dan (B) analisa pori menggunakan *software ImageJ*



A.2 Hasil uji SEM *scaffold* DGHA-Gelatin-SF 2%

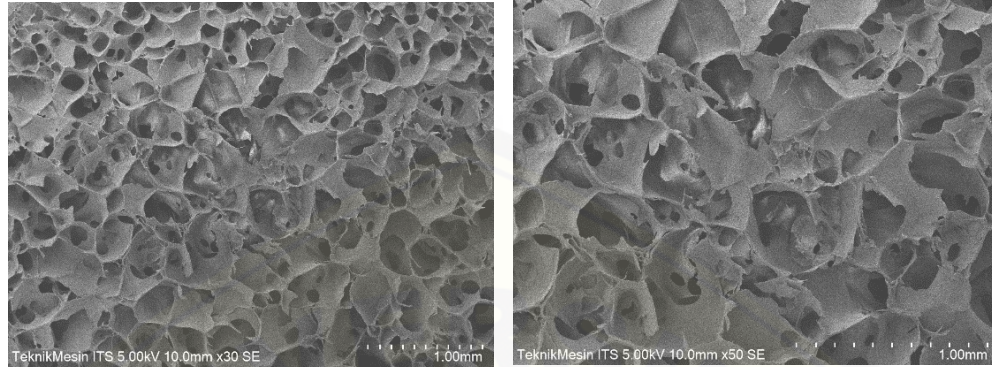
Perbesaran 30x; b) Perbesaran 50x; c) Perbesaran 100x; d) Perbesaran 200x

Gambar Hasil SEM Kelompok 2



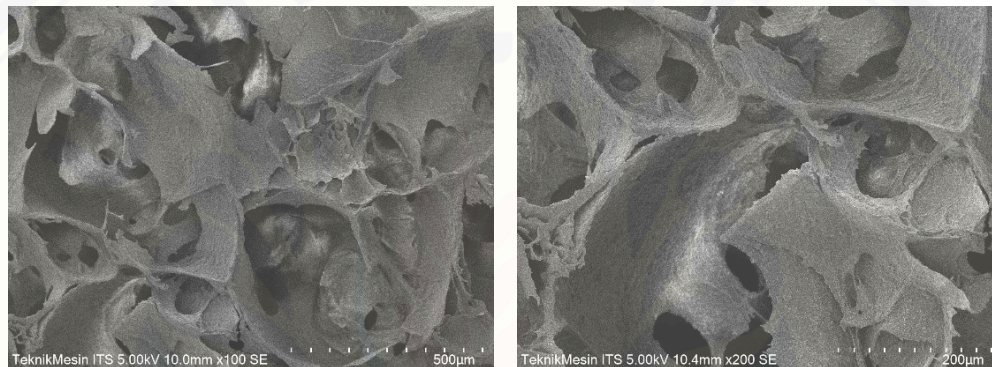
Gambar SEM perbesaran 50x (A) dan (B) analisa pori menggunakan *software ImageJ*



A.3 Hasil uji SEM *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF 1,2%

(a)

(b)

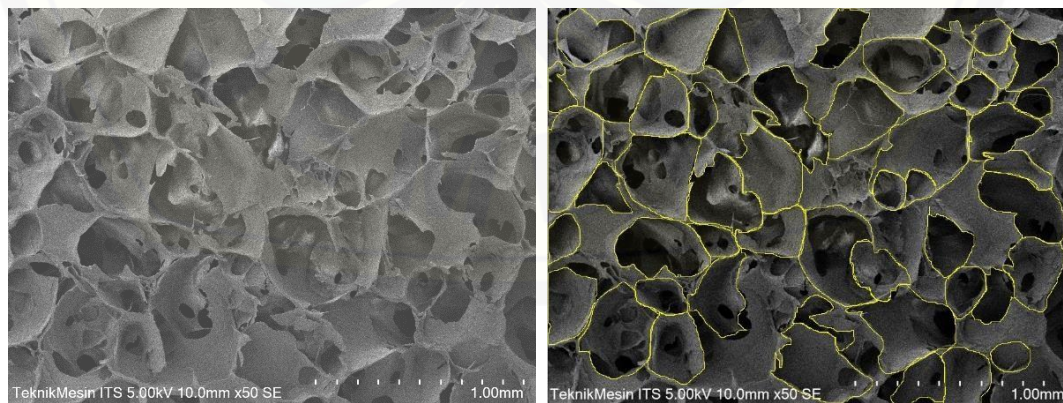


(c)

(d)

a) Perbesaran 30x; b) Perbesaran 50x; c) Perbesaran 100x; d) Perbesaran 200x

Gambar Hasil SEM *scaffold* Kelompok 3



(A)

(B)

Gambar SEM perbesaran 50x (A) dan (B) analisa pori menggunakan *software ImageJ*

## Lampiran B. Hasil Uji FTIR

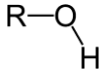
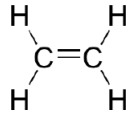
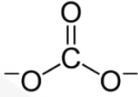
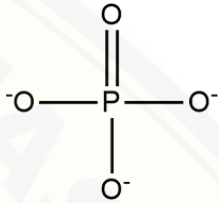
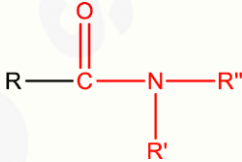
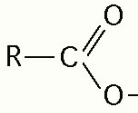
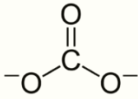
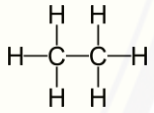
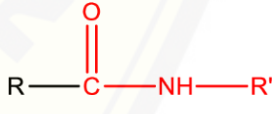
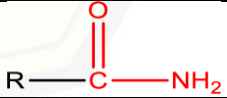
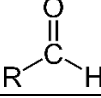
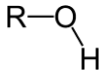
## B.1 Puncak-puncak spektrum IR Scaffold DGHA-Gelatin-SF 2,8%

| Puncak (cm <sup>-1</sup> ) | Ikatan                        | Tipe Senyawa              | Gugus Fungsi |
|----------------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------|
| 613.40                     | O-H                           | Hidroksil                 |              |
| 638.67                     | O-H                           | Alcohol                   |              |
| 668.26                     | C=C                           | Alkene                    |              |
| 695.30                     | C=C                           | Alkene                    |              |
| 943.97                     | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | Phosphate                 |              |
| 974.60                     | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | Phosphate                 |              |
| 1042.45                    | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | Phosphate                 |              |
| 1241.15                    | N-H                           | Tertiary Amide (β-sheet)  |              |
|                            | C-N                           | Tertiary Amide (β-sheet)  |              |
| 1338.26                    | (C=O)O                        | Carboxylic                |              |
| 1397.42                    | (C=O)O                        | Carboxylic                |              |
| 1418.41                    | CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> | Karbonat                  |              |
| 1435.48                    | CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> | Karbonat                  |              |
| 1455.88                    | CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> | Karbonat                  |              |
| 1521.45                    | N-H                           | Secondary amide (β-sheet) |              |
| 1540.12                    | N-H                           | Secondary amide           |              |
| 1555.69                    | N-H                           | Secondary amide           |              |
| 1649.42                    | C=C                           | Alkene                    |              |
| 3275.51                    | N-H                           | Secondary amine           |              |
|                            | O-H                           | Hidroksil                 |              |

## B.2 Puncak-puncak spektrum IR Scaffold DGHA-Gelatin-SF 2%

| Puncak ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Ikatan             | Tipe Senyawa                      | Gugus Fungsi |
|-----------------------------|--------------------|-----------------------------------|--------------|
| 632.78                      | O-H                | Alcohol                           |              |
| 675.65                      | C=C                | Alkene                            |              |
| 702.80                      | C=C                | Alkene                            |              |
| 743.64                      | C-H                | Aromatik                          |              |
| 791.97                      | C-H                | Aromatik                          |              |
| 976.32                      | $\text{PO}_4^{3-}$ | Phosphate                         |              |
| 1039.82                     | $\text{PO}_4^{3-}$ | Phosphate                         |              |
| 1088.90                     | $\text{PO}_4^{3-}$ | Phosphate                         |              |
| 1241.26                     | N-H                | Tertiary amide ( $\beta$ -sheet)  |              |
|                             | C-N                | Tertiary amide ( $\beta$ -sheet)  |              |
| 1338.22                     | (C=O)O             | Carboxylic                        |              |
| 1398.84                     | (C=O)O             | Carboxylic                        |              |
| 1455.72                     | $\text{CO}_3^{2-}$ | Karbonat                          |              |
| 1521.85                     | N=H                | Secondary amide ( $\beta$ -sheet) |              |
| 1540.04                     | N=H                | Secondary amide (random coil)     |              |
| 1648.86                     | C=C                | Alkene                            |              |
| 1746.90                     | C=O                | Ester                             |              |
| 3305.39                     | N-H                | Secondary amine                   |              |
|                             | O-H                | Hidroksil                         |              |

B.3 Puncak-puncak spektrum IR *scaffold* DGHA-Gelatin-SF 1,2%

| Puncak (cm <sup>-1</sup> ) | Ikatan                                     | Tipe Senyawa             | Gugus Fungsi  |
|----------------------------|--|--------------------------|---|
| 618.37                     | O-H  | Alcohol                  |    |
| 648.56                     | O-H  | Alcohol                  |   |
| 688.77                     | C=C  | Alkene                   |    |
| 827.46                     | C=C  | Alkene                   |   |
| 870.87                     | CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>              | Karbonat                 |    |
| 925.22                     | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> sym stretch  | Phosphate                |    |
| 947.26                     | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> sym stretch  | Phosphate                |   |
| 1038.73                    | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> asym stretch | Phosphate                |   |
| 1090.34                    | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> asym stretch | Phosphate                |   |
| 1240.08                    | C-N; N-H                                   | Tertiary amide β – Sheet |   |
| 1339.26                    | (C=O)O                                     | Carboxyl                 |  |
| 1375.43                    | (C=O)O                                     | Carboxyl                 |   |
| 1417.51                    | CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>              | Karbonat                 |  |
| 1453.47                    | C-H bend                                   | alkane                   |  |
| 1541.29                    | N-H; C-N                                   | Secondary amide          |  |
| 1635.34                    | C=O  | Primary amide β – Sheet  |  |
| 1735.25                    | C=O  | Aldehyde                 |  |
| 3304.11                    | O-H  | Hydroxyl                 |  |
|                            | N-H  | Aliphatic primary amine  |   |



Lampiran C. Hasil Uji Porositas *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF

## C.1 Hasil Uji Porositas

| Scaffold             | No | Berat Awal | Volume Awal | Volume Cairan + Scaffold | Volume Akhir | Porositas |        |              | Standar Deviasi |
|----------------------|----|------------|-------------|--------------------------|--------------|-----------|--------|--------------|-----------------|
|                      |    |            |             |                          |              | V1-V3     | V2-V3  | Hasil x 100% |                 |
| DGHA-Gelatin-SF 2,8% | 1  | 52,8       | 2           | 2,09                     | 1,48         | 0,52      | 0,61   | 85,2459      | 1,287819        |
|                      | 2  | 50,2       | 2           | 2,09                     | 1,58         | 0,42      | 0,51   | 82,35294     |                 |
|                      | 3  | 52,8       | 2           | 2,09                     | 1,5          | 0,5       | 0,59   | 84,74576     |                 |
|                      | 4  | 57,6       | 2           | 2,1                      | 1,49         | 0,51      | 0,61   | 83,60656     |                 |
| Rata-rata            |    | 53,35      | 2           | 2,0925                   | 1,5125       | 0,4875    | 0,58   | 83,98779     |                 |
| DGHA-Gelatin-SF 2%   | 1  | 57,8       | 2           | 2,14                     | 1,42         | 0,58      | 0,72   | 80,55556     | 2,209007        |
|                      | 2  | 46         | 2           | 2,1                      | 1,48         | 0,52      | 0,62   | 83,87096     |                 |
|                      | 3  | 49,1       | 2           | 2,13                     | 1,5          | 0,5       | 0,63   | 79,36508     |                 |
|                      | 4  | 52,6       | 2           | 2,13                     | 1,51         | 0,49      | 0,62   | 79,03226     |                 |
| Rata-rata            |    | 51,375     | 2           | 2,125                    | 1,47         | 0,52      | 0,647  | 80,70597     |                 |
| DGHA-Gelatin-SF 1,2% | 1  | 40,8       | 2           | 2,11                     | 1,44         | 0,56      | 0,67   | 83,58209     | 1,699917        |
|                      | 2  | 47,8       | 2           | 2,12                     | 1,53         | 0,47      | 0,59   | 79,66102     |                 |
|                      | 3  | 45,3       | 2           | 2,12                     | 1,49         | 0,51      | 0,63   | 80,95238     |                 |
|                      | 4  | 46         | 2           | 2,12                     | 1,44         | 0,56      | 0,68   | 82,35294     |                 |
| Rata-rata            |    | 44,975     | 2           | 2,1175                   | 1,475        | 0,525     | 0,6425 | 81,63711     |                 |

C.2 Hasil uji statistik Porositas *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF1. Hasil Uji Normalitas Porositas *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF

## Tests of Normality

|           | KELOMPOK                      | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|-----------|-------------------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|           |                               | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| POROSITAS | Scaffold DGHA-Gelatin-SF 2,8% | ,222                            | 4  | .    | ,953         | 4  | ,736 |
|           | Scaffold DGHA-Gelatin-SF 2%   | ,278                            | 4  | .    | ,847         | 4  | ,218 |
|           | Scaffold DGHA-Gelatin-SF 1,2% | ,163                            | 4  | .    | ,989         | 4  | ,951 |

a. Lilliefors Significance Correction



2. Hasil Uji Homogenitas Porositas *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF

Test of Homogeneity of Variance

|               |   | Levene<br>Statistic | df1 | df2   | Sig. |
|---------------|---|---------------------|-----|-------|------|
| POROSITA<br>S | Based on Mean                           | ,421                | 2   | 9     | ,669 |
|               | Based on Median                         | ,221                | 2   | 9     | ,806 |
|               | Based on Median and<br>with adjusted df | ,221                | 2   | 5,074 | ,809 |
|               | Based on trimmed mean                   | ,340                | 2   | 9     | ,721 |

3. Hasil Uji *One Way Anova* Porositas *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF

ANOVA

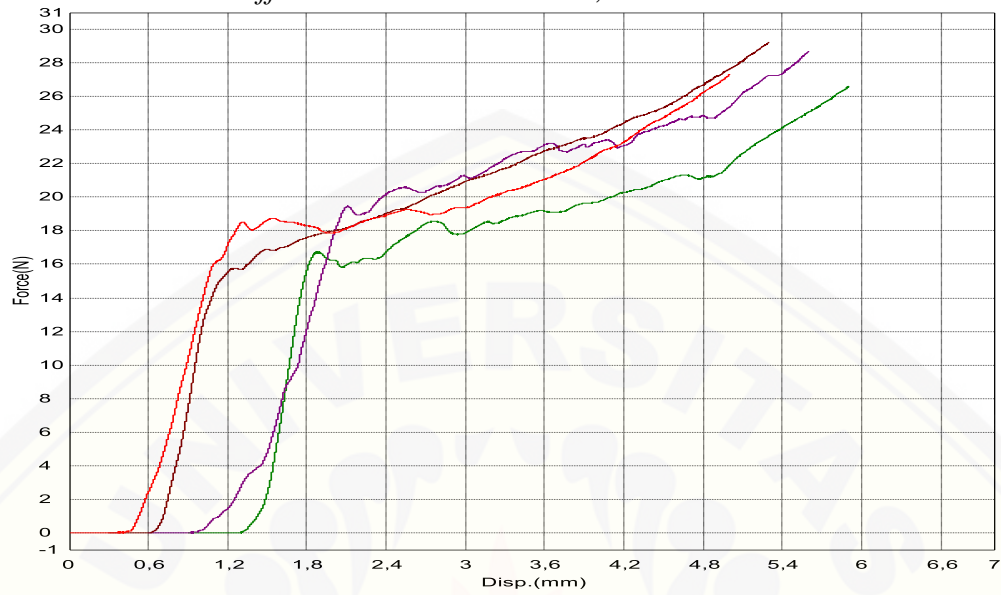
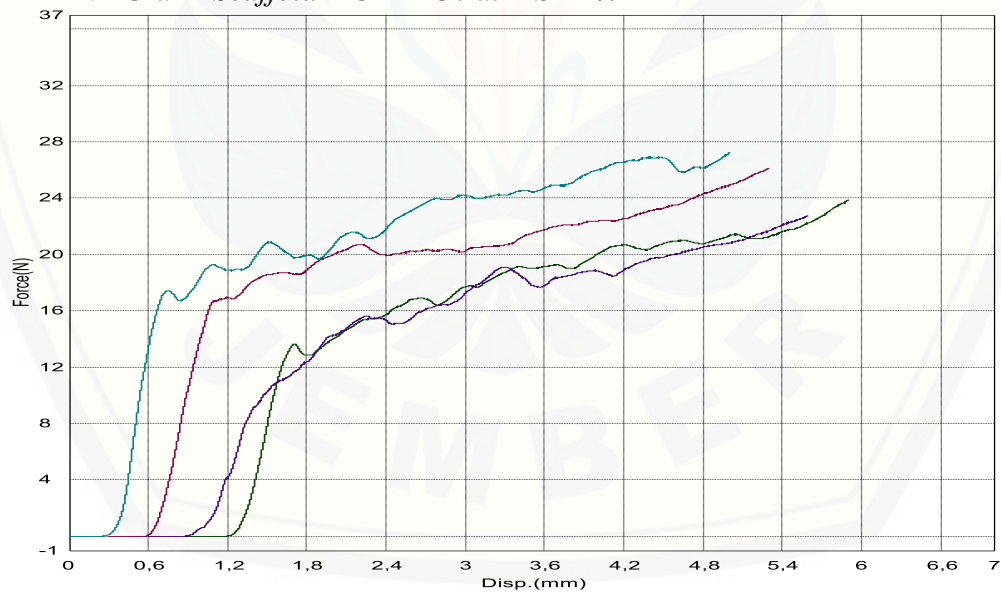
| POROSITAS      |                |    |             |       |      |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
| Between Groups | 22,923         | 2  | 11,462      | 3,645 | ,069 |
| Within Groups  | 28,300         | 9  | 3,144       |       |      |
| Total          | 51,224         | 11 |             |       |      |

## Lampiran D. Hasil Uji Mekanik Scaffold DGHA-Gelatin-SF

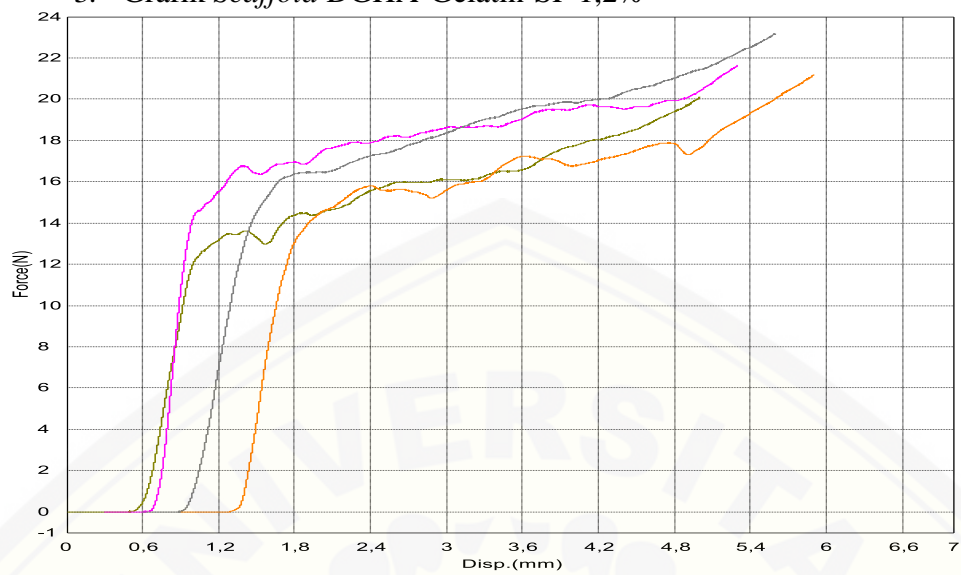
## D.1 Hasil uji mekanik

| Name               | Max_Force             | Elastic               | Max_Stress            |
|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Parameter          | Calc. at Entire Areas | Force 9,999999 - 20 N | Calc. at Entire Areas |
| Pass/Fail          |                       |                       |                       |
| Unit               | N                     | N/mm2                 | N/mm2                 |
| Print              | TRU<br>E              | TRU<br>E              | TRU<br>E              |
| 1 _ 1 (SF 2,8%)    | 27,3091               | 243,831               | 34,771                |
| 1 _ 2 (SF 2,8%)    | 29,2328               | 446,956               | 37,2204               |
| 1 _ 3 (SF 2,8%)    | 28,7058               | 1836,68               | 36,5493               |
| 1 _ 4 (SF 2,8%)    | 26,5959               | 269,323               | 33,863                |
| Average            | 27,9609               | 699,198               | 35,6009               |
| Standard Deviation | 1,21938               | 763,685               | 1,55256               |
| Maximum            | 29,2328               | 1836,68               | 37,2204               |
| Minimum            | 26,5959               | 243,831               | 33,863                |
| 2 _ 1 (SF 2%)      | 27,2204               | 881,942               | 34,6581               |
| 2 _ 1 (SF 2%)      | 26,1297               | 744,08                | 33,2694               |
| 2 _ 1 (SF 2%)      | 22,771                | 344,656               | 28,993                |
| 2 _ 1 (SF 2%)      | 23,8737               | 403,973               | 30,3969               |
| Average            | 24,9987               | 593,663               | 31,8294               |
| Standard Deviation | 2,03661               | 260,587               | 2,59309               |
| Maximum            | 27,2204               | 881,942               | 34,6581               |
| Minimum            | 22,771                | 344,656               | 28,993                |
| 3 _ 1 (SF 1,2%)    | 20,1025               | 218,444               | 25,5953               |
| 3 _ 2 (SF 1,2%)    | 21,6443               | 165,804               | 27,5583               |
| 3 _ 3 (SF 1,2%)    | 23,1932               | 278,121               | 29,5305               |
| 3 _ 4 (SF 1,2%)    | 21,1832               | 174,206               | 26,9713               |
| Average            | 21,5308               | 209,144               | 27,4139               |
| Standard Deviation | 1,28288               | 51,4566               | 1,63341               |
| Maximum            | 23,1932               | 278,121               | 29,5305               |
| Minimum            | 20,1025               | 165,804               | 25,5953               |

## D.2 Grafik Hasil Uji Mekanik

1. Grafik *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF 2,8%2. Grafik *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF 2%

## 3. Grafik Scaffold DGHA-Gelatin-SF 1,2%



D.3 Hasil uji Statistik Mekanik *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF

1. Uji Normalitas *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF

**Tests of Normality**

|       | KELOMPOK                          | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|-------|-----------------------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|       |                                   | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| TEKAN | DGHA-Gelatin-Silk<br>Fibroin 2,8% | ,229                            | 4  | .    | ,937         | 4  | ,637 |
|       | DGHA-Gelatin-Silk<br>Fibroin 2%   | ,211                            | 4  | .    | ,947         | 4  | ,699 |
|       | DGHA-Gelatin-Silk<br>Fibroin 1,2% | ,215                            | 4  | .    | ,981         | 4  | ,908 |

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas *Scaffold* DGHA-Gelatin-SF

**Test of Homogeneity of Variance**

|   | Levene Statistic | df1 | df2   | Sig. |
|---|------------------|-----|-------|------|
| Based on Mean                                 | 1,921            | 2   | 9     | ,202 |
| Based on Median                               | 1,886            | 2   | 9     | ,207 |
| TEKAN Based on Median and with<br>adjusted df | 1,886            | 2   | 7,130 | ,220 |
| Based on trimmed mean                         | 1,921            | 2   | 9     | ,202 |

3. Uji *One Way Anova Scaffold* DGHA-Gelatin-SF

**ANOVA**

TEKAN

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | ,033           | 2  | ,016        | 17,072 | ,001 |
| Within Groups  | ,009           | 9  | ,001        |        |      |
| Total          | ,041           | 11 |             |        |      |



4. Uji LSD Scaffold DGHA-Gelatin-SF

Multiple Comparisons

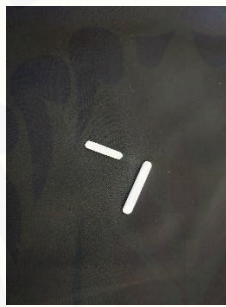
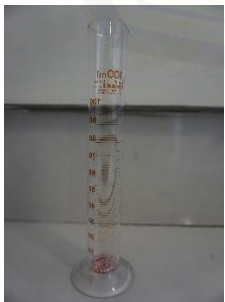
Dependent Variable: TEKAN LSD

| (I) KELOMPOK                      | (J) KELOMPOK      | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|-----------------------------------|-------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|                                   |                   |                       |            |      | Lower Bound             | Upper Bound |
| DGHA-Gelatin-Silk<br>Fibroin 2,8% | DGHA-Gelatin-Silk | ,05896100             | ,021925    | ,025 | ,0093614                | ,1085605    |
|                                   | Fibroin 2%        | 0*                    | 774        |      | 5                       | 5           |
| DGHA-Gelatin-Silk<br>Fibroin 2%   | DGHA-Gelatin-Silk | ,12798775             | ,021925    | ,000 | ,0783882                | ,1775873    |
|                                   | Fibroin 1,2%      | 0*                    | 774        |      | 0                       | 0           |
| DGHA-Gelatin-Silk<br>Fibroin 2%   | DGHA-Gelatin-Silk | ,05896100             | ,021925    | ,025 | ,1085605                | ,0093614    |
|                                   | Fibroin 2,8%      | 0*                    | 774        |      | 5                       | 5           |
| DGHA-Gelatin-Silk<br>Fibroin 1,2% | DGHA-Gelatin-Silk | ,06902675             | ,021925    | ,012 | ,0194272                | ,1186263    |
|                                   | Fibroin 1,2%      | 0*                    | 774        |      | 0                       | 0           |
| DGHA-Gelatin-Silk<br>Fibroin 1,2% | DGHA-Gelatin-Silk | ,12798775             | ,021925    | ,000 | ,1775873                | ,0783882    |
|                                   | Fibroin 2,8%      | 0*                    | 774        |      | 0                       | 0           |
| DGHA-Gelatin-Silk<br>Fibroin 2%   | DGHA-Gelatin-Silk | ,06902675             | ,021925    | ,012 | ,1186263                | ,0194272    |
|                                   | Fibroin 2%        | 0*                    | 774        |      | 0                       | 0           |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level

## Lampiran E. Alat dan Bahan

## E.1 Alat

*Vacuum pump**Spatula aluminium**Pinset**Gunting**Termometer**Magnetic stirrer**Aluminium foil**Penjepit**Handsoon**Microtube**Conical Tube**Pipet**Gelas ukur**Beaker glass**Bottle glass**Micropipet*



Petridisk



Neraca



Homogenizer sonic ruptor



Vacuum chamber



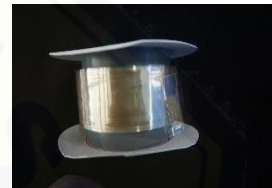
Vibrator



Hotplate stirrer



Baki



Membran dialisis



Oven



Centrifuge



Lemari pendingin



freezer

E.2 Bahan



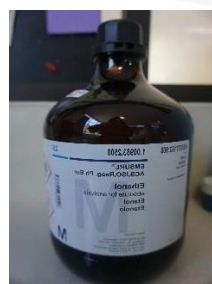
Kokon *Bombyx mori*



Gelatin



DGHA II



Ethanol



CaCl<sub>2</sub>



Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>



Hexane



Lampiran F. Prosedur Penelitian

F. 1 Pembuatan *Silk Fibroin* (SF)

F.1.1 Proses *Degumming*



Memotong kokon



Memanaskan 2 L aquades



Menimbang 4240 mg  $\text{Na}_2\text{CO}_3$



Memasukkan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sebelum mendidih



Mengeringkan SF



Membilas SF dalam aquades



Memeras SF hingga tidak licin



Memasukkan 5 gr kokon

D.1.2 Proses *Dissolving* SF



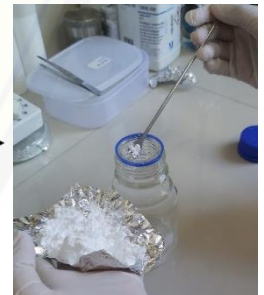
Memanaskan air sampai  $70^\circ\text{C}$



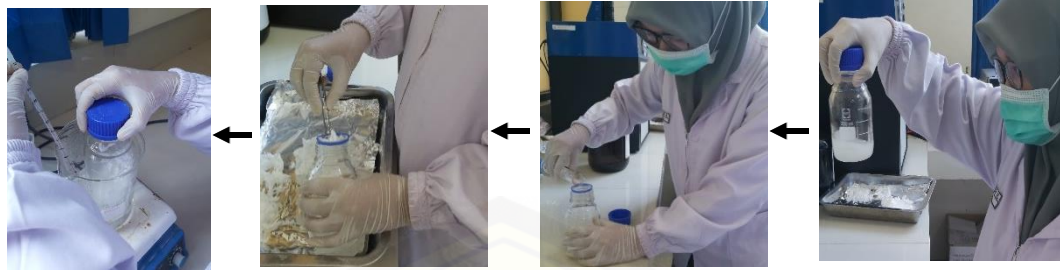
Menimbang  $\text{CaCl}_2$  27.745 mg



Menakar 36 ml  $\text{H}_2\text{O}$



Memasukkan  $\text{CaCl}_2$  dalam  $\text{H}_2\text{O}$

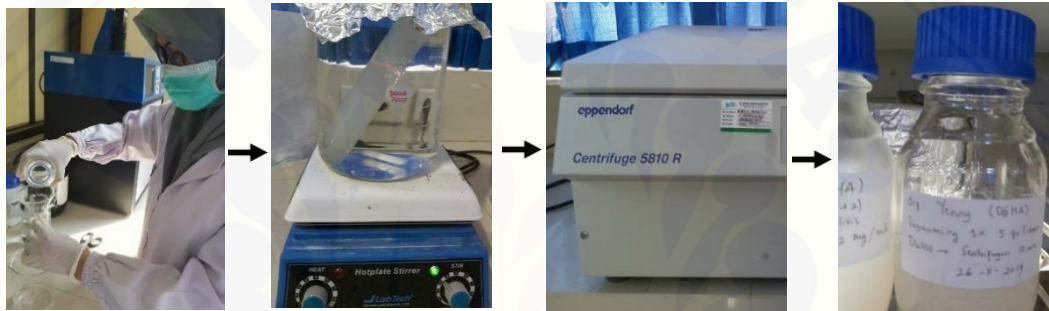


Memasukkan larutan SF pada air suhu 70°C

Memasukkan SF dalam larutan

Memasukkan 18 ml alkohol dalam larutan CaCl<sub>2</sub>

Mengaduk larutan CaCl<sub>2</sub>



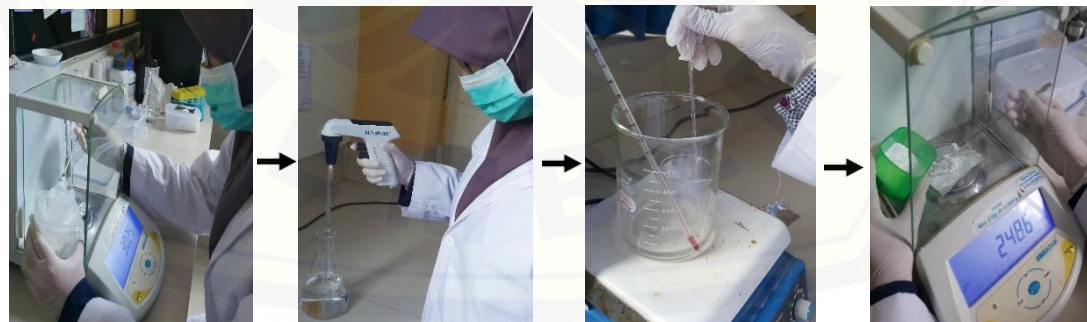
Memindahkan larutan SF ke membran dialisis

Mendialisis SF selama 72 jam

Mensentrifugasi larutan SF

Memasukkan dalam lemari pendingin

### D.2 Proses Pembuatan Sampel



Menimbang 300 mg gelatin

Menakar 3 ml, 5 ml, 7ml aquades

Memanaskan air sampai 40°C

Menimbang 250 mg serbuk DGHA

//





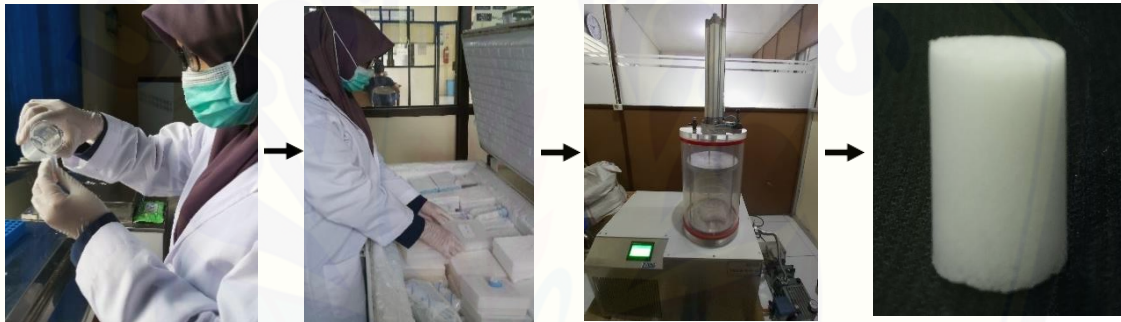


Mencampur larutan dengan *sonicator* selama 4' 30"

Memasukkan larutan SF 3 ml/5ml/ 7ml

Mencampur larutan dengan *sonicator* selama 1'

Memasukkan DGHA dalam larutan gelatin



Memasukkan larutan ke microtube

Memasukkan ke *freezer* -60<sup>0</sup>C, selama 1 jam

Memasukkan ke *freeze dry* -84<sup>0</sup>C selama 24 jam

*Scaffold* DGHA-Gelatin-SF