



**KARAKTERISTIK *SCAFFOLD* DENTAL GIPSUM  
HIDROKSIAPATIT (DGHA) DENGAN KOMBINASI  
SILK FIBROIN (SF) DAN GELATIN (DENGAN  
METODE *FREEZE DRYING*)**

**SKRIPSI**

Oleh

**Nur Fitriyana**

**NIM 161610101094**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**



**KARAKTERISTIK *SCAFFOLD* DENTAL GIPSUM  
HIDROKSIAPATIT (DGHA) DENGAN KOMBINASI  
SILK FIBROIN (SF) DAN GELATIN (DENGAN  
METODE *FREEZE DRYING*)**

**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

**Nur Fitriyana**

**NIM 161610101094**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

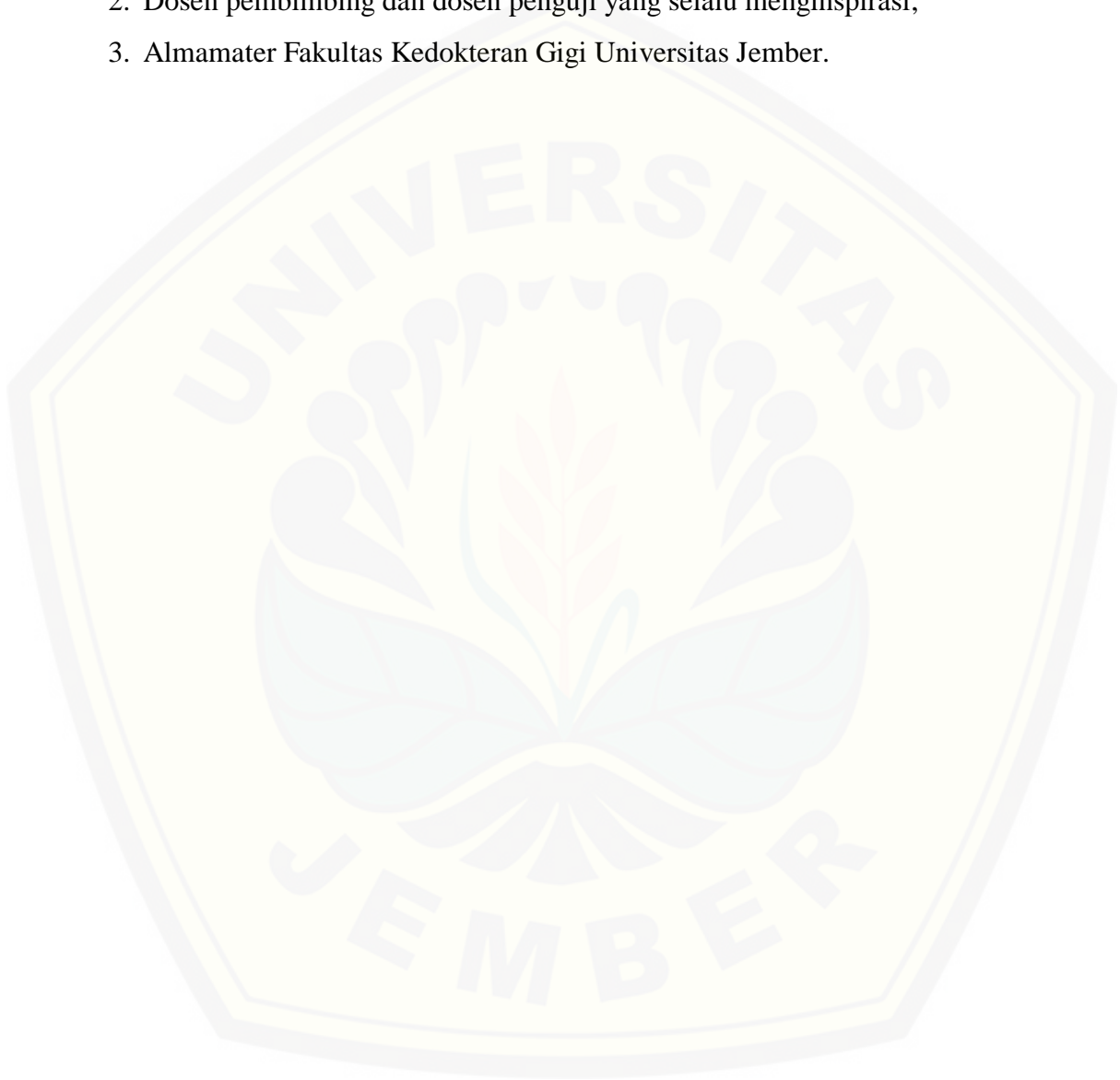
**UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**

**PERSEMBAHAN**

Karya tulis ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Puji Hartini, Ayahanda Tumino, kakak Fajar Setiawan yang saya cintai;
2. Dosen pembimbing dan dosen penguji yang selalu menginspirasi;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



**MOTO**

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.

(terjemahan Surat Al-Mujadalah ayat 11)<sup>\*)</sup>



---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Nur Fitriyana

NIM : 161610101094

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Karakteristik *Scaffold* Dental Gypsum Hidroksiapatit (DGHA) dengan Kombinasi *Silk Fibroin* (SF) dan Gelatin (Dengan Metode *Freeze Drying*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 29 Januari 2020

Yang menyatakan,

Nur Fitriyana

NIM 161610101094

**SKRIPSI**

**KARAKTERISTIK *SCAFFOLD* DENTAL GIPSUM  
HIDROKSIAPATIT (DGHA) DENGAN KOMBINASI  
*SILK FIBROIN* (SF) DAN GELATIN (DENGAN  
METODE *FREEZE DRYING*)**

Oleh

Nur Fitriyana

NIM 161610101094

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MDSc

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Yenny Yustisia, M.Biotech

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Karakteristik *Scaffold* Dental Gypsum Hidroksiapatit (DGHA) dengan Kombinasi *Silk Fibroin* (SF) dan Gelatin (Dengan Metode *Freeze Drying*)” karya Nur Fitriyana telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 29 Januari 2020

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji:

Dosen Penguji Utama,

Dosen Penguji Anggota,

drg. Agus Sumono, M.Kes

NIP 196804012000121001

Dr. drg. Amiyatun Naini, M.Kes

NIP 197112261999032001

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MDSc

NIP 197905052005011005

drg. Yenny Yustisia, M.Biotech

NIP 197903252005012001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

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

NIP 196901121996011001

## RINGKASAN

**Karakteristik Scaffold Dental Gypsum Hidroksiapatit (DGHA) dengan Kombinasi Silk Fibroin (SF) dan Gelatin (Dengan Metode Freeze Drying);**  
Nur Fitriyana; 161610101094; 2020; 75 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

*Scaffold* adalah biomaterial tiga dimensi (3D) yang memfasilitasi sel untuk regenerasi jaringan dan organ. Struktur *scaffold* harus memiliki porositas tinggi dan saling terhubung sehingga memungkinkan perlekatan sel. *Scaffold* yang ideal harus memiliki sifat biokompatibel, bioresorbabel, osteokonduktif, osteoinduktif, dan secara struktural mirip dengan tulang. Hidroksiapatit (HA) merupakan bahan anorganik yang memiliki kesamaan struktur kimia dan fisika dengan mineral penyusun tulang dan gigi, dan dapat digunakan sebagai *scaffold*. Hidroksiapatit dapat diperoleh dari berbagai sumber, salah satunya dapat disintesis dari gipsum ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) kedokteran gigi atau Dental Gypsum Hidroksiapatit (DGHA) yang telah diteliti memiliki karakteristik yang identik dengan HA standar. Akan tetapi, *scaffold* DGHA masih memiliki kekurangan seperti sifat mekaniknya yang rapuh. Oleh karena itu, diperlukan polimer alami untuk memperbaiki karakteristiknya. Polimer alami yang dapat digunakan adalah *Silk Fibroin* (SF) dan gelatin. *Silk Fibroin* memiliki elastisitas yang baik dan kekuatan tarik yang tinggi. Tetapi kurang mampu mendukung perlekatan sel. Sedangkan gelatin, meskipun memiliki kekuatan mekanik yang rendah, gelatin mampu mendukung perlekatan sel dan mampu menginduksi struktur  $\beta$  sheet pada SF yang dapat meningkatkan kekuatan mekanik *scaffold*. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui karakteristik *scaffold* DGHA yang dikombinasikan dengan SF dan gelatin menggunakan metode *freeze drying* kemudian melakukan karakterisasi untuk melihat gugus fungsi, morfologi, porositas, dan kekuatan mekanik *scaffold*.

Hidroksiapatit yang digunakan adalah serbuk hidroksiapatit yang disintesis dari dental gipsum tipe II dan SF yang digunakan diekstraksi dari kokon ulat sutera *Bombyx mori*. Sedangkan gelatin yang digunakan adalah gelatin komersial.



Sampel dibuat dengan menggabungkan ketiga bahan tersebut dan dikelompokkan menjadi empat kelompok, yaitu A (SF 2,8%-Gelatin), B (DGHA-SF 2,8%), C (DGHA-SF 2,8%-Gelatin), dan D (DGHA-SF 1,2%-Gelatin) kemudian dilakukan *freeze drying* untuk dijadikan *scaffold* dan dilakukan uji karakterisasi FTIR, SEM, uji porositas, dan uji mekanik.

Hasil penelitian menunjukkan semua kelompok sampel memiliki karakteristik yang berbeda. Hasil uji FTIR menunjukkan semua sampel mengandung senyawa utama sesuai dengan bahan yang digunakan, yaitu *scaffold* A memiliki senyawa utama SF dan gelatin, *scaffold* B memiliki senyawa utama HA dan SF, *scaffold* C dan *scaffold* D memiliki senyawa utama HA, SF, dan gelatin. Hasil karakterisasi SEM menunjukkan semua sampel menghasilkan porositas dengan ukuran pori yang bervariasi, bentuk *irregular*, dan memiliki interkoneksi. Hasil analisa *Image J Scaffold B* menunjukkan diameter dan luas pori terbesar dibandingkan *scaffold* yang lain, yaitu diameter pori berkisar antara 401,39-1.696  $\mu\text{m}$  dengan rata-rata diameter pori 1.048,69  $\mu\text{m}$ . Sedangkan luas pori berkisar antara 89.000-434.027  $\mu\text{m}^2$  dengan rata-rata 261.513  $\mu\text{m}^2$ . Sedangkan *Scaffold C* menunjukkan diameter dan luas pori terkecil dibandingkan *scaffold* yang lain, yaitu diameter pori *scaffold* berkisar antara 132,64-198,61  $\mu\text{m}$  dengan rata-rata diameter pori 165,62  $\mu\text{m}$ . Sedangkan luas pori berkisar antara 17.000-43.000  $\mu\text{m}^2$  dengan rata-rata 30.000  $\mu\text{m}^2$ . Hasil uji porositas menunjukkan urutan prosentase porositas dari yang terkecil ke yang terbesar yaitu *scaffold* D dengan porositas 81,63%, *scaffold* C dengan porositas 83,98%, *scaffold* A dengan porositas 86,52%, dan *scaffold* B dengan porositas 93,76%. Hasil uji mekanik menunjukkan kekuatan tekan *scaffold* yang berbeda-beda. Urutan kekuatan tekan dari yang terkecil ke yang terbesar, yaitu *scaffold* B dengan rata-rata kekuatan tekan 0,06 MPa, *scaffold* D rata-rata 0,43 MPa, *scaffold* A rata-rata 0,49 MPa, dan *scaffold* C rata-rata 0,56 Mpa.

## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakteristik *Scaffold* Dental Gypsum Hidroksiapatit (DGHA) dengan Kombinasi *Silk Fibroin* (SF) dan Gelatin (Dengan Metode *Freeze Drying*)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Allah Subhanahu wa Ta'ala atas karunia-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Ibunda dan Ayahanda tercinta yang selalu memberikan yang terbaik;
3. drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Pros, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MDSc, selaku Dosen Pembimbing Utama yang melibatkan penulis dalam penelitiannya, memberikan saran, motivasi, dan bimbingan, serta meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
5. drg. Yenny Yustisia, M.Biotech, selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah melibatkan penulis dalam penelitiannya, memberikan saran, motivasi, dan bimbingan serta meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. drg. Agus Sumono, M.Kes, selaku Dosen Penguji Ketua yang telah memberikan saran, kritik, dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
7. Dr. drg. Amiyatun Naini, M.Kes, selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan saran, kritik, dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
8. Semua staf Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
9. Teman-teman yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu;
10. Semua pihak yang terlibat langsung maupun tidak langsung dalam penelitian maupun pembuatan skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 29 Januari 2020

Penulis



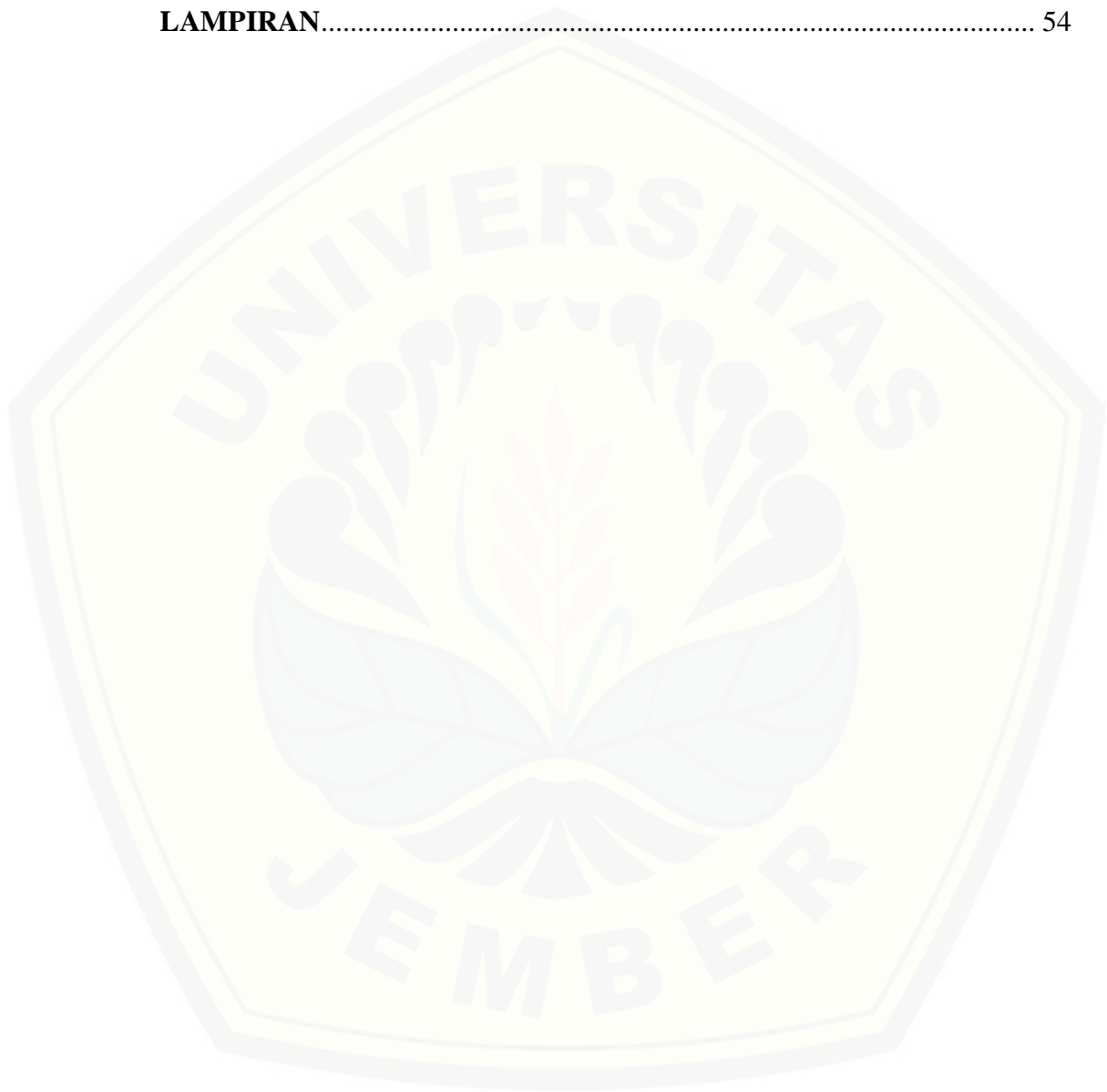
**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PERBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Hidroksiapatit</b> .....	4
2.1.1 Struktur Hidroksiapatit .....	4
2.1.2 Sifat Hidroksiapatit .....	5
2.1.3 Dental Gypsum Hidroksiapatit (DGHA) .....	5
<b>2.2 Silk Fibroin (SF)</b> .....	7
2.2.1 Struktur <i>Silk Fibroin</i> .....	7
2.2.2 Sifat <i>Silk Fibroin</i> .....	9
<b>2.3 Gelatin</b> .....	9
2.3.1 Struktur Gelatin .....	10
2.3.2 Sifat Gelatin .....	10

2.4 Scaffold Hidroksiapatit-Silk Fibroin .....	11
2.5 Scaffold Silk Fibroin-Gelatin.....	11
2.6 Scaffold Hidroksiapatit-Silk Fibroin-Gelatin .....	12
2.7 Metode Freeze Drying .....	13
2.8 Uji Karakterisasi .....	13
2.8.1 Fourier Transform Infrared (FTIR) .....	13
2.8.2 Scanning Electron Microscopy (SEM).....	14
2.8.3 Uji Porositas.....	15
2.8.4 Uji Kekuatan Mekanik.....	16
2.9 Kerangka Konsep .....	17
2.10 Hipotesa .....	18
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>19</b>
<b>Tahap I: Sintesis dan Karakterisasi Scaffold DGHA dengan</b> <b>Kombinasi Silk Fibroin dan Gelatin.....</b>	<b>19</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....</b>	<b>19</b>
3.2.1 Waktu Penelitian.....	19
3.2.2 Tempat Penelitian .....	19
<b>3.3 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>19</b>
3.3.1 Alat Penelitian.....	19
3.3.2 Bahan Penelitian .....	21
<b>3.4 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>21</b>
3.4.1 Persiapan Alat dan Bahan .....	21
3.4.2 Sterilisasi Alat.....	21
3.4.3 Pembuatan <i>Silk Fibroin</i> .....	21
3.4.4 Pembuatan Sampel SF-Gelatin .....	22
3.4.5 Pembuatan Sampel DGHA-SF .....	22
3.4.6 Pembuatan Sampel DGHA-SF-Gelatin .....	23
3.4.7 Pembuatan <i>Scaffold</i> .....	23
3.4.8 Uji FTIR.....	24
3.4.9 Uji Karakterisasi dengan SEM dan <i>ImageJ</i> .....	24

<b>Tahap II: Uji Porositas dan Kekuatan Tekan Scaffold DGHA dengan Kombinasi SF dan Gelatin.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....</b>	<b>26</b>
3.2.1 Waktu Penelitian.....	26
3.2.2 Tempat Penelitian .....	26
<b>3.3 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.4 Identifikasi Variabel Penelitian .....</b>	<b>26</b>
3.4.1 Variabel Bebas.....	26
3.4.2 Variabel Terikat .....	27
3.4.3 Variabel Kontrol .....	27
<b>3.5 Definisi Operasional Variabel.....</b>	<b>27</b>
<b>3.6 Pengambilan Sampel .....</b>	<b>28</b>
3.6.1 Populasi.....	28
3.6.2 Besar Sampel .....	28
3.6.3 Pengelompokan Sampel.....	28
<b>3.7 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>29</b>
3.6.1 Alat Penelitian.....	29
3.6.2 Bahan Penelitian .....	29
<b>3.8 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>29</b>
3.8.1 Uji Porositas.....	29
3.8.2 Uji Sifat Mekanik.....	30
<b>3.9 Analisis Data.....</b>	<b>31</b>
<b>3.10 Alur Penelitian .....</b>	<b>32</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>33</b>
<b>4.1 Hasil dan Analisa Data Penelitian.....</b>	<b>33</b>
4.1.1 Hasil Uji FTIR .....	33
4.1.2 Hasil Uji SEM.....	36
4.1.3 Hasil Uji Porositas .....	38
4.1.4 Hasil Uji Mekanik.....	40
<b>4.2 Pembahasan.....</b>	<b>43</b>

<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	47
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	47
<b>5.2 Saran</b> .....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	48
<b>LAMPIRAN</b> .....	54



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Struktur Hidroksiapatit.....	4
2.2 Grafik hasil karakterisasi FTIR.....	6
2.3 Hasil karakterisasi SEM .....	6
2.4 Serat Sutera <i>Bombyx mori</i> .....	7
2.5 Kristalin $\beta$ -sheet .....	8
3.1 Skema Rancangan Penelitian Uji Porositas dan Uji Mekanik .....	26
4.1 Hasil <i>Scaffold</i> .....	33
4.2 Spektrum FTIR <i>Scaffold A</i> .....	34
4.3 Spektrum FTIR <i>Scaffold B</i> .....	34
4.4 Spektrum FTIR <i>Scaffold C</i> .....	35
4.5 Spektrum FTIR <i>Scaffold D</i> .....	36
4.6 Hasil SEM Perbessaran 50X .....	37
4.7 Diagram Prosentase Porositas <i>Scaffold DGHA-SF-Gelatin</i> .....	38
4.8 Diagram Kekuatan Tekan <i>Scaffold DGHA-SF-Gelatin</i> .....	40

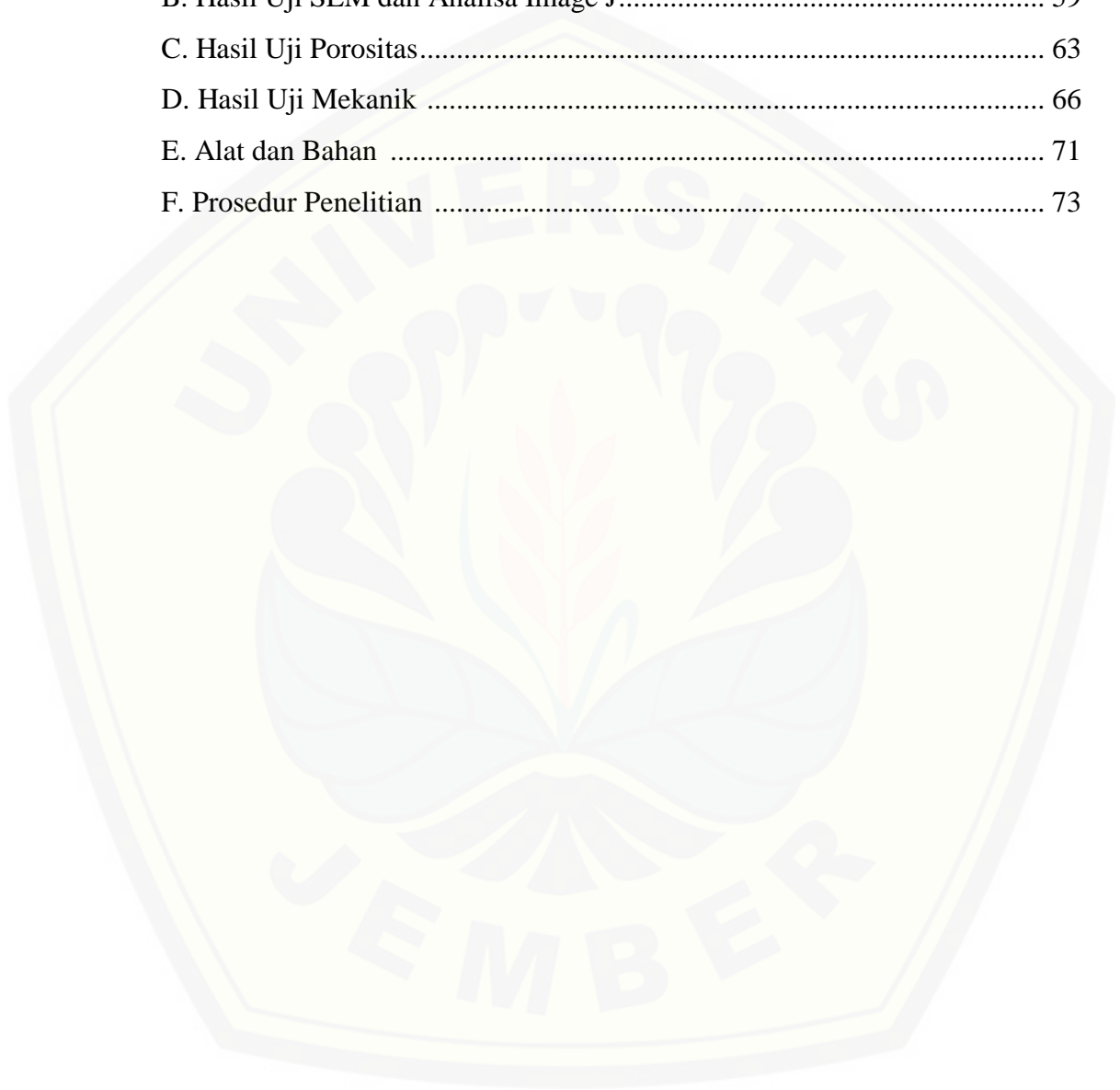


**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Panjang Gelombang Amida pada <i>Silk Fibroin</i> .....	8
4.1 Diameter Pori <i>Scaffold</i> DGHA-SF-Gelatin .....	37
4.2 Luas Pori <i>Scaffold</i> DGHA-SF-Gelatin.....	38
4.3 Hasil Uji Normalitas Porositas .....	39
4.4 Hasil Uji Homogenitas Porositas .....	39
4.5 Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Porositas .....	39
4.6 Hasil Uji LSD Porositas .....	40
4.7 Hasil Uji Normalitas Kekuatan Tekan .....	41
4.8 Hasil Uji Homogenitas Kekuatan Tekan .....	41
4.9 Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Kekuatan Tekan.....	41
4.10 Hasil Uji LSD Kekuatan Tekan .....	42
4.11 Hasil Karakterisasi <i>Scaffold</i> .....	42

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Hasil Analisa Uji FTIR. ....	54
B. Hasil Uji SEM dan Analisa Image J.....	59
C. Hasil Uji Porositas.....	63
D. Hasil Uji Mekanik .....	66
E. Alat dan Bahan .....	71
F. Prosedur Penelitian .....	73



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penelitian tentang pengembangan material *bone graft* yang ideal saat ini masih terus dilakukan karena tingkat kebutuhannya yang semakin meningkat. Dalam kedokteran gigi, kasus-kasus kerusakan tulang yang disebabkan oleh kista, tumor, kanker, periodontitis, ataupun kecelakaan sering kali menimbulkan defek yang besar pada tulang, sehingga dibutuhkan *bone graft* sebagai material yang dapat membantu proses penyembuhan tulang menjadi lebih baik (Rasyid *et al.*, 2016). *Bone graft* yang ideal harus memiliki sifat biokompatibel, bioresorbabel, osteokonduktif, osteoinduktif, memiliki porositas, kekuatan mekanik baik, dan secara struktural mirip dengan tulang. Agar dapat digunakan, material *bone graft* dapat berupa bentukan *scaffold* (Grado *et al.*, 2018).

*Scaffold* adalah biomaterial tiga dimensi (3D) yang menyediakan lingkungan yang cocok untuk sel dalam regenerasi jaringan dan organ. Struktur *scaffold* harus memiliki porositas yang tinggi dan saling terhubung sehingga memungkinkan perlekatan sel untuk memfasilitasi regenerasi jaringan, proliferasi, dan diferensiasi (Chocolata *et al.*, 2019). Ukuran pori-pori *scaffold* minimum berkisar antara 75-100  $\mu\text{m}$ , akan tetapi ukuran pori-pori dengan diameter  $>300$   $\mu\text{m}$  akan lebih baik untuk pembentukan tulang karena lebih mudah dalam memfasilitasi vaskularisasi jaringan (Ichsan, 2012). Porositas *scaffold* untuk tulang trabekular berkisar antara 50-95% (Petrauskaite *et al.*, 2016). Besarnya suatu porositas pada *scaffold* akan mempengaruhi kekuatan mekanik *scaffold* tersebut. Dalam aplikasi jaringan pada tulang *cancellous*, besarnya kekuatan tekan *scaffold* berkisar antara 2-12 Mpa sedangkan untuk tulang *cortical* berkisar antara 30-160 MPa. Untuk dapat digunakan sebagai *bone graft*, suatu bahan harus memenuhi karakteristik tersebut. Salah satu bahan yang sering digunakan sebagai material *bone graft* adalah hidroksiapatit (Indriani, 2014).

Hidroksiapatit (HA) merupakan bahan anorganik yang memiliki kesamaan struktur kimia dan fisika dengan mineral penyusun tulang dan gigi, sehingga dapat digunakan sebagai material *bone graft* (Milla *et al.*, 2018). Tingginya afinitas

hidroksiapatit terhadap jaringan tulang menjadikan hidroksiapatit lebih baik dibandingkan dengan *allograft* dan implan logam. Hidroksiapatit dapat diperoleh dari berbagai sumber, salah satunya dapat disintesis dari gipsum ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) atau kalsium sulfat dihidrat. Berdasarkan penelitian Ardhiyanto (2016), dapat disimpulkan bahwa Dental Gypsum Hidroksiapatit (DGHA) memiliki gambaran yang identik dengan hidroksiapatit komersial. Karakteristik *scaffold* DGHA memiliki gugus fungsi yang serupa dengan HA komersial, akan tetapi porositas yang dihasilkan masih kurang homogen dan masih rapuh karena kekuatan mekaniknya yang rendah. Sehingga dibutuhkan biopolimer untuk menutupi kelemahan dan keterbatasan *scaffold* tersebut.

Untuk meningkatkan karakteristik *scaffold*, kombinasi bahan organik dan anorganik telah banyak dilakukan dengan menyamakan struktur dan fungsi biomaterial alami. Bahan organik yang dapat dikombinasikan dengan hidroksiapatit adalah *silk fibroin* dan gelatin. *Silk fibroin* (SF) dapat disintesis dari ulat sutra *Bombyx mori*. Sebagai biopolimer, SF dapat digunakan sebagai *scaffold* karena memiliki elastisitas dan biokompatibilitas yang baik, kekuatan tarik tinggi dan degradasi yang dapat dikendalikan (Azadi *et al.*, 2017). Akan tetapi, SF kurang mampu dalam mendukung perlekatan sel sehingga dibutuhkan penambahan polimer alami lain seperti gelatin. Gelatin sering dikombinasikan dengan bahan lain karena sifatnya yang sangat rapuh dan degradasinya yang cepat. Meskipun demikian, gelatin mampu mendukung proliferasi, migrasi, dan perlekatan sel (Shi *et al.*, 2017; Mohaammadzadehmoghadam dan Dong, 2019).

Dalam suatu penelitian biomaterial, diketahui bahwa komposisi bahan paduan dapat mempengaruhi sifat-sifat bahan (Haryadi, 2015). *Scaffold* SF/HA memiliki karakteristik yang sangat mirip dengan struktur tulang alami, menyerupai fase anorganik dan organik dari jaringan tulang asli. Penambahan komposisi hidroksiapatit akan meningkatkan sifat mekanik kuat tekan material *scaffold*. Sedangkan SF akan meningkatkan fleksibilitasnya (Farokhi *et al.*, 2017). Pada *scaffold* SF/Gelatin, penambahan gelatin pada SF mampu meningkatkan struktur  $\beta$ -sheet SF yang akan meningkatkan sifat mekanik *scaffold* tersebut (Mohaammadzadehmoghadam dan Dong, 2019). Sedangkan pada *scaffold*

SF/HA/Gelatin, penambahan HA yang menyebabkan penurunan ukuran pori akan meningkatkan jumlah ikatan struktural pada *scaffold* sehingga kekuatan mekaniknya juga meningkat (Kaviani dan Zamanian, 2015). Oleh karena itu, penulis ingin melakukan penelitian untuk mengetahui karakteristik *scaffold* DGHA yang dikombinasikan dengan SF dan gelatin.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan, bagaimana karakteristik *scaffold* DGHA yang kombinasikan dengan SF dan gelatin?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Berdasarkan latar belakang serta rumusan masalah diatas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik *scaffold* DGHA yang dikombinasikan dengan SF dan gelatin.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan karakteristik *scaffold* DGHA yang dikombinasikan dengan SF dan gelatin.
2. Memberikan informasi klinis kepada dokter gigi mengenai bahan alternatif *bone graft* selain bahan komersial yang sudah ada.
3. Sebagai acuan pengembangan pada penelitian selanjutnya.

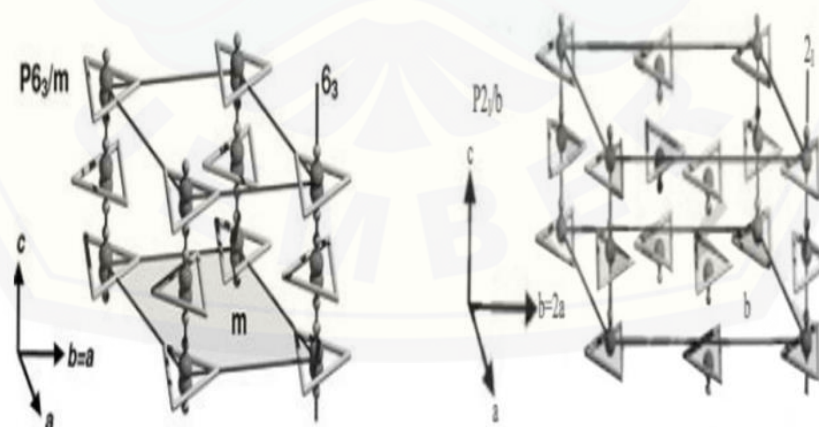
## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Hidroksiapatit

Hidroksiapatit merupakan salah satu senyawa kalsium fosfat dan termasuk jenis material apatit  $[M_{10}(XO_4)_6Z_2]$  dengan rumus kimia  $C_{10}(PO_4)_6OH_2$  yang sedang banyak dikembangkan (Noviyanti *et al.*, 2017). Garam kalsium fosfat (Ca/P) merupakan mineral utama yang menyusun tulang dan gigi. Hidroksiapatit merupakan senyawa yang paling mirip dengan mineral tulang dibandingkan dengan jenis garam Ca/P lainnya dan merupakan fase kristal paling stabil secara termodinamik (Mozartha, 2015).

#### 2.1.1 Struktur Hidroksiapatit

Struktur kristal hidroksiapatit dapat dibedakan menjadi dua, yaitu heksagonal dan monoklinik. Struktur hidroksiapatit heksagonal biasanya diperoleh dari sintesis hidroksiapatit yang tidak stoikiometrik. Sedangkan struktur hidroksiapatit monosiklik hanya diperoleh pada kondisi murni dengan komposisi stoikiometrik (Mozartha, 2015). Rasio massa Ca/P hidroksiapatit yang dapat digunakan sebagai bahan regenerasi tulang adalah 1,67 dengan susunan kristal yang sama dengan tulang manusia (Noviyanti *et al.*, 2017).



(a) Hidroksiapatit heksagonal

(b) Hidroksiapatit monosiklik

Gambar 2.1 Struktur hidroksiapatit (Sumber: Ningsih *et al.*, 2014)

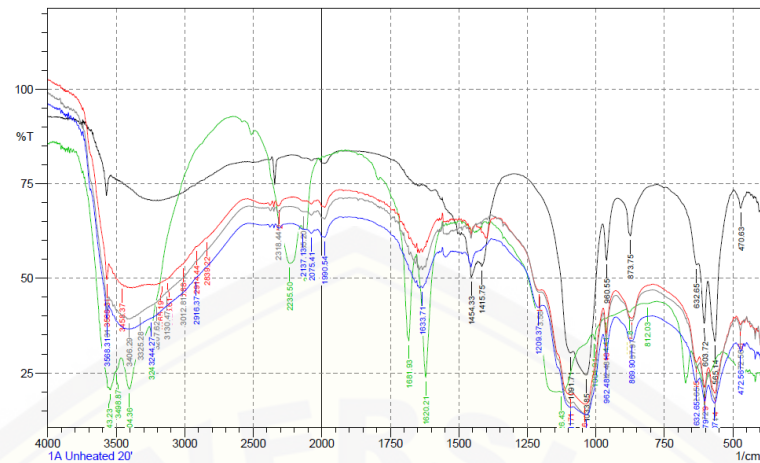
### 2.1.2 Sifat Hidroksiapatit

Hidroksiapatit memiliki biokompatibilitas yang baik dan afinitas yang tinggi dengan biopolimer. Terbukti hidroksiapatit dapat ditoleransi dengan baik oleh jaringan rongga mulut. Hidroksiapatit dapat berinteraksi dan menyatu secara kimiawi dengan tulang karena mampu merangsang diferensiasi osteoblas dan memenuhi kriteria utama sebagai bahan transplantasi tulang yaitu osteoinduksi, osteokonduksi, dan osteogenesis (Mozartha, 2015). Selain itu, hidroksiapatit juga memiliki sifat lain, seperti memiliki porositas, bioresorsibel, bioaktif, tidak korosi, *inert*, dan tahan aus. Porositas hidroksiapatit inilah yang banyak dikembangkan sebagai *filler* pada defek tulang. Tetapi, hidroksiapatit juga memiliki kekurangan yaitu sifat biomekanik yang lemah seperti kekuatan tarik yang rendah, *brittle*, dan porositas yang rendah. Sehingga, hidroksiapatit hanya bisa digunakan sebagai *filler* untuk defek tulang yang kecil. Untuk pengembangan *bone graft* dibutuhkan kontrol yang baik pada kekuatan mekanik dan porositas bahan. Karena itu, hidroksiapatit dapat dikombinasikan dengan bahan lain untuk meningkatkan kualitas sifat bahan (Milla *et al.*, 2018; Sopyan *et al.*, 2007).

### 2.1.3 Dental Gypsum Hidroksiapatit (DGHA)

Hidroksiapatit telah disintesis dari berbagai mineral, seperti karang, kalsit, dan gipsum ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Hidroksiapatit yang disintesis dari gipsum alami dan komersial memiliki karakteristik yang mirip dengan hidroksiapatit alami dan tidak ada perbedaan yang signifikan dalam sifat toksisitasnya. Sehingga aman digunakan dan berpotensi sebagai bahan pengganti tulang (Pujiyanto *et al.*, 2014).

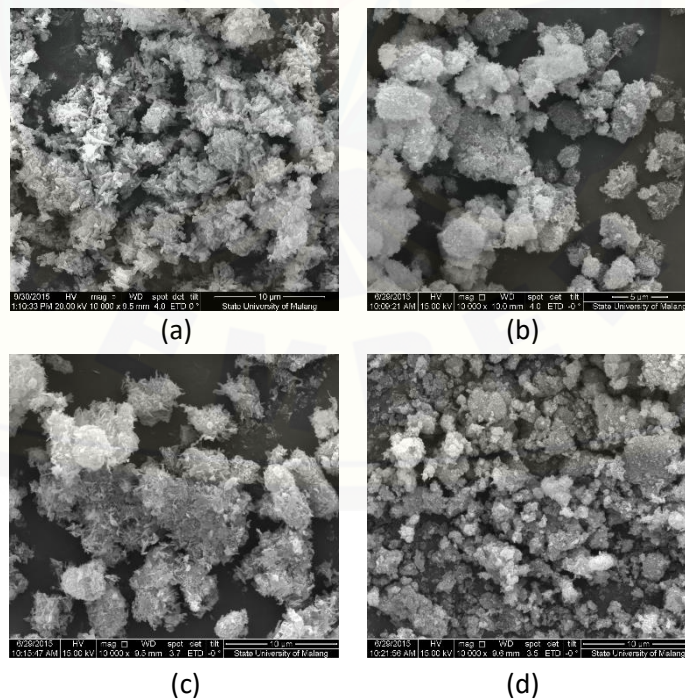
Gipsum tipe II atau model plaster adalah tipe gipsum yang biasa digunakan sebagai model studi dalam bidang kedokteran gigi. Gipsum ini terdiri mempunyai bahan utama kalsium sulfat terkalsinasi ( $\beta$  hemihidrat). Hidroksiapatit yang disintesis dari limbah dental gipsum tipe II diketahui memiliki karakterisasi yang mirip dengan hidroksiapatit alami (Ardhiyanto, 2016). Spektrum FTIR dapat menunjukkan karakteristik puncak penyerapan hidroksiapatit yang menunjukkan adanya fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), hidroksil ( $\text{OH}^-$ ), dan karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) (Odusote *et al.*, 2019).



DGHA-II tanpa pemanasan 20 menit (merah), DGHA-II tanpa pemanasan 30 menit (biru), DGHA-II tanpa pemanasan 40 menit (abu-abu), HAP 200 (hijau) dan dental gypsum (hitam)

Gambar 2.2 Grafik hasil karakterisasi FTIR (Sumber: Ardhiyanto, 2016)

Hasil karakterisasi FTIR DGHA menunjukkan adanya ion-ion fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), hidroksil ( $\text{OH}^-$ ), dan kabanat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) pada HA sintesis yang identik dengan HA komersial. Tetapi, pada HA komersial didapatkan gugus karbonat dengan intensitas yang lebih tinggi (Ardhiyanto, 2016).



(a) HAP 200, (b) DGHA-II tanpa pemanasan 20 menit, (c) DGHA-II tanpa pemanasan 30 menit, (d) DGHA-II tanpa pemanasan 40 menit

Gambar 2.3 Hasil karakterisasi SEM (Sumber: Ardhiyanto, 2016)



Hasil karakterisasi SEM menunjukkan morfologi HA dari dental gipsum tipe II memiliki bentukan yang tampak identik dengan HA komersial. Tetapi, bentuk partikel yang dihasilkan masih tidak beraturan dengan ukuran partikel yang tidak homogen, meskipun penyebaran partikel cukup merata dengan permukaan yang kasar (Ardhiyanto, 2016).

## 2.2 Silk Fibroin (SF)

Serat sutera dari ulat sutera *Bombyx mori* memiliki dua protein primer, yaitu SF dan serisin dengan persentase berat SF sebesar 72-81% dan serisin sebesar 19-28%, dan juga sebagian kecil *wax* (0,8-1%) dan warna (1-1,4%) (Nguyen *et al.*, 2019). *Silk fibroin* merupakan protein utama dari serat sutera. Sedangkan serisin adalah protein *amorf* sebagai perekat untuk menjaga integritas struktural serat yang dapat larut melalui proses *degumming* (Qi *et al.*, 2017).



(a) Kokon *Bombyx mori*

(b) Protein utama serat sutera

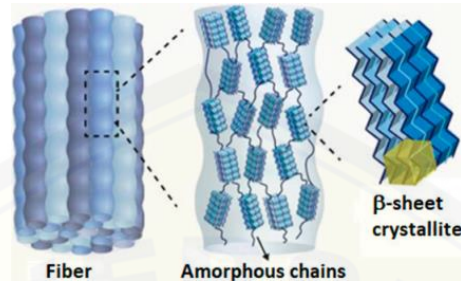
Gambar 2.4 Serat Sutera *Bombyx mori* (Sumber: Nguyen *et al.*, 2019)

Proses *degumming* merupakan tahap ekstraksi fibroin dengan cara melarutkan serisin. *Silk fibroin* telah banyak digunakan sebagai biomaterial medis seperti untuk merangsang perbaikan tulang yang rusak karena sifat struktur fibrousnya yang sebagian besar mirip dengan kolagen tipe I (Farokhi *et al.*, 2017).

### 2.2.1 Struktur *Silk Fibroin*

Fibroin *Bombyx mori* memiliki diameter 10-25 µm dengan tiga komponen utama, yaitu *high chain* 350 kDa, *low chain* 26 kDa, dan glikoprotein 30 kDa. *Silk fibroin* mempunyai ikatan hidrogen yang kuat dalam polimernya sehingga termasuk dalam protein fibril yang tidak larut air. Struktur molekulnya adalah makrofibril dengan lebar 6,5 x 10<sup>5</sup> nm dan terdiri dari kumpulan nanofibril

berdiameter 90-170 nm (Endrawati *et al.*, 2017). *Silk fibroin* merupakan protein biomakromolekul yang terdiri dari enam urutan residu berulang (Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser) dan tersusun dari 5507 asam amino (Nandih *et al.*, 2017).



Gambar 2.5 Kristalin  $\beta$ -sheet (Sumber: Nguyen *et al.*, 2019)

*Silk fibroin* memiliki dua bentuk yang mempunyai peranan masing-masing. Bentuk kristalin fibroin berperan dalam fungsi mekanik, sedangkan bentuk *amorf* berperan dalam higroskopisitas dan sebagai antiradiasi sinar ultraviolet (Nandih *et al.*, 2017). Struktur kristalin  $\beta$ -sheet yang terbentuk dari komponen asam amino berkontribusi dalam memberikan sifat mekanis yang baik untuk SF. Molekul utama dalam kristalin  $\beta$ -sheet adalah ikatan hidrogen. Meskipun ikatan hidrogen mempunyai ikatan yang paling lemah, tetapi ikatan hidrogen berkontribusi besar terhadap kekakuan dan kekuatan tarik SF. Sedangkan integritas SF dapat dipertahankan karena adanya komponen glikoprotein p25 (Melke *et al.*, 2015; Rustam *et al.*, 2017). Struktur kristalin  $\beta$ -sheet SF dapat ditunjukkan dalam rantai amida menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dengan panjang gelombang sebagai berikut (Kamalha *et al.*, 2013):

Tabel 2.1 Panjang Gelombang Amida pada *Silk Fibroin* (Sumber: Kamalha *et al.*, 2013)

Conformation	Amides and Wavelengths (cm <sup>-1</sup> )		
	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

### 2.2.2 Sifat *Silk Fibroin*

*Silk fibroin B. morii* merupakan biomaterial yang memiliki elastisitas dan biokompatibilitas yang baik, sifat mekanik yang mendukung, degradasi yang dapat dikendalikan, dan pemrosesannya mudah. Biokompatibilitas yang baik ditunjukkan dari respon inflamasi yang dapat diabaikan dalam darah dan terbukti mudah diserap oleh kulit. Selain itu, bentukan SF juga dapat menyerupai matriks tulang sehingga dapat digunakan sebagai bahan pengganti tulang (Melke *et al.*, 2015). Sebagai bahan dengan kemampuan pemrosesan yang sangat baik, SF dapat diproses menjadi berbagai bentuk dengan struktur yang berbeda, termasuk *partikulate, fibers, film, dan scaffold* tiga dimensi. Bentuk *scaffold* tiga dimensi merupakan bentuk ideal sebagai bahan pengganti tulang (Qi *et al.*, 2017).

*Silk fibroin* memiliki sifat mekanis dan elastisitas yang baik dan dapat dikombinasikan dengan biomaterial lain. Penelitian laboratoris menunjukkan *silk fibroin* memiliki *Modulus Young* antara 12,4-17,9 GPa dan *tensile strength* antara 360-530 MPa pada elongasi 18-21%. Setelah proses *degumming*, struktur dan kekuatan mekanik SF sedikit berubah karena adanya pelarutan serisin. *Modulus Young* yang dihasilkan sama tetapi *tensile strength* antara 450-700 MPa pada elongasi 12-24% (Melke dkk., 2015). Kekuatan SF 4-4,5 gr/d dalam keadaan kering dan 3,5-4 gr/d dalam keadaan basah. Elastisitas SF sebesar 20-25% dalam keadaan kering dan 25-30% dalam keadaan basah. *Silk fibroin* tahan terhadap pemanasan sampai suhu 140<sup>0</sup>C dalam waktu singkat, sedangkan pemanasan yang lebih lama dapat menyebabkan perubahan warna dan penurunan kekuatan (Moeliono dan Itung, 2010).

### 2.3 Gelatin

Gelatin terbentuk dari hidrolisis parsial kolagen yang terdiri dari 85-92% protein. Berdasarkan pemrosesannya gelatin komersial dibedakan menjadi dua yaitu gelatin tipe A yang merupakan hasil perendaman asam dan gelatin tipe B yang merupakan hasil perendaman basa. Gelatin tipe A biasanya berasal dari kulit babi, sedangkan gelatin tipe B biasanya berasal dari tulang sapi (Oktaviani *et al.*, 2017). Gelatin jarang digunakan secara tunggal untuk bahan regenerasi jaringan

dikarenakan sifatnya yang sangat rapuh, karena itu gelatin sering dikombinasikan dengan bahan lain (Mohaammadzadehmoghadam dan Dong, 2019).

### 2.3.1 Struktur Gelatin

Gelatin merupakan polimer alami turunan kolagen. Gelatin terdiri dari 19 asam amino yang terdiri dari empat kelompok asam amino predominan untuk setiap molekulnya. Pada setiap 1000 residu asam amino gelatin, terdiri dari 330 glisin, 132 prolin, 112 alanin, dan 93 hidroksiprolin (Hoque *et al.*, 2015). Asam amino gelatin saling terikat melalui ikatan peptida, tetapi gelatin tidak dapat digolongkan sebagai protein lengkap karena tidak adanya triptofan dan histidin (Oktaviani *et al.*, 2017). Spektrum FTIR dapat 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 ( $1300-1200\text{ cm}^{-1}$ ) dan amida II (sekunder) merupakan gugus fungsi utama dari gelatin (Irfanita *et al.*, 2017)

### 2.3.2 Sifat Gelatin

Sifat utama gelatin adalah mampu membentuk gel dan dapat larut dalam air hangat lalu berubah menjadi gel apabila didinginkan dibawah suhu  $30^{\circ}\text{C}$ . Gelatin juga dapat mengabsorpsi atau melepas air yang dikandungnya. Kadar air gelatin pada kondisi normal adalah 9-11%, apabila kandungan air lebih dari 16% maka gelatin dapat mudah ditumbuhi mikroba dan akan terbentuk gumpalan (Oktaviani *et al.*, 2017). Gelatin banyak digunakan sebagai bahan rekayasa jaringan karena biokompatibilitasnya yang baik. Adanya penambahan gelatin biasanya bertujuan untuk meningkatkan adhesi osteoblas, migrasi sel dan mineralisasi jaringan (Budiatin *et al.*, 2016). Gelatin mampu mendukung perlekatan sel dan tidak menghasilkan produk yang berbahaya selama degradasi enzim. Sebagai *scaffold*, gelatin menunjukkan biodegradasi dan porositas yang baik. Gelatin yang dikombinasikan dengan polimer alami maupun sintetik selalu menunjukkan peningkatan sifat mekanik dan afinitas *scaffold* (Hoque *et al.*, 2015).

#### 2.4 Scaffold Hidroksiapatit-Silk Fibroin

*Scaffold* HA/ SF sangat mirip dengan struktur tulang alami karena menyerupai fase anorganik dan organik jaringan tulang asli. Dengan demikian, kombinasi kombinasi HA/ SF ini dapat meningkatkan fleksibilitas dan kekuatan mekanik *scaffold* jaringan tulang. Banyak penelitian yang menggambarkan manfaat menggunakan *scaffold* HA/SF untuk regenerasi jaringan tulang yang diaplikasikan secara *in vitro* dan *in vivo*. Belum ada studi komprehensif yang menunjukkan efek buruk dari penggunaan kombinasi bahan ini. Terbukti *scaffold* HA/SF berpotensi untuk menginduksi osteogenesis secara *in vivo* (Farokhi *et al.*,2017).

Kombinasi hidroksiapatit-silk fibroin akan meningkatkan kristal HA di sepanjang sumbu c dan koordinat yang memberikan efek pada struktur dan komponennya. Nukleasi HA dapat meningkatkan orientasi molekul dan kristalinitas SF. Penambahan HA ke SF akan meningkatkan sifat biologis dan kekuatan mekanik dari SF (Farokhi *et al.*,2017). *Scaffold* HA/SF terbukti mempunyai sifat psikokimia seperti ukuran pori yang sesuai untuk adhesi dan pertumbuhan sel, termodinamik yang terintegritas, dan hemokompatibilitas yang mendukung transplantasi *vivo* (Zhang *et al.*,2019).

#### 2.5 Scaffold Silk Fibroin-Gelatin

*Scaffold* SF/Gelatin merupakan kombinasi biomaterial yang dapat digunakan sebagai bahan regenerasi jaringan tulang. *Silk fibroin* memiliki biokompatibilitas yang baik dengan elastisitas tinggi, degradasi yang rendah, dan kekuatan tarik yang baik. Selain itu SF juga tidak menimbulkan respon inflamasi lokal, tidak mengandung zat karsinogen, dan tidak memicu penyebaran infeksi. Tetapi SF kurang mampu mendukung perlekatan sel, sehingga ditambahkan gelatin untuk menutupi kekurangan tersebut (Moisenovich *et al.*, 2014).

Gelatin memiliki sifat mekanik yang kurang mendukung untuk regenerasi jaringan tulang dan memiliki degradasi yang terlalu cepat, akan tetapi gelatin mampu mendukung perlekatan sel, migrasi, dan proliferasi (Shi *et al.*, 2017). Penambahan 10-30% gelatin pada SF menghasilkan 10-27% kekuatan tarik

*scaffold*. Hal ini karena struktur  $\beta$ -sheet SF yang meningkat sehingga meningkatkan sifat mekanik *scaffold* tersebut dan meningkatkan degradasi *scaffold* SF/Gelatin (Mohaammadzadehmoghadam dan Dong, 2019). Penambahan SF pada gelatin juga menyebabkan gelatin berinteraksi dengan partikel SF, sehingga memisahkan partikel gelatin satu dengan yang lain dan menyebabkan interkoneksi dan distribusi pori yang lebih merata (Ramadoss *et al.*, 2018).

## 2.6 Scaffold Silk Fibroin-Hidroksiapatit-Gelatin

*Scaffold* SF/HA/Gelatin menunjukkan porositas dan ukuran pori yang baik. Penambahan SF meningkatkan porositas *scaffold* sekitar 45-60% (Azadi *et al.*, 2017). Adanya porositas menunjukkan laju biodegradasi, respon jaringan setelah implantasi, dan interaksi sel dengan permukaan *scaffold*. Ukuran pori yang semakin besar akan memfasilitasi lebih baik dan lebih cepat dalam integritas pembentukan jaringan baru, termasuk vaskularisasi dan efektifitas bioresorpsi *scaffold* (Moisenovich *et al.*, 2014). Semakin tinggi konsentrasi SF akan meningkatkan sifat mekanik *scaffold* karena pada suhu beku tetap, ukuran pori akan menurun dan struktur SF menjadi semakin padat (Qi *et al.*, 2017).

Adanya HA pada *scaffold* SF/HA/Gelatin menyebabkan ukuran pori dan dinding pori berkurang karena jumlah kristal es yang terbentuk bertambah dan jarak antar kristal es berkurang sehingga ukuran pori dan lebar dinding pori juga berkurang setelah dilakukan *freeze drying*. Penurunan ukuran pori ini, akan meningkatkan jumlah ikatan struktural pada *scaffold* sehingga kekuatan mekaniknya juga meningkat (Kaviani dan Zamanian, 2015). Sedangkan penambahan gelatin pada SF mampu meningkatkan struktur  $\beta$ -sheet SF dengan merubah *random coil* menjadi  $\beta$ -sheet dengan adanya interaksi hidrofobik. Peningkatan struktur  $\beta$ -sheet inilah yang akan meningkatkan sifat mekanik *scaffold* tersebut (Ramadoss *et al.*, 2018). Hidroksiapatit dan gelatin menunjukkan dapat menginduksi pembentukan tulang baru dan mampu meningkatkan sifat biologis *scaffold* yang ditunjukkan dengan adanya proliferasi dan diferensiasi sel osteoblas tikus. Sehingga *scaffold* SF/HA/Gelatin merupakan *scaffold* yang berpotensi untuk regenerasi tulang (Lamlard *et al.*, 2017).

## 2.7 Metode *Freeze Drying*

*Freeze Drying* (pengeringan beku) atau liofilisasi merupakan proses pengeringan dari bahan cair yang dibekukan, kemudian dalam suatu ruang/*chamber* hampa udara diperlakukan proses pemanasan ringan. *Freeze drying* penting dalam preparasi sampel, pengawetan dan penyimpanan berbahan biologis, farmasi dan makanan. Proses ini akan menghasilkan porositas pada bahan dan aman digunakan tanpa merusak senyawanya (Anna *et al.*,2013).

Prinsip *freeze drying* terdiri dari dua urutan proses, yaitu proses pembekuan kemudian dilanjutkan dengan proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan pada suhu yang sangat rendah setelah kondisi vakum dan berlangsung saat bahan sudah dalam keadaan beku. Kemudian air dihilangkan dengan sublimasi yaitu dengan mengubahnya menjadi bentuk gas berupa uap air dari bentuk beku tanpa melalui fase cair. Proses sublimasi ini dilakukan pada temperatur dan tekanan dibawah *triple point* yang terletak pada suhu  $0,001^{\circ}\text{C}$  dan tekanan 0,61 kPa (Anna *et al.*,2013).

*Freeze drying* dapat menghasilkan *scaffold* dengan porositas yang tinggi (mencapai 90%) dan interkoneksi yang baik sehingga dapat digunakan untuk regenerasi jaringan. Meskipun pada umumnya menghasilkan *scaffold* dengan porositas yang tinggi, tetapi porositas dan ukuran pori dapat disesuaikan dengan mengatur suhu pembekuan, jumlah air, konsentrasi polimer, viskositas, dan pH larutan (Walker *et al.*, 2017; Wahid *et al.*, 2018).

## 2.8 Uji Karakterisasi

Uji karakterisasi dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat bahan yang dapat dilakukan dengan beberapa uji sebagai berikut.

### 2.8.1 *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

*Fourier Transform Infrared* (FTIR) merupakan alat yang digunakan untuk menentukan interaksi kimia dalam suatu campuran larutan (Vishwanath, 2017). Prinsip kerjanya adalah mengenali gugus fungsi suatu senyawa dari absorbansi inframerah yang dilakukan terhadap senyawa tersebut. Tiap senyawa menyerap

pola absorbansi secara berbeda, sehingga senyawa-senyawa dapat dibedakan dan dikuantifikasikan (Sjahfirdi *et al.*, 2015).

Teknik ini dapat mengidentifikasi komponen sampel tunggal maupun campuran dan juga memberikan informasi mengenai struktur dan konformasional polimer dan polipaduan, perubahan induksi tekanan, dan reaksi kimia. Padatan diuji dengan merefleksikan sinar inframerah melalui tempat kristal sehingga terjadi kontak dengan permukaan cuplikan. Karena resolusinya lebih tinggi, sensitivitas FTIR 80-200 kali lebih tinggi dibandingkan dengan instrumentasi dispersi standar (Gunawan dan Azhari, 2010).

Teknik pengoperasian FTIR dilakukan dengan menggunakan suatu interferometer Michelson yang diletakkan di depan monokromator sebagai pengganti monokromator. Interferometer akan memberikan sinyal ke detektor sesuai dengan intensitas frekuensi vibrasi molekul berupa interferogram. Berdasarkan pada intensitas spektrum dan frekuensi, interferogram akan memberikan informasi yang akan diubah secara digital dalam komputer. Kemudian informasi tersebut ditransformasikan sebagai domain dan setiap satuan frekuensi dipilih dari interferogram yang lengkap (*Fourier Transform*). Kemudian sinyal tersebut diubah menjadi spektrum Infrared sederhana (Gunawan dan Azhari, 2010).

### 2.8.2 Scanning Electron Microscopy (SEM)

*Scanning Electron Microscopy* (SEM) merupakan mikroskop elektron yang mampu menghasilkan gambaran resolusi tinggi dari suatu permukaan sampel. Gambar yang dihasilkan oleh SEM mempunyai karakteristik secara kualitatif dalam dua dimensi untuk menentukan struktur permukaan sampel. Karakterisasi SEM menggunakan material berupa lapisan tipis yang mempunyai ketebalan 20  $\mu\text{m}$  dari permukaan. SEM memungkinkan untuk melihat morfologi, analisis komposisi dengan kecepatan tinggi, porositas, kekasaran permukaan, ukuran partikel, dan homogenitas material (Cahyana *et al.*, 2014).

Cara kerja SEM adalah gelombang elektron yang dipancarkan *electron gun* terkondensasi di lensa kondensor dan terfokus sebagai titik yang jelas oleh



lensa objektif. Medan magnetik tersedia untuk sinar elektron dari *scanning coil* yang diberi energi. Elektron sekunder kemudian dihasilkan dari berkas sinar elektron yang mengenai cuplikan dan dikumpulkan oleh detektor sekunder. Gambar yang dihasilkan terdiri dari ribuan titik berbagai intensitas di permukaan *Cathode Ray Tube* (CRT). Berkas elektron dikonsentrasikan pada spesimen, kemudian bayangan diperbesar dengan lensa objektif dan diproyeksikan ke layar (Gunawan dan Azhari, 2010).

### 2.8.3 Uji Porositas

Pengujian porositas *scaffold* dilakukan untuk mengetahui besarnya porositas yang terdapat pada benda uji. Porositas yang semakin banyak akan menurunkan kekuatan *scaffold* tersebut (Nurmanta *et al.*, 2013). Uji porositas *scaffold* diukur dengan menggunakan prosedur *hexane displacement*. Hexane digunakan sebagai *liquid displacement* karena hexane tidak melarutkan *silk fibroin* dan dapat dengan mudah meresap ke *scaffold*. Hexane juga tidak menyebabkan pembengkakan atau penyusutan terhadap *scaffold*. Berat sampel (W) merupakan berat kering *scaffold* yang kemudian direndam dalam tabung berisi hexane ( $V_1$ ) selama 10 menit (Gholipourmalekabadi *et al.*, 2015). Siklus *evacuation-repressurization* terjadi dan hexane mulai meresap ke pori-pori *scaffold*. Jumlah total volume hexane yang telah diberi *scaffold* merupakan  $V_2$ . Setelah *scaffold* dikeluarkan dari cairan hexane, volume sisa hexane merupakan  $V_3$  dan berat *scaffold* basah yang telah direndam hexane merupakan  $W_s$ . Perbedaan volume ( $V_2 - V_1$ ) adalah volume polimer *scaffold*. Kuantitas ( $V_1 - V_3$ ) volume hexane dalam *scaffold*, ditentukan sebagai kekosongan volume *scaffold*. Jumlah seluruh volume *scaffold* adalah  $V = (V_2 - V_1) + (V_1 - V_3)$  (Nazarov *et al.*, 2004; Gholipourmalekabadi *et al.*, 2015). Total volume, porositas, densitas, dan *water absorption scaffold* dapat diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

Total Volume *scaffold* (V):

$$V = (V_2 - V_1) / (V_1 - V_3) = V_2 - V_3$$

Porositas *scaffold* ( $\epsilon$ ):

$$\epsilon (\%) = V_1 - V_3 / V_2 - V_3 \times 100$$

Struktur *scaffold* harus memiliki porositas tinggi yang saling terhubung sehingga memungkinkan perlekatan sel untuk memfasilitasi regenerasi jaringan, proliferasi, dan diferensiasi (Chocolata *et al.*, 2019). Ukuran pori-pori *scaffold* minimum berkisar antara 75-100  $\mu\text{m}$ , akan tetapi ukuran pori-pori dengan diameter  $>300 \mu\text{m}$  akan lebih baik untuk pembentukan tulang karena lebih mudah dalam memfasilitasi vaskularisasi jaringan (Ichsan, 2012). Ukuran pori *scaffold* bergantung pada pembentukan kristal es yang dihasilkan dari kadar air campuran polimer dan semakin rendah suhu *freeze drying* maka akan semakin kecil ukuran pori yang dihasilkan (Vishwanath, 2017; Qi *et al.*, 2017).

#### 2.8.4 Uji Kekuatan Mekanik

Pada umumnya, evaluasi uji kekuatan mekanik *scaffold* yang sering dilakukan adalah *tensile* dan *compressive strength test*. Setiap aplikasi selama *remodelling* jaringan, sifat mekanik setiap *scaffold* mempunyai kriteria yang berbeda sesuai dengan jaringan atau organ yang akan di manipulasi untuk menghindari kemungkinan terjadinya efek samping (Tran *et al.*, 2018).

Kekuatan tekan merupakan salah satu sifat yang digunakan untuk menilai apakah suatu *scaffold* memiliki kekuatan yang cukup untuk menahan tekanan selama jaringan asli terbentuk (Vishwanath, 2017). Angka yang dihasilkan oleh *Universal Testing Machine* adalah dalam satuan kgf (*kilogram force*). Nilai kekuatan tekan memiliki satuan  $\text{N/mm}^2$ , sehingga nilai kgf harus dikonversi ke Newton terlebih dahulu sebelum nilai kekuatan tekan dihitung. Nilai kekuatan tekan yang umum digunakan adalah dalam satuan standar Pascal (Pa), jadi nilai kekuatan tekan terakhir harus dikonversi menjadi Mpa (Kartikasari *et al.*, 2016).

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

Keterangan:

Pa : kekuatan tekan *scaffold* (pascal)

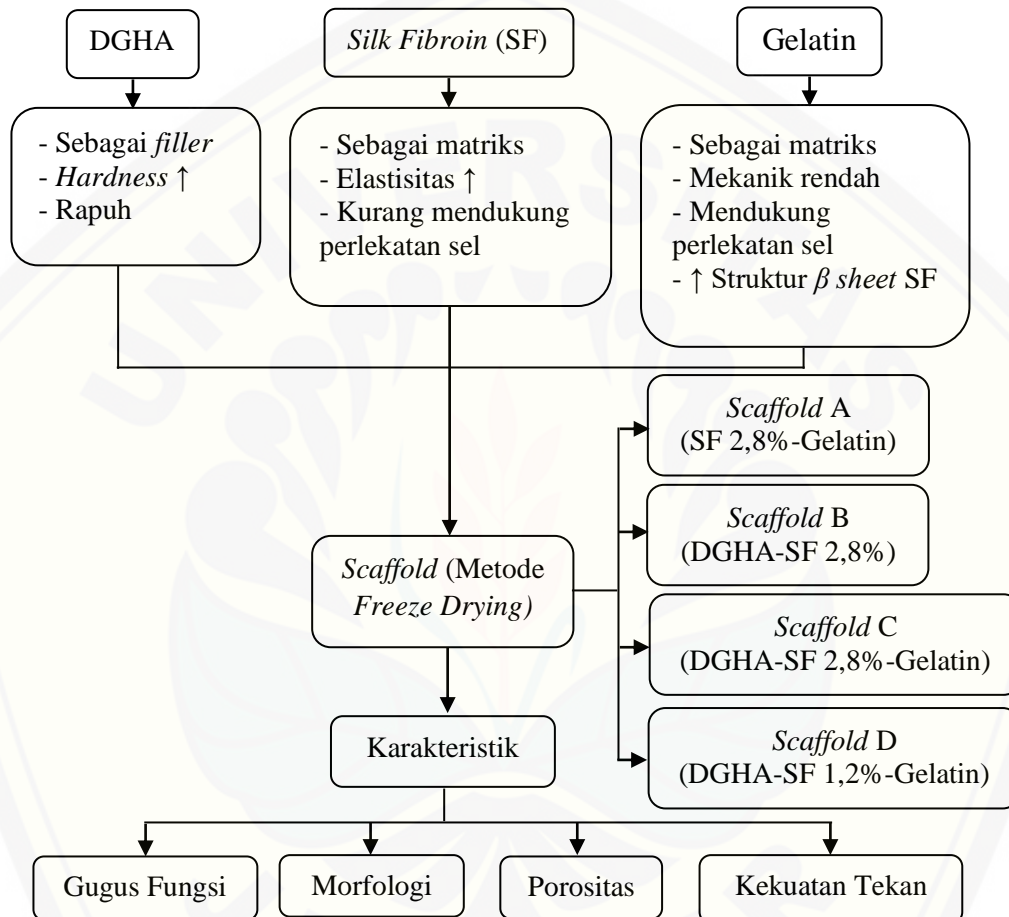
$n$  : kekuatan tekan *scaffold* (newton)

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

$\pi$  : 3,14

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

## 2.9 Kerangka Konsep



Pada penelitian ini, Dental Gypsum Hidroksiapatit (DGHA) digunakan sebagai *filler* karena akan meningkat kekerasan *scaffold*. Akan tetapi, *scaffold* DGHA masih sangat rapuh, sehingga ditambahkan *Silk Fibroin* (SF) yang digunakan sebagai matriks untuk meningkatkan elastisitas *scaffold* dan penambahan gelatin digunakan sebagai matriks untuk mendukung perlekatan sel dan meningkatkan struktur  $\beta$  sheet SF sehingga akan memperbaiki sifat mekanik *scaffold* tersebut. Gabungan ketiga bahan ini kemudian dijadikan *scaffold* menggunakan metode *freeze drying* dan dikelompokkan menjadi empat

kelompok, yaitu *scaffold* A (SF 2,8%-Gelatin), *scaffold* B (DGHA-SF 2,8%), *scaffold* C (DGHA-SF 2,8%-Gelatin), dan *scaffold* D (DGHA-SF 1,2%-Gelatin). Selanjutnya masing-masing kelompok dilakukan uji karakterisaasi FTIR untuk mengetahui gugus fungsi, uji karakterisasi SEM untuk melihat morfologi, uji karakterisasi porositas untuk mengetahui prosentase porositas, dan uji kekuatan mekanik untuk mengetahui kekuatan tekan *scaffold*.

### 2.10 Hipotesa

Kombinasi DGHA-SF-Gelatin menghasilkan *scaffold* dengan karakteristik morfologi, porositas, dan kekuatan tekan yang lebih baik.

### BAB 3. METODE PENELITIAN

Pada metode penelitian ini dilakukan beberapa tahap penelitian yaitu:

#### **Tahap I: Sintesis dan Karakterisasi *Scaffold* DGHA dengan Kombinasi SF dan Gelatin**

##### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif

##### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

###### **3.2.1 Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan September 2019 – Januari 2020.

###### **3.2.2 Tempat Penelitian**

- a. Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Kedokteran Gigi dan Laboratorium *Bioscience* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk proses *degumming*, *dissolving*, dan pembuatan *scaffold*.
- b. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk proses *freeze drying*.
- c. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk proses karakterisasi FTIR.
- d. Penelitian dilakukan di Laboratorium SEM Intitut Teknologi Surabaya untuk proses karakterisasi SEM.

##### **3.3 Alat dan Bahan Penelitian**

###### **3.3.1 Alat Penelitian**

- a. Neraca digital (*Adam, UK*)
- b. *Microtube* (*NEST, USA*)
- c. Beaker Glass ukuran 50 ml dan 2.000 ml (*IWAKI, Thailand*)
- d. *Handscoon non-powder* (*Everglove, Indonesia*)
- e. *Laboratory Glass Bottle* (*DURAN, Germany*)
- f. Pinset (*Dentica, USA*)

- g. *Centrifuge tube 50 ml (Falcon, Mexico)*
- h. *Eppendorf 5810R Refrigerator Centrifuge (Eppendorf, Germany)*
- i. *Pengaduk kaca*
- j. *Termometer (Zeal, England)*
- k. *Sendok stainless steel*
- l. *Baki Stainless steel*
- m. *Levo Plus Pipette Filler (Biologix, China)*
- n. *Micropipette Model ACURA 815.1000, 1000  $\mu$ L (Socorex, Swiss)*
- o. *Aluminium foil (Bagus, Indonesia)*
- p. *Dialysis Cassette Membrane, SnakeSkin® Pleated Dialysis Tubing*
- q. *Freezer -60°C*
- r. *Magnetic stirrer ukuran 3 cm dan 4 cm*
- s. *Hot plate Stirrer (LabTech, England)*
- t. *Ultrasonic homogenizer Sonic Ruptor 400(OMNI INC, US)*
- u. *Drying Oven type ED 400 (Binder, Europe)*
- v. *Freeze Drying VaCo 5-ii-D (Zirbus, Germany)*
- w. *Syringe 12 ml dan needle ukuran besar (OneMed, Indonesia)*
- x. *Mesin Scanning Electron Microscopy (SEM) (JOEL, USA)*
- y. *Software ImageJ 1.49V*
- z. *Mesin Fourier Transform Infrared (FTIR)*
- aa. *Penjepit*
- bb. *Cutter*
- cc. *Holder*
- dd. *Gold coating*
- ee. *Carbon tape*
- ff. *Mortar dan pestle*
- gg. *Autoclave*
- hh. *Scalpel*
- ii. *Gunting (Ziegel, Germany)*

### 3.3.2 Bahan Penelitian

- a. Serbuk DGHA II
- b. *Silk Fibroin (Bombyx mori)*
- c. Gelatin
- d.  $\text{CaCl}_2$  *anhydrous (Sinopharm Chemical Reagent, China)*
- e.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  *anhydrous (EMSURE, Germany)*
- f. Aquades
- g. *Ethanol Absolute (EMSURE, Germany)*

### 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  $50^\circ\text{C}$ .

#### 3.4.3 Pembuatan *Silk Fibroin*

##### Proses *Degumming*

- a. Memotong kokon *Bombyx morii* menjadi berukuran kecil.
- b. Menimbang potongan kokon sebanyak 5 gr.
- c. Memanaskan aquades sebanyak 2 liter dalam *beaker glass* menggunakan *hot plate stirrer*.
- d. Menimbang  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sebanyak 4240 mg
- e. Memasukkan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  secara perlahan pada aquades tepat sebelum mendidih.
- f. Setelah larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  mendidih  $100^\circ\text{C}$ , memasukkan potongan kokon dalam larutan selama tepat 30 menit.
- g. Meniriskan kokon, dan membilas dengan aquades untuk menghilangkan serisin dan wax (sampai tidak licin)

- h. Memasukkan kokon dalam 1 liter aquades dan di *stirrer* dengan *magnetic stirrer* selama 20 menit.
- i. Mengulangi tahap g-h sebanyak 3 kali dan mengeringkan pada suhu kamar.

Melarutkan *silk fibroin* setelah proses *degumming*

- a. Menimbang 27.745 mg  $\text{CaCl}_2$  dan menakar 36 ml  $\text{H}_2\text{O}$
- b. Melarutkan  $\text{CaCl}_2$  pada  $\text{H}_2\text{O}$  dalam *beaker glass* dan menunggu hingga dingin kemudian menambahkan 18 ml ethanol 70% dan menunggu hingga dingin.
- c. Menambahkan SF sebanyak 5 gr dalam larutan selama 4 jam dengan di *stirrer* menggunakan *magnetic stirrer*.
- d. Mendialisis SF menggunakan *SnakeSkin® Pleated Dialysis Tubin* dengan aquades selama 72 jam dengan waktu pengantian aquades pada 1 jam, 4 jam, pagi hari, dan sore hari.
- e. Memindahkan hasil dialisis ke dalam *centrifuge tube* ukuran 50 ml
- f. Melakukan sentrifugasi menggunakan *Eppendorf 5810R Refrigerator Centrifuge* dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit pada suhu  $20^\circ\text{C}$ .
- g. Memindahkan pada tempat tertutup dan disimpan pada *freezer*  $-1^\circ\text{C}$ .

#### 3.4.4 Pembuatan Sampel SF-Gelatin

- a. Menimbang gelatin sebanyak 300 mg
- b. Memanaskan aquades dalam *beaker glass* sebanyak 7 ml sampai pada suhu  $40^\circ\text{C}$  menggunakan *hot plate stirrer*.
- c. Mencampurkan gelatin dengan aquades sampai larut sempurna.
- d. Mencampurkan SF sebanyak 3 ml dalam larutan gelatin sampai homogen dengan menggunakan *Ultrasonic Homogenizer Sonic Ruptor* selama 6 menit 30 detik.
- e. Memasukkan hasil pencampuran dalam microtube



#### 3.4.5 Pembuatan Sampel DGHA-SF

- a. Menimbang serbuk DGHA sebanyak 250 mg.
- b. Menakar aquades dalam gelas ukur sebanyak 5 ml.
- c. Mencampur serbuk DGHA dengan aquades 5 ml dalam *beaker glass* sampai homogen dengan menggunakan *Ultrasonic Homogenizer Sonic Ruptor* selama 1 menit.
- d. Menambahkan larutan SF sebanyak 3 ml (120 mg) pada larutan DGHA dan dicampur sampai homogen dengan menggunakan *Ultrasonic Homogenizer Sonic Ruptor* selama 2 menit 45 detik.
- e. Memasukkan hasil pencampuran dalam microtube

#### 3.4.6 Pembuatan Sampel DGHA-SF-Gelatin

- a. Menimbang gelatin sebanyak 300 mg.
- b. Memanaskan aquades dalam *beaker glass* sebanyak 3 ml/7ml sampai pada suhu 40°C menggunakan *hot plate stirrer*.
- c. Mencampurkan gelatin dengan aquades sampai larut sempurna.
- d. Menimbang serbuk DGHA sebanyak 250 mg.
- e. Mencampurkan serbuk DGHA dalam larutan gelatin sampai homogen dengan menggunakan *Ultrasonic Homogenizer Sonic Ruptor* selama 1 menit.
- f. Mencampurkan SF sebanyak 7 ml/3 ml pada larutan DGHA-Gelatin sampai homogen dengan menggunakan *Ultrasonic Homogenizer Sonic Ruptor* selama 6 menit 30 detik.
- g. Memasukkan hasil pencampuran dalam microtube

#### 3.4.7 Pembuatan Scaffold

- a. Membekukan sampel pada suhu -60°C pada *freezer* selama 1 jam.
- b. Memasukkan sampel ke dalam *freeze dryer* pada suhu -84°C untuk proses pengeringan beku selama 24 jam.
- c. Melepas sampel dari microtube dan memotong sampel dengan ukuran tinggi 10 mm untuk uji mekanik, tinggi 10 mm untuk uji porositas,

tinggi 1 mm untuk uji FTIR dan tinggi 2 mm untuk uji SEM dengan masing-masing kelompok sebanyak 4 sampel, diberi label dan dikelompokkan berdasarkan kelompoknya.

#### 3.4.8 Uji FTIR

- a. Mengambil sampel dari salah satu kelompok *scaffold* SF 2,8%-Gelatin, DGHA-SF 2,8%, DGHA-SF 2,8%-Gelatin, dan DGHA-SF 1,2%-Gelatin.
- b. Menghancurkan sampel berupa *scaffod* dengan menggunakan *mortar* dan *pestle* menjadi bentuk serbuk.
- c. Mencampur serbuk sampel dengan serbuk KBr (5-10% sampel dalam serbuk KBr).
- d. Meletakkan hasil campuran pada tempat sampel.
- e. Melakukan interpretasi hasil yang tampak pada monitor.

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

- a. Mengambil sampel dari masing-masing kelompok, dibersihkan dan dijauhkan dari air.
- b. Sampel dipotong dengan *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 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 mm.
- 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. Mengukur pori dan luas pori dengan cara mengklik *freehand selection* kemudian seleksi bagian pori yang akan dianalisis lalu klik *set measurements*, centang pada *area*, *perimeter*, and *feret's diameter* dan klik *OK*.
- o. Setelah itu klik *analyze* pilih *measurement* lalu akan muncul tabel hasil pengukuran pori *scaffold*.
- p. Kemudian pilih *image-overlay-add selection*, untuk menyeleksi bagian pori yang lain dan lakukan langkah n-o sampai beberapa pori terseleksi.
- q. 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*.
- r. Data hasil pengukuran pori akan menghasilkan data *area* yaitu luas pori, *perimeter* yaitu keliling pori dan *feret's diameter* yaitu diameter pori. Nilai dalam satuan mm.

## Tahap II: Uji Porositas dan Kekuatan Tekan *Scaffold* DGHA dengan Kombinasi SF dan Gelatin

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental murni.

### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

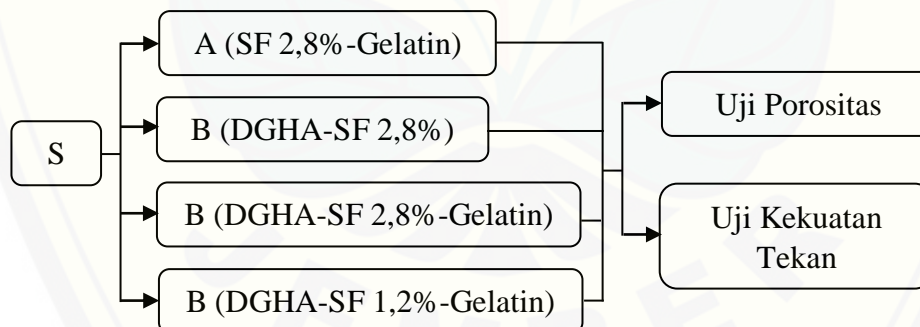
#### 3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2020

#### 3.2.2 Tempat Penelitian

- Penelitian dilakukan di Laboratorium *Bioscience* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk uji porositas.
- Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomaterial Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya untuk uji mekanik

### 3.3 Rancangan Penelitian



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian uji porositas dan uji mekanik

Keterangan:

S = Subyek

### 3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel Bebas

- Komposisi A (DGHA-SF 2,8%)
- Komposisi B (SF 2,8%-Gelatin)

- c. Komposisi C (DGHA-SF 2,8%-Gelatin)
- d. Komposisi D (DGHA-SF 1,2%-Gelatin)

#### 3.4.2 Variabel Terikat

- a. Gugus fungsi *scaffold* DGHA dengan kombinasi SF dan gelatin.
- b. Porositas *scaffold* DGHA dengan kombinasi SF dan gelatin.
- c. Kekuatan tekan *scaffold* DGHA dengan kombinasi SF dan gelatin.

#### 3.4.3 Variabel Terkontrol

- a. Suhu  $-60^{\circ}\text{C}$  dan waktu pembekuan selama 1 jam.
- b. Suhu  $-84^{\circ}\text{C}$  dan waktu pengeringan selama 24 jam pada metode *freeze drying*.

### 3.5 Definisi Operasional Variabel

Karakteristik *Scaffold* DGHA dengan Kombinasi SF dan gelatin adalah ciri-ciri *scaffold* yang dihasilkan dari hidroksiapatit yang digabungkan dengan *silk fibroin* dan gelatin menggunakan metode *freeze drying* dengan melihat morfologi, gugus fungsi, porositas dan kekuatan mekanik.

- Morfologi adalah bentukan permukaan, luas permukaan, dan ukuran pori *scaffold* DGHA yang dikombinasikan dengan SF dan gelatin yang dilihat menggunakan alat SEM dan diukur menggunakan *softwareImageJ*.
- Gugus fungsi adalah gugus atom dalam molekul yang menggambarkan senyawa penyusun *scaffold* DGHA yang dikombinasikan dengan SF dan gelatin yang dilihat menggunakan alat FTIR.
- Porositas adalah prosentase ruang kosong dalam fase padat *scaffold* DGHA yang dikombinasikan dengan SF dan gelatin yang diukur dengan metode *liquid displacement*.
- Kekuatan mekanik adalah kemampuan *scaffold* DGHA yang dikombinasikan dengan SF dan gelatin dalam menahan kekuatan tekanan yang diukur menggunakan *Universal Testing Machine* dengan hasil dalam satuan *Mega Pascal (MPa)*.

### 3.6 Pengambilan Sampel

#### 3.6.1 Populasi

*Scaffold* DGHA dengan kombinasi SF dan gelatin yang dibuat dengan metode *freeze drying*.

#### 3.6.2 Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan *simple random sampling* untuk menentukan besar sampel agar semua sampel memiliki peluang yang sama. Penentuan besar sampel digunakan rumus Daniel, sebagai berikut:

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

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:

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

$$n = (1,96)^2 = 3,84 \rightarrow 4$$

Dari hasil perhitungan menggunakan rumus diatas diperoleh jumlah minimal sampel untuk setiap kelompok adalah minimal 4 model *scaffold* DGHA yang dikombinasikan dengan SF dan gelatin.

#### 3.6.3 Pengelompokkan Sampel

- Kelompok A merupakan sampel larutan SF:Gelatin dengan rasio 280 mg : 300 mg dalam 10 ml aquades (SF 2,8%-Gelatin) menggunakan metode *freeze drying*.

- b. Kelompok B merupakan sampel larutan DGHA:SF dengan rasio 250 mg : 280 mg dalam 10 ml aquades (DGHA-SF 2,8%) menggunakan metode *freeze drying*.
- c. Kelompok C merupakan sampel larutan DGHA:SF:Gelatin dengan rasio 250 mg : 280 mg : 300 mg dalam 10 ml aquades (DGHA-SF 2,8%-Gelatin) menggunakan metode *freeze drying*.
- d. Kelompok D merupakan sampel larutan DGHA:SF:Gelatin dengan rasio 250 mg : 120 mg : 300 mg dalam 10 ml aquades (DGHA-SF 1,2%-Gelatin) 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 dengan kombinasi SF dan Gelatin
- b. *Hexane*

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Uji Porositas

- a. Menyiapkan alat dan bahan yaitu *vacuum chamber*, *vacuum pump*, *power vibrator*, gelas ukur 5 ml dan hexane.
- b. Kemudian menuangkan hexane sebanyak 2 ml pada gelas ukur ukuran 5ml, dicatat sebagai  $V_1$  (Volume Awal).

- c. Memasukkan sampel *scaffold* berdiameter 8 tinggi 10 mm secara hati-hati ke dalam gelas ukur, dan memastikan semua permukaan sampel terendam oleh *hexane* dengan diberi pemberat dari *wire*.
- d. Memasukkan gelas ukur ke dalam *vacuum chamber* dan menutup rapat, *vacuum chamber* sudah di modifikasi pada bagian tutupnya kemudian dihubungkan pada alat *vacuum pump*.
- e. Menghidupkan alat *vacuum pump* dengan tekanan 2 bar serta alat *power vibrator* KV-56 untuk memudahkan gelembung keluar.
- f. Kemudian mengamati adanya gelembung udara yang muncul sekitar 10 menit sampai tidak terlihat gelembung udara dan mematikan alat *vacuum pump*.
- g. Mengeluarkan gelas ukur dari *vacuum chamber*.
- h. Melihat pada angka berapa kenaikan volume *hexane* + *scaffold* dan dicatat sebagai  $V_2$ .
- i. Mengeluarkan *scaffold* dengan penjepit secara hati-hati.
- j. Melihat perubahan volume *hexane* yang terjadi setelah *scaffold* dikeluarkan dan dicatat sebagai  $V_3$ .
- k. Kemudian memasukkan hasil yang telah dicatat pada rumus.

$$\varepsilon = \frac{V_1 - V_3}{V_2 - V_3}$$

Keterangan :

$\varepsilon$  : porositas *scaffold*

$V_1$  : volume *hexane* (ml)

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

$V_3$  : volume *hexane* setelah *scaffold* diambil (ml)

Agar diperoleh hasil berupa presentase, maka hasil perhitungan total porositas dikalikan 100%.

### 3.8.2 Uji Sifat Mekanik

- a. Menyamakan tinggi dan mengurangi bagian yang tidak rata pada sampel *scaffold* berdiameter 5 mm dan tinggi 10 mm dengan *cutter*.



- b. Meletakkan sampel *scaffold* pada alat uji *Universal Testing Machine*.
- c. 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 *scaffold*.
- d. Kemudian hasil dari uji ini dihasilkan data uji tekan dalam bentuk N (Newton) yang kemudian di konversi ke rumus Megapascal (Tormos dan Madihally, 2017).

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

Keterangan:

Pa : kekuatan tekan *scaffold* (pascal)

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

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

$\pi$  : 3,14

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

$$\begin{aligned} \text{Luas permukaan } \textit{scaffold} &= 3,14 \times 4^2 \\ &= 16 \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

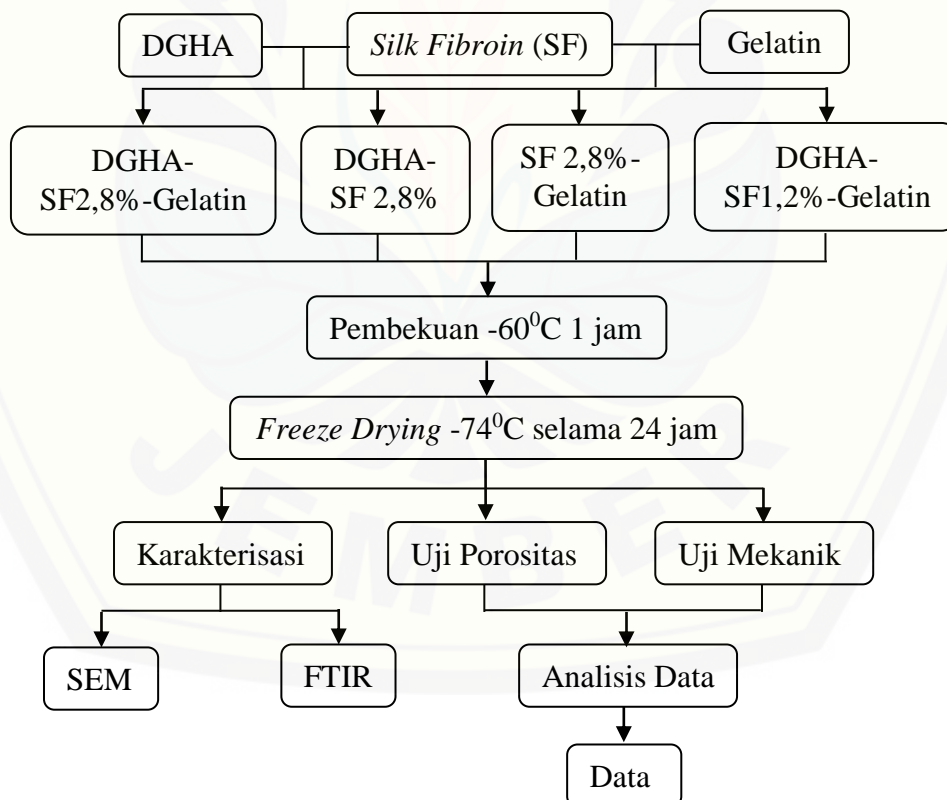
- e. Selain data uji tekan juga dihasilkan data modulus elastisitas (MPa).

### 3.9 Analisis Data

Data hasil penelitian gambaran karakteristik morfologi *scaffold* SF 2,8%-Gelatin, DGHA-SF 2,8%, DGHA-SF 2,8%-Gelatin, dan DGHA-SF 1,2%-Gelatin dari uji SEM menggambarkan diameter pori, luas pori, distribusi pori serta interkoneksi pori pada *scaffold*. Sedangkan, analisis karakteristik gugus fungsi *scaffold* SF 2,8%-Gelatin, DGHA-SF 2,8%, DGHA-SF 2,8%-Gelatin, dan DGHA-SF 1,2%-Gelatin berupa grafik dari uji FTIR. Analisis data statistik yang diperoleh dari hasil pengukuran uji porositas dan uji tekan kemudian dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas terlebih dahulu untuk mengetahui data yang dihasilkan termasuk pada 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 akan dilakukan uji perbedaan masing-masing sampel dengan menggunakan uji statistik *one way anova* dan apabila terdapat perbedaan yang signifikan dalam perbandingan sampel maka dilakukan uji *Least Significance Different (LSD)*. Sedangkan apabila 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 dilakukan uji *Mann Whitney* untuk menentukan 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* SF 2,8%-Gelatin, *scaffold* DGHA-SF 2,8%, *scaffold* DGHA-SF 2,8%-Gelatin, dan *scaffold* DGHA-SF 1,2%-Gelatin sebagai berikut:

1. Kombinasi antara DGHA, SF, dan gelatin 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* dan saling terkoneksi. *Scaffold* DGHA-SF 2,8% memiliki ukuran diameter rata-rata pori terbesar dan *scaffold* DGHA-SF 2,8%-Gelatin memiliki ukuran diameter rata-rata pori terkecil.
4. Karakterisasi prosentase porositas menunjukkan antar kelompok sampel menghasilkan prosentase porositas yang berbeda-beda. *Scaffold* DGHA-SF 2,8% menghasilkan prosentase porositas terbesar dan *scaffold* DGHA-SF 1,2%-Gelatin menghasilkan prosentase porositas terkecil.
5. Karakterisasi sifat mekanik menunjukkan *scaffold* DGHA-SF 2,8%-Gelatin menghasilkan kekuatan tekan terbesar dan *scaffold* DGHA-SF 2,8% menghasilkan kekuatan tekan terkecil.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan kualitas *scaffold* DGHA yang dikombinasikan dengan SF dan gelatin.
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**

- Anna R, Suhandar, Jakaria, dan Suharmadi. 2013. *Fungsi Freeze Dryer Radiofarmaka*. Yogyakarta: Pusat Teknologi Akselerator dan Proses Bahan BATAN.
- Ardhiyanto, Hengky Bowo, Yenny Yustisia, dan Amiyatun Naini. 2016. Sintesis dan karakterisasi Hidroksiapatit dari Limbah Dental Gypsum Tipe 2 sebagai Bahan Baku Bone Graft. *Proceedings Book FORKINAS VI FKG UNEJ 14th-15th 2016*. 285-293.
- 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.
- Budiatin, Aniek Seiya, Junaidi Khotib, Didik Harmono, Samirah. 2016. Injektabel Komposit Hidroksiapatit-Gelatin sebagai Sistem Penghantaran Alendronal. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 3(1): 1-5.
- Bunaciu, Andrei A., Elena Gabriela Udristioiu, dan Hassan Y. Aboul-Enein. 2015. X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 45(4): 289-299.
- Cahyana, Agus, Ahmad Marzuki, dan Cari. 2014. Analisis SEM (*Scanning Electron Microscope*) pada Kaca TZN yang dikristalkan Sebagian. *Prosiding Mathematics and Sciences Forum*. 23-26.
- Chocholata, Petra, Vlastimil Kulda dan Vaclav Babuska. 2019. Fabrication of Scaffolds for Bone-Tissue Regeneration. *Materials*. 12(568): 1-25.
- Endrawati, Yuni Cahya, Dedy Duryadi Solihin, Ani Suryani, dan S. Subyakto. 2017. Optimasi Rendemen Fibroin Ulat Sutera *Bombyx mori* L. dan *Attacus atlas* L. dengan Response Surface Methodology. *AGRITECH*. 37(2): 205-214.
- Esfahani, Seyed Iman Roohani, Peter Newman, dan Haia Zreiqat. 2016. Design and Fabrication of 3D Printed Scaffold with a Mechanical Strength Comparable to Cortical Bone to Repair Large Bone Defect. *Scientific Report*. 6: 19468.
- Farokhi, Mehdi, Fatemeh Mottaghitalab, Saeed Samani, Mohammad Ali Shokrgozara, Subhas C Kundud, Rui L. Reis, Yousef Fattahie, dan David L.

- Kapland. 2017. *Silk Fibroin/Hydroxyapatite Composites for Bone Tissue Engineering*. Tehran: Biotechnology Advanced.
- Gholipourmalekabadi, M., M. Mozafari, M. Nazm Bojnordi, M. B. Hashemi-soteh, M. Salimi, N. Rezaei, M. Sameni, A. Samadikuchaksaraei, H. Ghasemi Hamidabadi. 2019. In Vitro and in Vivo Evaluations of Three-Dimensional Hydroxyapatite/Silk Fibroin Nanocomposites Scaffolds.
- Grado, Gabriel Fernandez de, Laetitia Keller, Ysia Idoux-Gillet, Quentin Wagner, Anne-Marie Musset<sup>1</sup>, Nadia Benkirane-Jessel, Fabien Bornert, dan Damien Offner. 2018. Bone Substitutes: A Review of Their Characteristics, Clinical Use, and Perspectives for Large Bone Defects Management. *Journal of Tissue Engineering*. 9: 1-18.
- Gunawan, Budi dan Citra Dewi Azhari. 2010. *Karakterisasi Spektrofotometri IR dan Scanning Electron Microscopy (SEM) Sensor Gas dari Bahan Polimer Poly Ethelyn Glycol (PEG)*. Kudus: Universitas Muria Kudus.
- Hamriani, Pariabti Palloan, dan Muhammad Arsyad. 2016. Aplikasi METODE Scanning Electron Microscopy (SEM) dan X-Ray Diffraction (XRD) dalam menganalisis limbah Pabrik Gula X. *Jurnal Sains dan Pendidikan Fisika*. 12(1): 74-82.
- Haryadi, Gunawan Dwi. 2015. Pengaruh Tempering dan Perubahan Struktur Micro Bahan Chain-Pin pada Drag Chain-Coveyor Batu Bara. *ROTASI*. 17(1): 37-44.
- Hoque, M. Enamul, Tamrin Nuge, Tshai Kim Yeow, Norshariza Nordin, R. G. S. V. Prasad. 2015. Gelatin Based Scaffolds for Tissue Engineering – A Review. *Polymers Research Journal*. 9(1): 15-32.
- Ichsan, Miranda Zawazi. 2012. *Sintesis Makroporus Komposit Kolagen-Hidroksiaoatit sebagai Kandidat Bone Graft*. Surabaya: FST unair.
- Indriani, A., Aminatun, Siswanto. 2014. Upaya Meningkatkan Kuat Tekan Komposit HA-Kitosan sebagai Kandidat Aplikasi Implan Tulang Kortikal. *Jurnal Fisika dan Terapannya*. 2 (3):1-16.
- Irfanita, N *et al.* 2017. Rapid Detection of Gelatin in Dental Materials Using Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR). *Journal of Physics Conference Series*. 884.
- Januari S., Awal dan Awaludin Martin. 2014. Pengeringan Bengkuang dengan Sistem Pengeringan Beku Vakum (Vacuum Freeze Drying System). *Jom FTEKNIK*. 1(2): 1-13.

- Kamalha, Edwin, Yuansheng Zheng, Yongchun Zeng, Mutua N Fredrick. 2013. FTIR and WAXD Study of Regenerated Silk Fibroin. *Advanced Materials Research*. 677: 211-215
- Kartikasari, Nadia, Anita Yuliati, dan Indah Listiana. 2016. Compressive strength and porosity tests on bovine hydroxyapatite-gelatin-chitosan scaffolds. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 49(3): 153–157.
- Kaviani, Z. dan A. Zamanian. 2015. Effect of Nanohydroxyapatite Addition on the Pore Morphology and Mechanical Properties of Freeze Cast Hydroxyapatite Scaffolds. *Procedia Materials Science*. 11: 190-195.
- Koh, Kyung S., Jong Woo Choi, Eun Jeong Park, dan Tae Suk Oh. 2018. Bone Regeneration using Silk Hydroxyapatite Hybrid Composite in a Rat Alveolar Defect Model. *International Journal of Medical Sciences*. 15(1): 59-68.
- Lamlerd, Tonporn, Kumpanart Soontornvipart, Sawang Kerdangsakonwu, Sorada Kanokpanont, Siriporn Damrongsakkul. 2017. In Vivo Bone Regeneration of Thai Silk Fibroin Scaffolds with Gelatin, Hydroxyapatite and Hyaluronic Acid. *Thai J Vet Med*. 47(2): 165-172.
- Luetchford, Kim A., Julian B. Chaudhuri, Paul A. De Banka. 2019. Silk Fibroin/Gelatin Microcarriers as Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Materials Science & Engineering C*. 106(2020): 1-9.
- Melke, Johanna, Swati Midha, Sourabh Ghosh, Keita Ito, dan Sandra Hofmann. 2015. *Silk Fibroin as Biomaterial for Bone Tissue Engineering*. Netherlands: Acta Biomaterialia.
- Milla, Lalita El, Decky J. Indrani, dan Bambang Irawan. 2018. Sintesis dan Uji Porositas Scaffold Hidroksiapatit/Alginat. *ODONTO Dental Journal*. 5(1): 49-53.
- Moeliono, Moekarto dan Muliati Itung. 2010. Optimasi Gintiran dan Degumming terhadap Benang Sutera sebagai Bahan Rompi Anti Peluru. *Arena Tekstil*. 25(1): 1-56.
- Mohammadzadehmoghadam, Soheila dan Yu Dong. Fabrication and Characterization of Electrospun Silk Fibroin/Gelatin Scaffolds Crosslinked With Glutaraldehyde Vapor. *Frontiers in Materials*. 6(91): 1-12.
- Moisenovich, M. M., A. Yu. Arkhipova, A. A. Orlova, M. S Drutskaya, S. V. Volkova, S. E. Zachrov, I. I. Agapov, Academician M. P. Kirpichnicov. 2014. Composite Scaffolds Containing Silk Fibroin, Gelatin, and Hydroxyapatite for Bone Tissue Regeneration and 3D Cell Culturing. *Acta Nature*. 6(1): 96-101.

- Mozartha, Martha. 2015. Hidroksiapatit dan Aplikasinya di Bidang Kedokteran Gigi. *Cakradonya Dental Journal*. 7(2): 807-868.
- Nandih, Mira Melinda, Gita Cahya Eka Darma, dan Amila Gadri. 2017. Formulasi Gel Nanopartikel Fibroin Kepompong Ulat Sutera (*Bombyx mori* Linn.) serta Penentuan Nilai Faktor Pelindung Surya secara *In Vitro*. *Prosiding Farmasi*. 3(2): 585-591.
- Nazarov, Rina, Hyoung-Joon Jin, dan David L. Kaplan. 2004. Porous 3-D Scaffolds from Regenerated Silk Fibroin. *Biomacromolecules*. 5(3) : 718-726.
- Ningsih, Rini Purwo, Nelly Wahyuni, dan Lia Destiarti. 2014. Sintesis Hidroksiapatit dari Cangkang Kerang Kepah (*Polymesoda erosa*) dengan Variasi Pengadukan. *Jurnal Kedokteran Kesehatan*. 3(1): 22-26.
- Nguyen, Thang Phan, Quang Vinh Nguyen, Van-Huy Nguyen, Thu-Ha Le , Vu Quynh Nga Huynh, Dai-Viet N. Vo, Quang Thang Trinh, Soo Young Kim, Quyet Van Le. 2019. Silk Fibroin-Based Biomaterials for Biomedical Applications: A Review. *Polymers*. 11(1933): 1-25.
- Noviyanti, Atiek Rostika, Haryono, Rinal Pandu, dan Diana Rakhmawaty Eddy. 2017. Cangkang Telur Ayam sebagai Sumber Kalsium dalam Pembuatan Hidroksiapatit untuk Aplikasi Graft Tulang. *Chimica et Natura Acta*. 5(3): 107-111.
- Nurmanta, dan Dica Aprilia. 2013. *Optimalisasi Parameter Proses Sintering pada Pembuatan Biokeramik Hidroksiapatit Makropori untuk Aplikasi Bone Filler pada Kasus Kanker Tulang (Osteosarcoma)*. Skripsi. Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga: Surabaya.
- Oduosote, Jamiu K., Y Danyuo, Abdulazeez D Baruwa, Akeem 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.
- Oktaviani RZ, Ira, Fitra Perdana, Azlaini Yus Nasution. 2017. Perbandingan Sifat Gelatin yang Berasal dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) dan Gelatin yang Berasal dari Kulit Ikan Komersil. *Journal of Pharmacy & Sciene*. 1: 1-8.
- Petrauskaite, Odeta, Gintaras Juodzbaly, Pranas Viskelis, Jolanta Liesiene. 2016. Control of The Porous Structue of Cellulose-Based Tissue Engineering Scaffolds by Means of Lyophilization. *Cellulose Chemistry and Technology*. 50(1): 23-30.

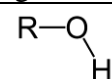
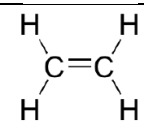
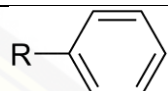
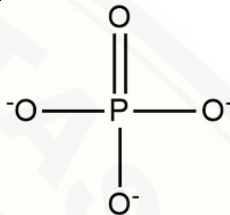
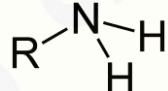
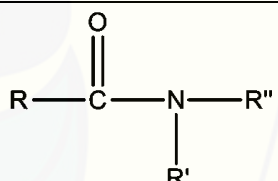
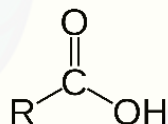
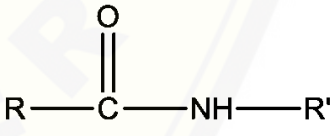
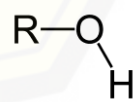
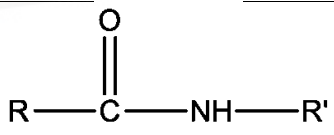
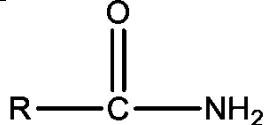
- Pujiyanto, Eko, Pringgo Widyo Laksono, dan Joko Triyono. 2014. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Powder from Natural Gypsum Rock. *Advanced Materials Research*. (893): 56-59.
- Qi, Yu, Hui Wang, Kai Wei, Ya Yang, Ru-Yue Zheng, Ick Soo Kim, dan Ke-Qin Zhang. 2017. A Review of Structure Construction of Silk Fibroin Biomaterials from Single Structures to Multi-Level Structures. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(237): 1-21.
- Ramadoss, Preethi, V. Subha, S. Kiubanandan. 2018. Gelatin-Silk Fibroin Composite Scaffold as A Potential Skin Graft Material. *Journal of Materials Science & Surface Engineering*. 6(2): 761-766.
- Rasyid, Abdul, Ahmad Fadli, dan Fajril Akbar. 2016. Pembuatan Trikalsium Fosfat Berpori Menggunakan Metode Protein Foaming-Consolidation. *JOM FTEKNIK*. 3(1): 1-7.
- Riaz, Tehseen, Rabia Zeeshan, Faiza Zarif, Kanwall Ilyas, Nawshad Muhammad, Sher Zaman Safi, Abdur Rahim, Syed A.A. Rizvi, Ihtesham Ur Rehman. 2018. FTIR Analysis of Natural and Synthetic Collagen. *Applied Spectroscopy Reviews*.
- Rustam, Adrian, Fransiske Ttengkeng, Andi Muh. Fahrudin, Arni Irawaty Djais. 2017. Kombinasi Perancah Silk-Fibroin dari Kepompong Ulat Sutera (*Bombyx mori*) dan konsentrasi Platelet sebagai Inovasi Terapi Regenerasi Tulang Alveolar. *Makassar Dental Journal*. 6(3): 107-115.
- Shi, Weili, Muyang Sun, Xiaoqing Hu, Bo Ren, Jin Cheng, Chenxi Li, Xiaoning Duan, Xin Fu, Jiying Zhang, Haifeng Chen, dan Yingfang Ao. 2017. Structurally and Functionally Optimized Silk-Fibroin-Gelatin Scaffold Using 3D Printing to Repair Cartilage Injury In Vitro and In Vivo. *Advanced Materials*. 1701089. 1-7.
- Sopyan I., M. Mel, S. Ramesh, dan K.A. Khalid. 2007. Porous hydroxyapatite for artificial bone applications. *Science and Technology of Advanced Materials*. 8: 116-123.
- Sjahfirdi, Luthfiralda, Nikki Aldi, Hera Maheshwari, dan Pudji Astuti. 2015. Metode Fourier Transform Infrared (FTIR) merupakan metode bebas reagen tanpa penggunaan radioaktif. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 9(2): 156-160.
- Suryati, Nasrul Z.A., Meriatna, Suryani. 2015. Pembuatan dan Karakterisasi Gelatin dari Ceker Ayam dengan Proses Hidrolisis. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 4(2): 66-79.



- Tran, T.T., Z.A. Hamid, dan K.Y. Cheong. 2018. A Review of Mechanical Properties of Scaffold in Tissue Engineering: Aloe Vera Composites. *Journal of Physics*. 1082: 1-6.
- Vishwanath, Varshini. 2017. *Development of Silk Fibroin/Chitosan Based Porous Scaffolds for Cartilage Tissue Engineering*. National Institute of Technology Rourkela: Departemen of Biotechnology and Medical Engineering.
- Wahid, Fazli, Hanif Ullah. 2018. Nanocomposite Scaffolds for Tissue Engineering; Properties, Preparation and Applications. *Applications of Nanocomposite Materials in Drug Delivery*.
- Walker, J.L., M. Santoro. 2017. Processing and Production of Bioresorbable Polymer Scaffolds for Tissue Engineering. *Bioresorbable Polymers for Biomedical Applications*.
- Zhang, Wu, Haixia Liu, Wei Yang, Chang Liu, Miaomiao Xie, Rui Guo, Jianqiang Liang, Zhongtai Ye, dan Hao Xu. 2019. *Fabrication, Characterization, and in vitro Study of Hydroxyapatite/Silk Fibroin Composite Biomimetic Scaffold for Dental Pulp Repair*. China: Nottingham Trent University.

## Lampiran A. Hasil Analisis Uji FTIR

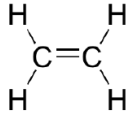
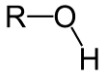
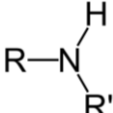
## A.1 Analisis FTIR Scaffold SF 2,8%-Gelatin

Puncak (cm <sup>-1</sup> )	Ikatan	Tipe Senyawa	Gugus Fungsi
625.76	O-H	Alcohol	
673.93	C=C	Alkene	
688.20	C=C	Alkene	
704.20	C=C	Alkene	
759.00	C-H	Aromatic	
791.82	C-H	Aromatic	
1056.70	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Phospate	
1073.66	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Phospate	
1162.17	C-N	amine	
1237.78	C-N; N-H	Tertiary amide β - Sheet	
1337.34 1402.23	(C=O)O	Carboxyl	
	N=H	Secondary amide	
1451.20	N=H	Secondary amide	
	O-H	Alcohol	
1536.69	N=H	Secondary amide β - Sheet	
1627.06	C=O	Primary amide β - Sheet	

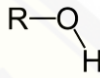
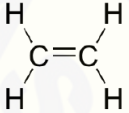
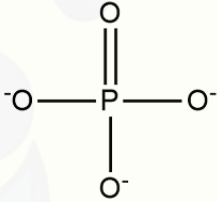
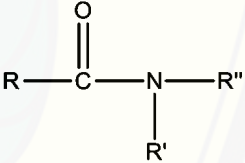
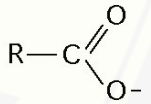
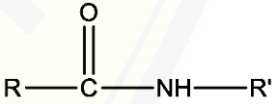
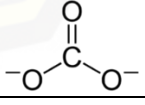
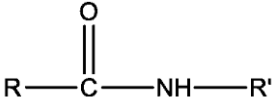
3280.40	O-H	Hydroxyl	$\text{R}-\text{O}-\text{H}$
	N-H	Amida A	$\text{R}-\text{N}-\text{H}$ $\quad \quad \quad \text{R}'$

A.2 Analisis FTIR *Scaffold* DGHA-SF 2,8%

Puncak ( $\text{cm}^{-1}$ )	Ikatan	Tipe Senyawa	Gugus Fungsi
632.56	O-H	Alcohol	$\text{R}-\text{O}-\text{H}$
654.22	O-H	Alcohol	
709.40	C=C	Alkene	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$
737.54	C-H	Aromatic	$\text{R}-\text{C}_6\text{H}_5$
806.39	C=C	Alkene	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$
906.24	C-H	Alkene	
944.69	$\text{PO}_4^{3-}$	Phospate	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O}^--\text{P}-\text{O}^- \\   \\ \text{O}^- \end{array}$
1035.72	$\text{PO}_4^{3-}$	Phospate	
1088.90	$\text{PO}_4^{3-}$	Phospate	
1231.97	C-N; N-H	Tertiary amide $\beta$ – Sheet	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{N}-\text{R}'' \\   \\ \text{R}' \end{array}$
1451.40	$\text{CO}_3^{2-}$	Karbonat	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O}^--\text{C}-\text{O}^- \end{array}$
1519.24	N=H	Secondary amide $\beta$ – Sheet	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{NH}-\text{R}' \end{array}$
1552.08	N=H	Secondary amide	
1625.07	C=O	Primary amide $\beta$ – Sheet	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$

1647.51	C=C	Alkene	
3293.56	O-H	Hydroxyl	
	N-H	Amida A	

A.3 Analisis FTIR *Scaffold* DGHA-SF 2,8%-Gelatin

Puncak (cm <sup>-1</sup> )	Ikatan	Tipe Senyawa	Gugus Fungsi
613.40	O-H	Alcohol	
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	C-N; N-H	Tertiary amide β – Sheet	
1338.26 1397.42	(C=O)O	Carboxyl	
	N=H	Secondary amide	
1418.41 1435.48 1455.88	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Karbonat	
	N=H	Secondary amide	
1521.45	N=H	Secondary amide β – Sheet	
1540.12	N=H	Secondary amide	

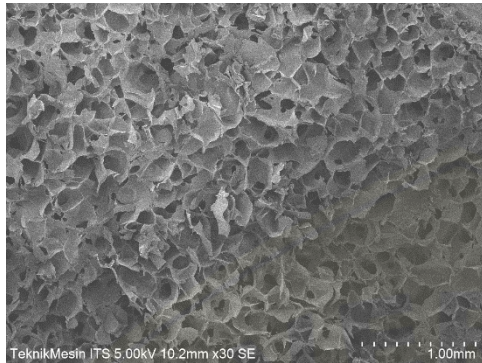
1555.69	N-H	Secondary amide	
1649.42	C=O	Primary amide	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2$
	C=C	Alkene	$\begin{array}{c} \text{H} & & \text{H} \\ & \diagdown & / \\ & \text{C}=\text{C} \\ & / & \diagdown \\ \text{H} & & \text{H} \end{array}$
3275.51	O-H	Hydroxyl	$\text{R}-\text{O}-\text{H}$
	N-H	Amide A	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{R}-\text{N} \\   \\ \text{R}' \end{array}$

## A.4 Analisis FTIR Scaffold DGHA-SF 1,2%-Gelatin

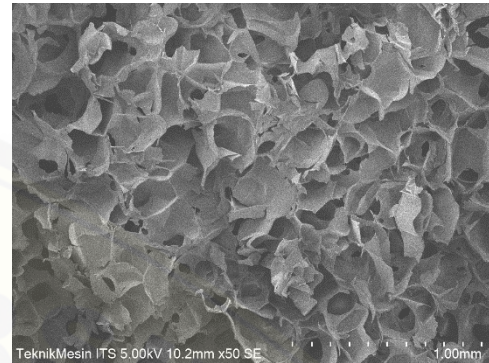
Puncak ( $\text{cm}^{-1}$ )	Ikatan	Tipe Senyawa	Gugus Fungsi
618.37	O-H	Alcohol	$\text{R}-\text{O}-\text{H}$
648.56	O-H	Alcohol	$\text{H}$
688.77	C=C	Alkene	$\begin{array}{c} \text{H} & & \text{H} \\ & \diagdown & / \\ & \text{C}=\text{C} \\ & / & \diagdown \\ \text{H} & & \text{H} \end{array}$
827.46	C=C	Alkene	
870.87	$\text{CO}_3^{2-}$	Karbonat	$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ -\text{O}-\text{C}-\text{O}- \end{array}$
925.22	$\text{PO}_4^{3-}$	Phosphate	$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ -\text{O}-\text{P}-\text{O}- \\   \\ \text{O}^- \end{array}$
947.26	$\text{PO}_4^{3-}$	Phosphate	
1038.73	$\text{PO}_4^{3-}$	Phosphate	
1090.34	$\text{PO}_4^{3-}$	Phosphate	
1240.08	C-N; N-H	Tertiary amide $\beta$ -Sheet	$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{R}-\text{C}-\text{N}-\text{R}'' \\   \\ \text{R}' \end{array}$
1339.26 1375.43	(C=O)O	Carboxyl	$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{R}-\text{C}-\text{O}- \end{array}$
	N-H	Secondary amide	

1417.51	N-H	Secondary amide	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-\text{R}'$
	$\text{CO}_3^{2-}$	Karbonat	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{O}-\text{C}-\text{O}- \\   \\ \text{O} \end{array}$
1453.47	C-H	alkane	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\   \quad   \\ \text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{H} \\   \quad   \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$
	N-H	Secondary amide	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-\text{R}'$
1541.29	N-H	Secondary amide	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-\text{R}'$
1635.34	C=O	Primary amide $\beta$ - Sheet	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2$
1735.25	C=O	Aldehyde	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{H} \end{array}$
3304.11	O-H	Hydroxyl	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{O} \\   \\ \text{H} \end{array}$
	N-H	Amide A	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{R}-\text{N} \\   \\ \text{R}' \end{array}$

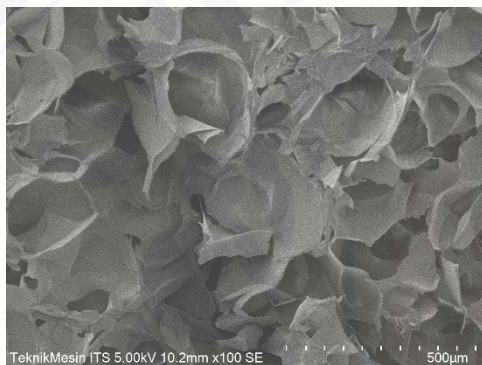
## Lampiran B. Hasil Uji SEM dan Analisa Image J

B.1 Hasil SEM *Scaffold SF 2,8%-Gelatin*

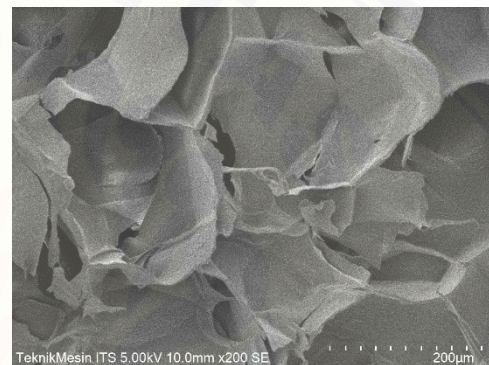
(a)



(b)

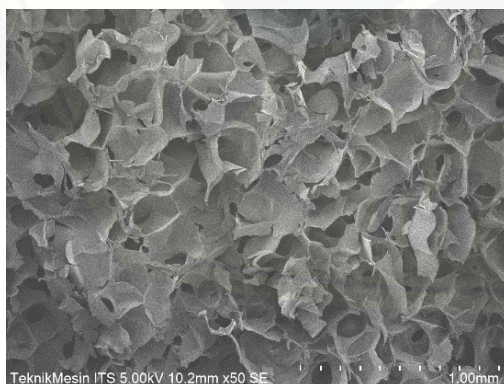


(c)

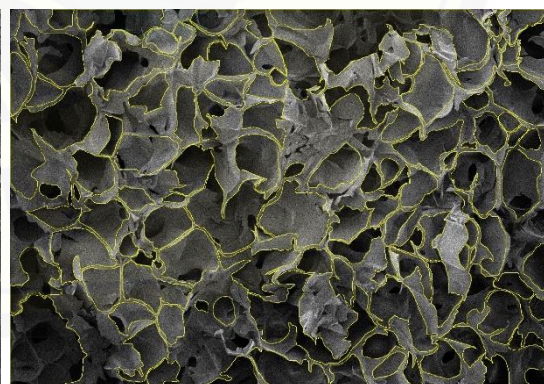


(d)

(a) Perbesaran 30X; (b) perbesaran 50X; (c) Perbesaran 100X; (d) Perbesaran 200X  
Gambar Hasil SEM *scaffold A*



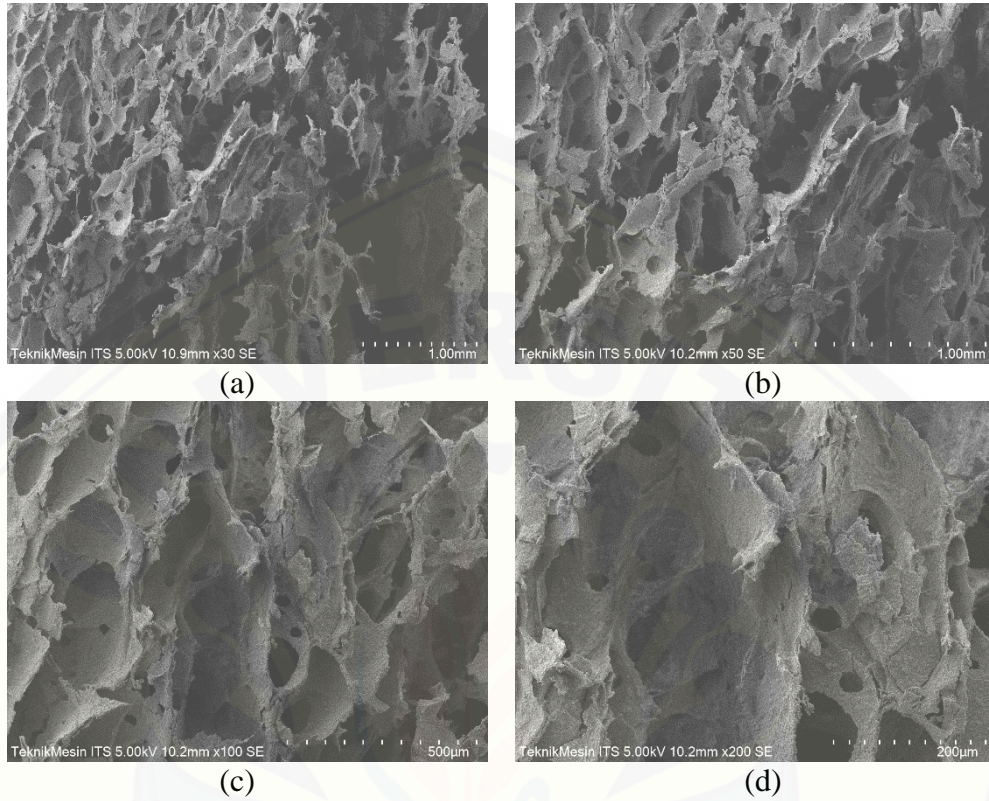
A



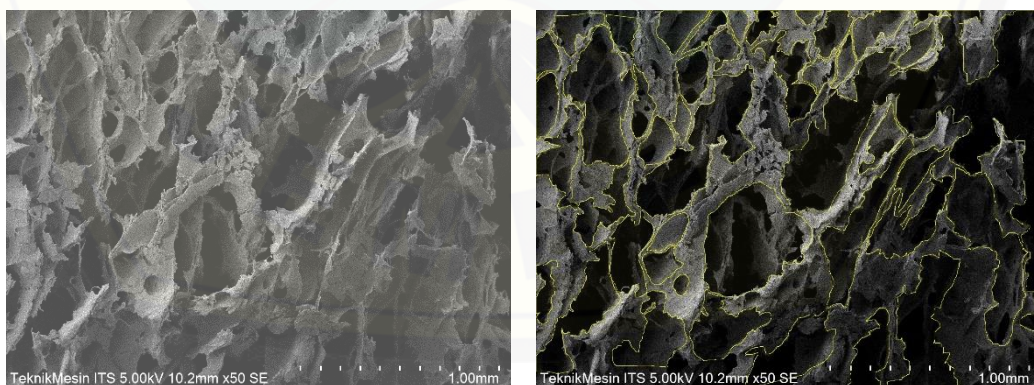
B

Gambar SEM perbesaran 50X (A) dan (B) Analisa pori *scaffold* yang sudah diproses menggunakan *software Image J*

B.2 Hasil SEM *Scaffold* DGHA-SF 2,8%

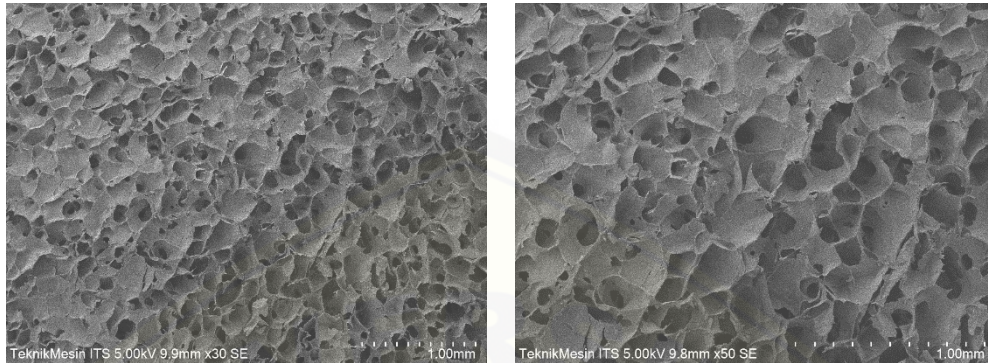


(a) Perbesaran 30X; (b) perbesaran 50X; (c) Perbesaran 100X; (d) Perbesaran 200X  
Gambar Hasil SEM *scaffold* B



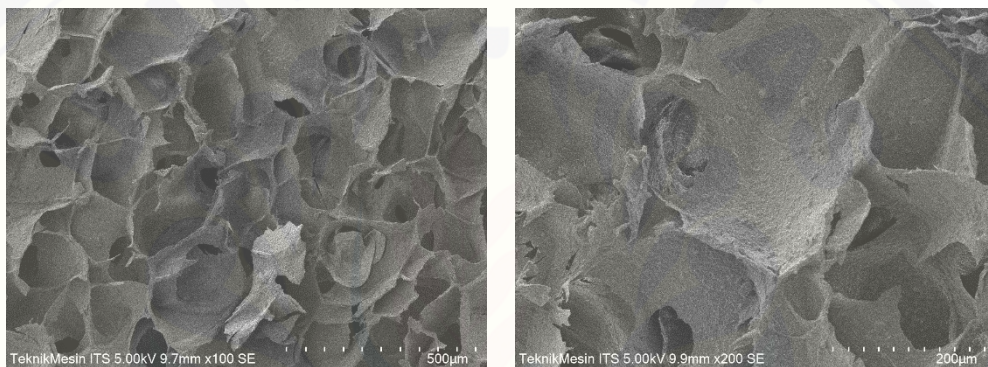
Gambar SEM perbesaran 50X (A) dan (B) Analisa pori *scaffold* yang sudah diproses menggunakan *software Image J*



B.3 Hasil SEM *Scaffold* DGHA-SF 2,8%-Gelatin

(a)

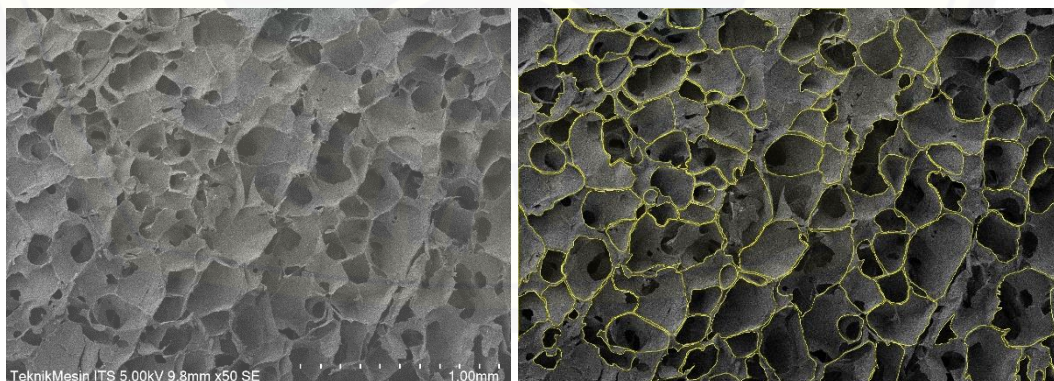
(b)



(c)

(d)

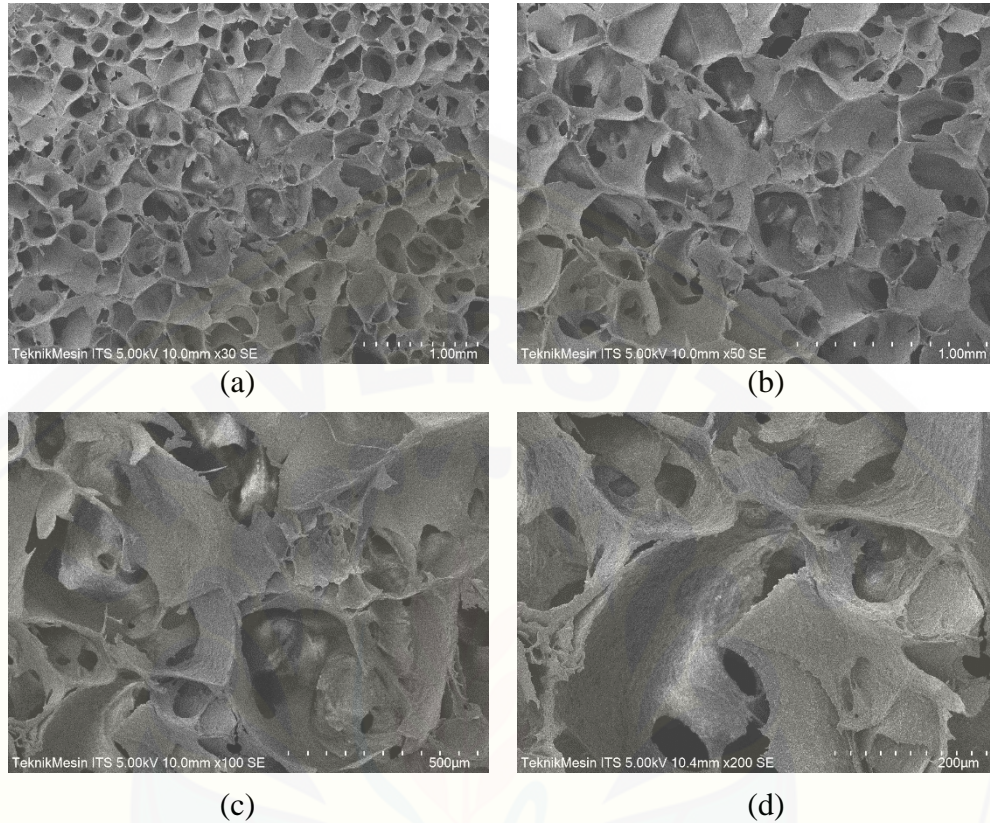
(a) Perbesaran 30X; (b) Perbesaran 50X; (c) Perbesaran 100X; (d) Perbesaran 200X  
Gambar Hasil SEM *scaffold* C



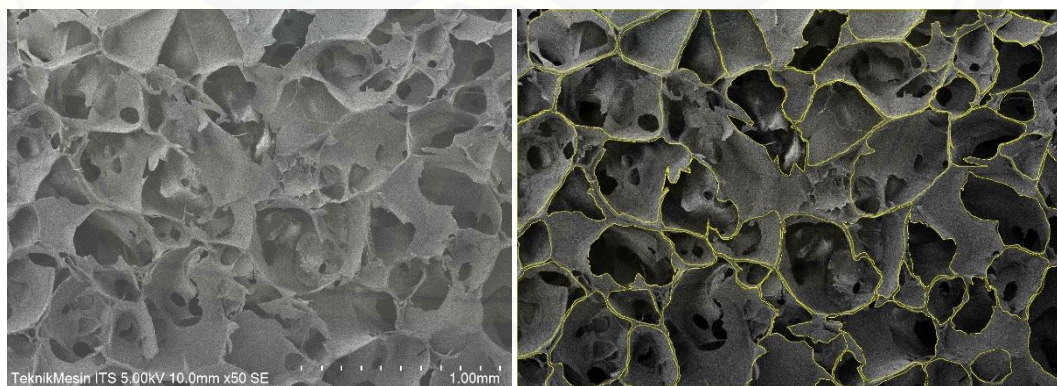
A

B

Gambar SEM perbesaran 50X (A) dan (B) Analisa pori *scaffold* yang sudah diproses menggunakan *software Image J*

B.4 Hasil SEM *Scaffold* DGHA-SF 1,2%-Gelatin

a) Perbesaran 30X; b) Perbesaran 50X; c) Perbesaran 100X; d) Perbesaran 200X  
Gambar Hasil SEM *scaffold* D



A

B

Gambar SEM perbesaran 50X (A) dan (B) Analisa pori *scaffold* yang sudah diproses menggunakan *software Image J*

Lampiran C. Hasil Uji Porositas *Scaffold*

## 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%	
A (SF2,8%-Gelatin)	1	36,6	2	2,09	1,48	0,52	0,61	85,2459	2,206803
	2	42,9	2	2,11	1,41	0,59	0,7	84,28571	
	3	37,2	2	2,07	1,42	0,58	0,65	89,23077	
	4	41,2	2	2,09	1,38	0,62	0,71	87,32394	
Rata-rata		39,475	2	2,09	1,4225	0,5775	0,6675	86,52158	
B (DGHA-SF2,8%)	1	29,7	2	2,01	1,85	0,15	0,16	93,75	2,350622
	2	36,2	2	2,01	1,71	0,29	0,3	96,66667	
	3	57,9	2	2,02	1,7	0,3	0,32	93,75	
	4	47,1	2	2,02	1,8	0,2	0,22	90,90909	
Rata-rata		42,725	2	2,015	1,765	0,235	0,25	93,76894	
C (DGHA-SF2,8%-Gelatin)	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	
D (DGHA-SF1,2%-Gelatin)	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

1. Hasil uji normalitas porositas *scaffold* DGHA-SF-Gelatin

Tests of Normality							
	SCAFFOLD	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
POROSITAS	SF 2,8%-Gelatin	,218	4	.	,960	4	,776
	DGHA-SF 2,8%	,253	4	.	,945	4	,682
	DGHA-SF 2,8%-Gelatin	,222	4	.	,953	4	,736
	DGHA-SF 1,2%-Gelatin	,163	4	.	,989	4	,951

a. Lilliefors Significance Correction

2. Hasil uji homogenitas porositas *scaffold* DGHA-SF-Gelatin

Test of Homogeneity of Variance					
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
POROSITAS	Based on Mean	,354	3	12	,787
	Based on Median	,340	3	12	,797
	Based on Median and with adjusted df	,340	3	6,888	,798
	Based on trimmed mean	,353	3	12	,788

3. Hasil uji *one way anova* prosentase porositas *scaffold* SF-DGHA II-Gelatin

## ANOVA

POROSITAS					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	331,180	3	110,393	29,549	,000
Within Groups	44,831	12	3,736		
Total	376,011	15			

4. Hasil uji LSD prosentase porositas *scaffold* DGHA-SF-Gelatin

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: POROSITAS

LSD

(I) SCAFFOLD	(J) SCAFFOLD	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
		-			-	
	DGHA-SF 2,8%	7,24736000	1,36673031	,000	10,2252095	-4,2695105
SF 2,8%-Gelatin	DGHA-SF 2,8%-Gelatin	2,53379000	1,36673031	,088	-,4440595	5,5116395
	DGHA-SF 1,2%-Gelatin	4,88447250	1,36673031	,004	1,9066230	7,8623220
	SF 2,8%-Gelatin	7,24736000	1,36673031	,000	4,2695105	10,2252095
DGHA-SF 2,8%	DGHA-SF 2,8%-Gelatin	9,78115000	1,36673031	,000	6,8033005	12,7589995
	DGHA-SF 1,2%-Gelatin	12,13183250	1,36673031	,000	9,1539830	15,1096820
	SF 2,8%-Gelatin	2,53379000	1,36673031	,088	-5,5116395	,4440595
DGHA-SF 2,8%-Gelatin	DGHA-SF 2,8%	9,78115000	1,36673031	,000	12,7589995	-6,8033005
	DGHA-SF 1,2%-Gelatin	2,35068250	1,36673031	,111	-,6271670	5,3285320
	SF 2,8%-Gelatin	4,88447250	1,36673031	,004	-7,8623220	-1,9066230
DGHA-SF 1,2%-Gelatin	DGHA-SF 2,8%	12,13183250	1,36673031	,000	15,1096820	-9,1539830
	DGHA-SF 2,8%-Gelatin	2,35068250	1,36673031	,111	-5,3285320	,6271670

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

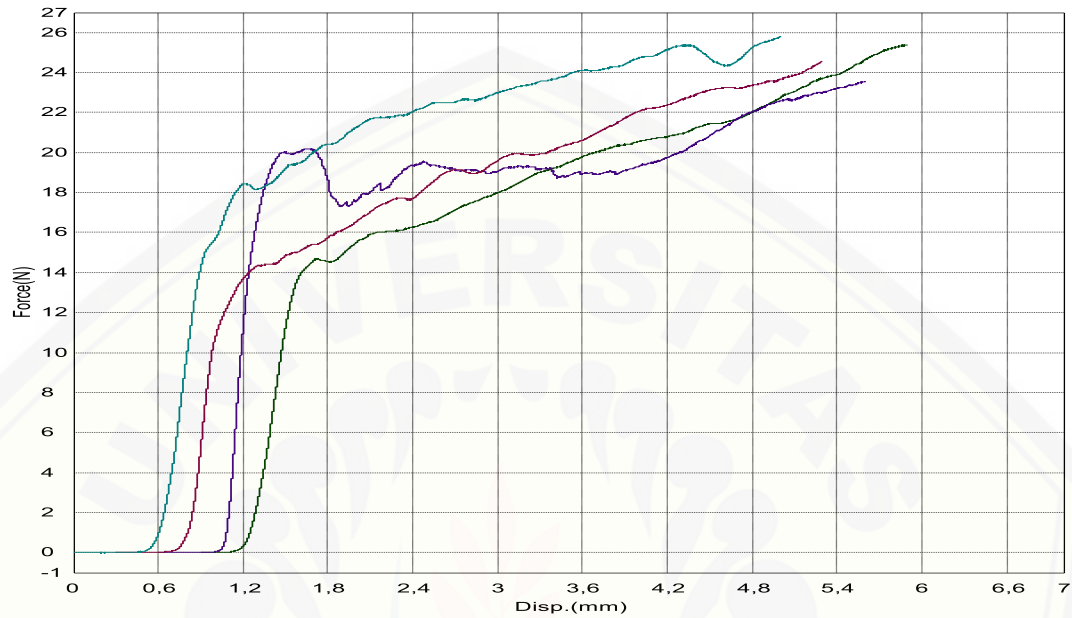
## Lampiran D. Hasil Uji Mekanik

## D.1. Hasil uji mekanik

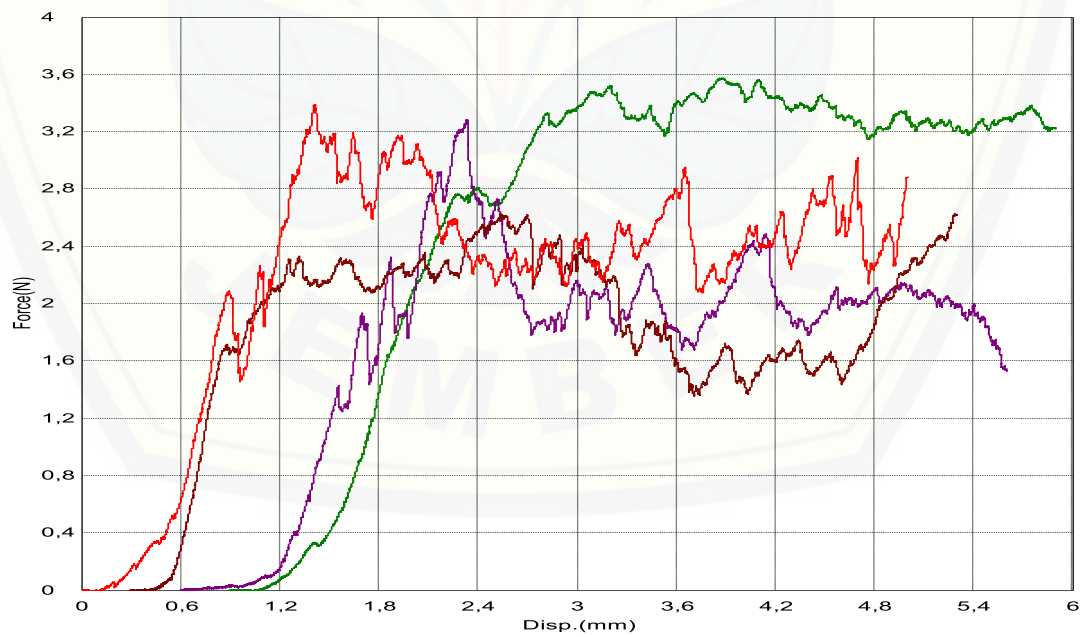
Name	Max_Force	Elastic	Max_Stress
Parameter	Calc. at Entire Areas	Force 9,999999 - 20 N	Calc. at Entire Areas
Pass/Fail			
Unit	N	N/mm2	N/mm2
Print	TRUE	TRUE	TRUE
1 _ 1 (SF 2,8%-Gelatin)	25,8029	1010,95	32,8533
1 _ 2 (SF 2,8%-Gelatin)	24,5783	436,328	31,294
1 _ 3 (SF 2,8%-Gelatin)	23,5756	4044,85	30,0174
1 _ 4 (SF 2,8%-Gelatin)	25,3776	386,995	32,3118
Average	24,8336	1469,78	31,6191
Standard Deviation	0,98034	1739,92	1,24823
Maximum	25,8029	4044,85	32,8533
Minimum	23,5756	386,995	30,0174
2 _ 1 (DGHA-SF 2,8%)	3,38682	--	4,31223
2 _ 2 (DGHA-SF 2,8%)	2,62499	--	3,34224
2 _ 3 (DGHA-SF 2,8%)	3,28366	--	4,18089
2 _ 4 (DGHA-SF 2,8%)	3,57358	--	4,55002
Average	3,21726		4,09635
Standard Deviation	0,41268		0,52544
Maximum	3,57358		4,55002
Minimum	2,62499		3,34224
3 _ 1 (DGHA-SF 2,8%-Gelatin)	27,3091	243,831	34,771
3 _ 2 (DGHA-SF 2,8%-Gelatin)	29,2328	446,956	37,2204
3 _ 3 (DGHA-SF 2,8%-Gelatin)	28,7058	1836,68	36,5493
3 _ 4 (DGHA-SF 2,8%-Gelatin)	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
4 _ 1 (DGHA-SF 1,2%-Gelatin)	20,1025	218,444	25,5953
4 _ 2 (DGHA-SF 1,2%-Gelatin)	21,6443	165,804	27,5583
4 _ 3 (DGHA-SF 1,2%-Gelatin)	23,1932	278,121	29,5305
4 _ 4 (DGHA-SF 1,2%-Gelatin)	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

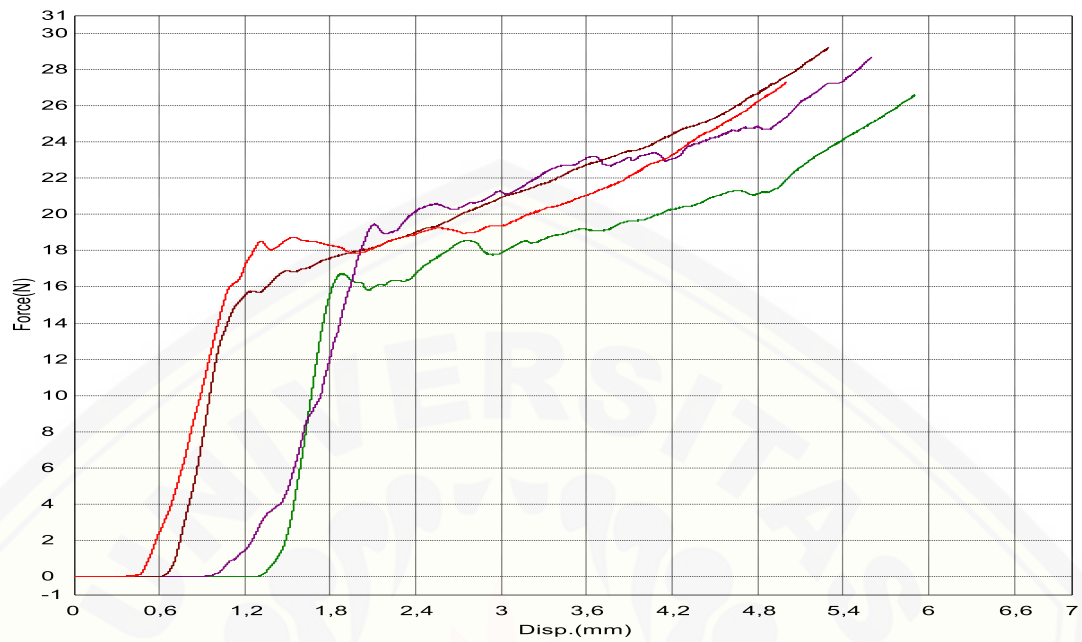
### 1. Grafik *scaffold* SF 2,8%-Gelatin



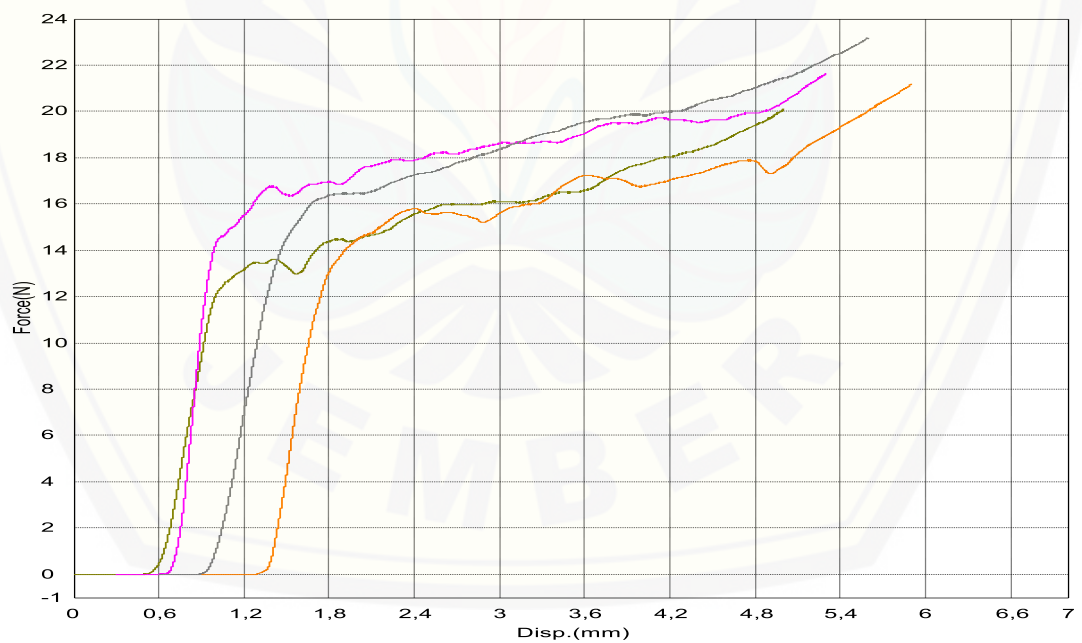
### 2. Grafik *scaffold* DGHA-SF 2,8%



### 3. Grafik *scaffold* DGHA-SF 2,8%-Gelatin



### 4. Grafik *scaffold* DGHA-SF 1,2%-Gelatin





D.3 Hasil uji statistik mekanik *scaffold* DGHA-SF-Gelatin1. Hasil uji normalitas kekuatan tekan *scaffold* DGHA-SF-Gelatin

**Tests of Normality**

	SCAFFOLD	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
TEKAN	SF 2,8%-Gelatin	,211	4	.	,960	4	,779
	DGHA-SF 2,8%	,314	4	.	,876	4	,323
	DGHA-SF 2,8%- Gelatin	,229	4	.	,937	4	,637
	DGHA-SF 1,2%- Gelatin	,215	4	.	,981	4	,908

a. Lilliefors Significance Correction

2. Hasil uji homogenitas kekuatan tekan *scaffold* DGHA-SF-Gelatin

**Test of Homogeneity of Variance**

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	1,590	3	12	,243
Based on Median	1,603	3	12	,240
TEKAN Based on Median and with adjusted df	1,603	3	7,556	,267
Based on trimmed mean	1,612	3	12	,238

3. Hasil uji *one way anova* kekuatan tekan dan *scaffold* DGHA-SF-Gelatin

**ANOVA**

TEKAN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,585	3	,195	461,828	,000
Within Groups	,005	12	,000		
Total	,590	15			

4. Hasil uji LSD kekuatan tekan *scaffold* DGHA-SF-Gelatin

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: TEKAN

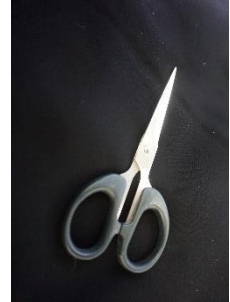
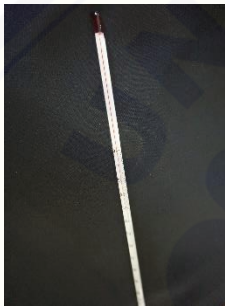
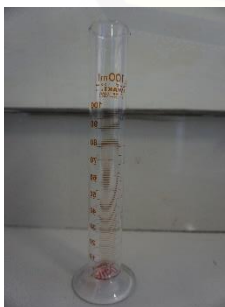
LSD

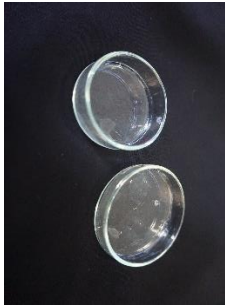
(I) SCAFFOLD	(J) SCAFFOLD	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
SF 2,8%-Gelatin	DGHA-SF 2,8%	,430261632*	,014531651	,000	,39859988	,46192338
	DGHA-SF 2,8%-Gelatin	-,062247000*	,014531651	,001	-,09390875	-,03058525
	DGHA-SF 1,2%-Gelatin	,065740750*	,014531651	,001	,03407900	,09740250
DGHA-SF 2,8%	SF 2,8%-Gelatin	,430261632*	,014531651	,000	-,46192338	-,39859988
	DGHA-SF 2,8%-Gelatin	,492508632*	,014531651	,000	-,52417038	-,46084688
	DGHA-SF 1,2%-Gelatin	,364520882*	,014531651	,000	-,39618263	-,33285913
DGHA-SF 2,8%-Gelatin	SF 2,8%-Gelatin	,062247000*	,014531651	,001	,03058525	,09390875
	DGHA-SF 2,8%	,492508632*	,014531651	,000	,46084688	,52417038
	DGHA-SF 1,2%-Gelatin	,127987750*	,014531651	,000	,09632600	,15964950
DGHA-SF 1,2%-Gelatin	SF 2,8%-Gelatin	,065740750*	,014531651	,001	-,09740250	-,03407900
	DGHA-SF 2,8%	,364520882*	,014531651	,000	,33285913	,39618263
	DGHA-SF 2,8%-Gelatin	,127987750*	,014531651	,000	-,15964950	-,09632600

\*. 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**Tube**Pipet**Gelas ukur**Beaker glass**Tabung kaca**Micropipet*



Petridisk



Neraca



Homogenizer sonic ruptor



Vacuum chamber



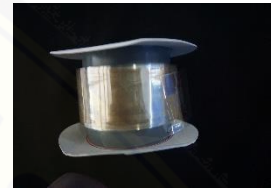
vibrator



Hotplate stirrer



Baki



Membran dialisis



Oven



Centrifuge



Lemari pendingin



freezer

E.2. Bahan



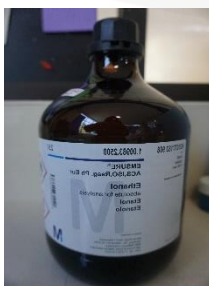
Kokon *Bombyx mori*



Gelatin



DGHA II



Alkohol absolute



CaCl<sub>2</sub>



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

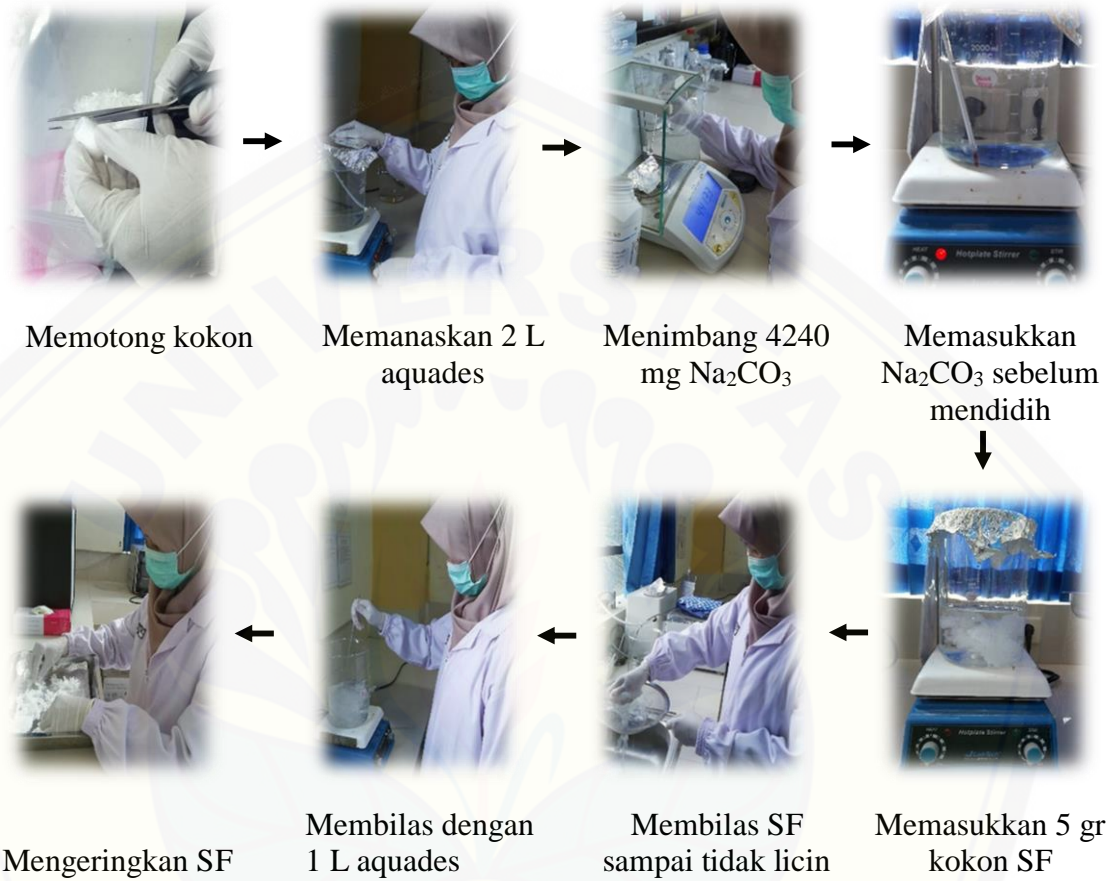


Hexane

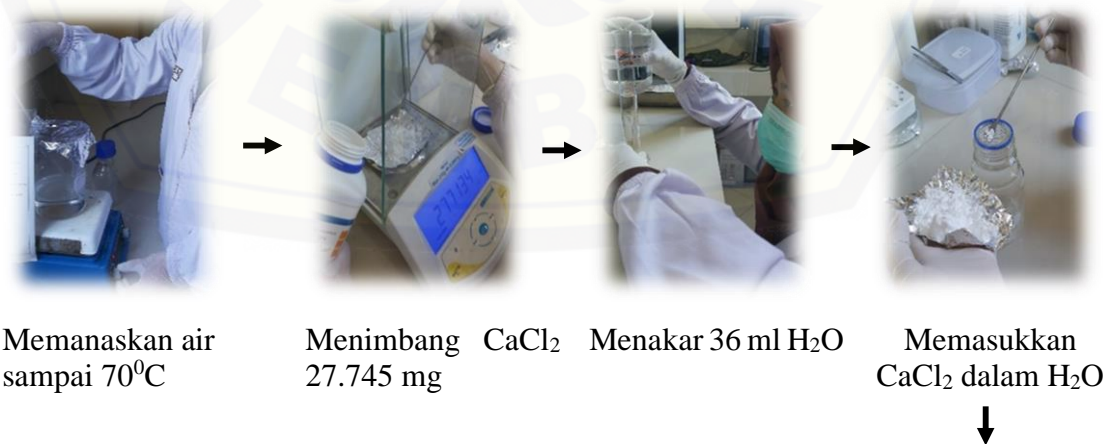
Lampiran F. Prosedur Penelitian

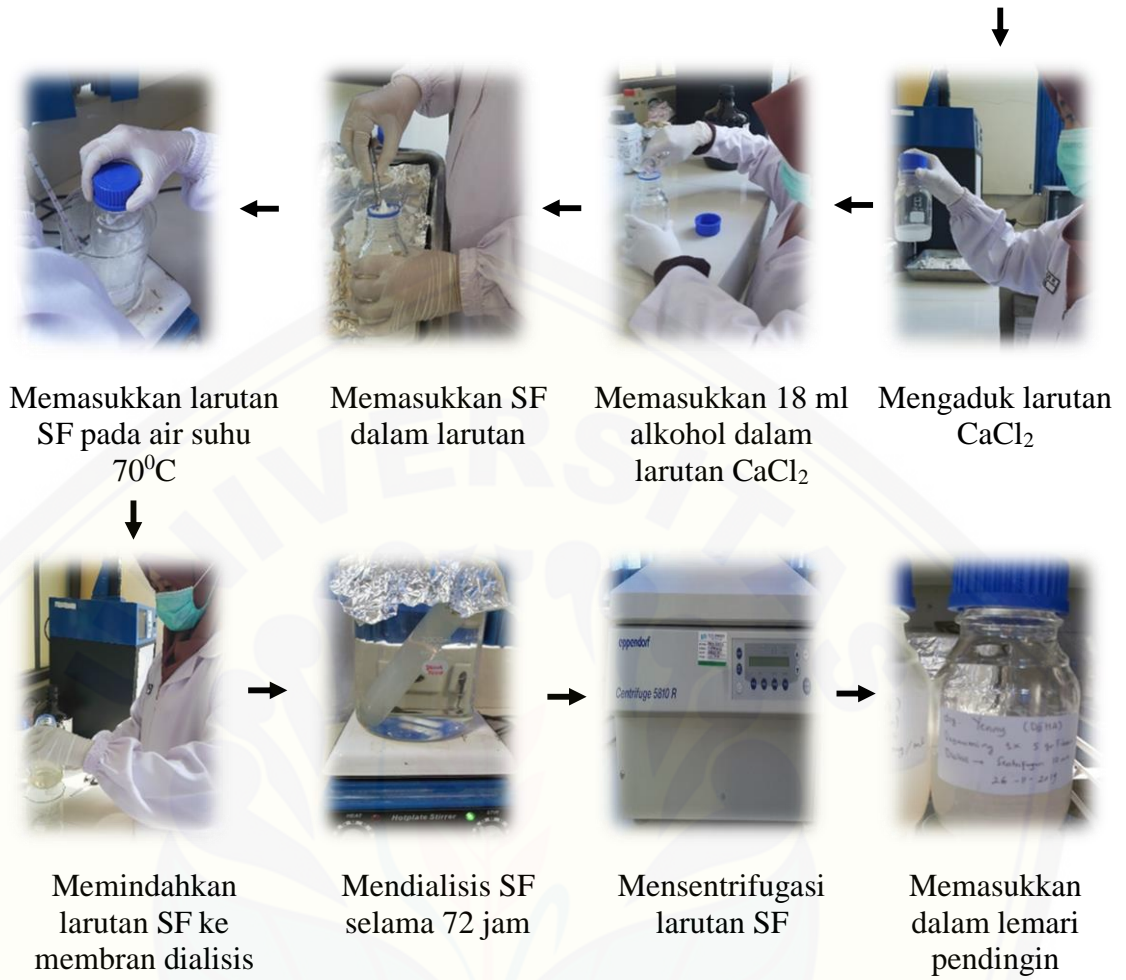
F.1 Pembuatan *Silk Fibroin* (SF)

F.1.1 Proses *Degumming*

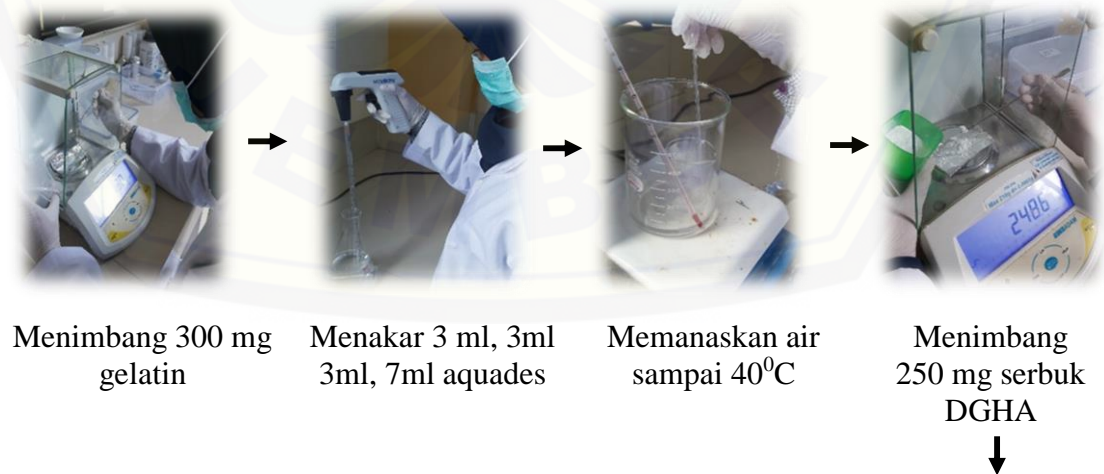


F.1.2 Proses *Dissolving* SF





F.2 Proses Pembuatan Sampel





Memasukkan DGHA dalam larutan gelatin

Mencampur larutan DGHA dengan *sonicator* selama 1'

Memasukkan larutan SF 3 ml/ 7ml

Mencampur larutan dengan *sonicator* selama 6'30''



Memasukkan larutan ke microtube



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



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



*Scaffold* DGHA-SF-Gelatin