



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN

UNIVERSITAS AIRLANGGA

FAKULTAS FARMASI

Gedung Nanizar Zaman Joenoes, Kampus C UNAIR Jl. Mulyorejo, Surabaya 60115

Telp.031-5933150, Fax.031-5935249

Website : <http://www.ff.unair.ac.id>; Email : info@ff.unair.ac.id

SURAT KEPUTUSAN
DEKAN FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOMOR : 73 /UN3.1.5/2021

tentang

PENETAPAN TIM PENGUJI UJIAN KELAYAKAN DISERTASI
MAHASISWA PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU FARMASI
SEMESTER GENAP TAHUN 2020/2021

DEKAN FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA

- Menimbang :
- Bahwa untuk penyelenggaraan Ujian Kelayakan Disertasi Mahasiswa Program Studi Doktor Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, perlu dibentuk Tim Penguji Ujian Kelayakan Disertasi
 - Bahwa untuk keperluan tersebut di atas perlu diterbitkan Surat Keputusan Dekan
- Mengingat :
- Undang-Undang Republik Indonesia nomor 20 tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional
 - Undang-Undang nomor 14 tahun 2005, tentang Guru dan Dosen
 - Undang – Undang nomor 12 tahun 2012, tentang Pendidikan Tinggi
 - Peraturan Pemerintah nomor 57 tahun 1954 tentang Pendirian Universitas Airlangga
 - Keputusan Menteri PTIP nomor 64 tahun 1965, tentang Pendirian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
 - Peraturan Pemerintah nomor 30 tahun 2006 tentang Penetapan Universitas Airlangga sebagai Badan Hukum Milik Negara
 - Peraturan Rektor Universitas Airlangga nomor 42 Tahun 2016 tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas Airlangga;
 - Keputusan Majelis Wali Amanat Universitas Airlangga Nomor 3/H3.MWA/K/2020 tentang Pengangkatan Rektor Universitas Airlangga Periode 2020-2025;
 - Keputusan Rektor Universitas Airlangga No. 726/UN3/2020, tentang Pengangkatan Dekan Fakultas, Direktur Sekolah Pascasarjana dan Direktur Rumah Sakit Universitas Airlangga Periode 2020-2025;
 - Keputusan Rektor Universitas Airlangga nomor : 1476/H3/KR/2009 tanggal 23 November 2009, tentang Pembukaan Program Studi Doktor Ilmu Farmasi pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga
 - Keputusan Rektor Universitas Airlangga nomor : 13/H3/PR/2011 tanggal 20 Juni 2011, tentang Pengelolaan Pendidikan Program Magister dan Program Doktor Universitas Airlangga
 - Keputusan Rektor Universitas Airlangga nomor : 20/H3/PR/2012 tanggal 05 Januari 2012 tentang Pelimpahan Pengelolaan Penyelenggaraan Pendidikan Program Doktor dari Program Pascasarjana ke Fakultas di Lingkungan Universitas Airlangga
 - Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 21 Tahun 2014 tanggal 30 Juni 2014, tentang Pedoman Pendidikan Program Doktor (S3) Universitas Airlangga.



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN

UNIVERSITAS AIRLANGGA

FAKULTAS FARMASI

Gedung Nanizar Zaman Joenoes, Kampus C UNAIR Jl. Mulyorejo, Surabaya 60115

Telp. 031-5933150, Fax. 031-5935249

Website : <http://www.ff.unair.ac.id>; Email : info@ff.unair.ac.id

LANJUTAN.....

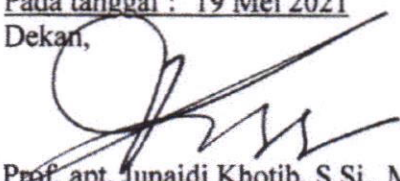
MEMUTUSKAN

- Menetapkan : Mengangkat Tim Penguji Ujian Kelayakan Disertasi Mahasiswa Program Studi Doktor Pertama Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Semester Genap Tahun 2020/2021 dengan susunan Ketua dan Anggota seperti tercantum dalam lampiran Surat Keputusan ini;
- Kedua : Tim Penguji Ujian Kelayakan Disertasi bertugas:
1. Memeriksa dan menilai Naskah Ujian Kelayakan Disertasi yang diajukan oleh Calon Doktor sesuai dengan Pedoman Penilaian Ujian Kelayakan Disertasi.
 2. Melaksanakan kegiatan Ujian Kelayakan Disertasi sesuai dengan Pedoman Pelaksanaan Ujian Kelayakan Disertasi
 3. Melaksanakan evaluasi Ujian Kelayakan Disertasi
- Ketiga : Biaya terkait dengan Surat Keputusan ini dibebankan pada RKAT Fakultas Farmasi Universitas Airlangga tahun Anggaran 2020
- Keempat : Surat Keputusan ini berlaku untuk Semester Genap Tahun 2020/2021 dengan ketentuan apabila dikemudian hari terdapat kekeliruan dan atau kekurangan akan diperbaiki sebagaimana mestinya

Ditetapkan : DI SURABAYA

Pada tanggal : 19 Mei 2021

Dekan,


Prof. apt. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D

NIP. 19701022 199512 1 001

Tembusan Yth. :

1. KPS. Doktor Ilmu Farmasi
2. Kabag. Akademik Fakultas Farmasi Unair
3. Ketua Departemen di Lingkungan Fakultas Farmasi Unair
4. Kasubag Keuangan & SDM Fakultas Farmasi Unair
5. Arsip



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN

UNIVERSITAS AIRLANGGA

FAKULTAS FARMASI

Gedung Nanizar Zaman Joenoes, Kampus C UNAIR Jl. Mulyorejo, Surabaya 60115

Telp.031-5933150, Fax.031-5935249

Website : <http://www.ff.unair.ac.id>; Email : info@ff.unair.ac.id

LAMPIRAN SURAT KEPUTUSAN

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Nomor : **73** /UN3.1.5/2021

Tanggal : 19 Mei 2021

PENETAPAN TIM PENGUJI UJIAN KELAYAKAN DISERTASI
MAHASISWA PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU FARMASI
SEMESTER GENAP TAHUN 2020/2021

NO	NAMA PENGUJI	STATUS	NAMA/ NIM YANG DIUJI	JUDUL DISERTASI
1.	Prof. apt. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D	Ketua	Samirah Nim.0051517097302	Bovin Hidroksiapatit, Gelatin dan Alendronat Sebagai Scaffold Dalam Akselerasi Penyembuhan Defek Tulang
2.	Dr. Ferdiansyah, dr., SpOT (K)	Anggota		
3.	Dr. apt. Aniek Setiya Budiati, M.Si	Anggota		
4.	Prof. Dr. apt. Siswandono, MS	Anggota		
5.	Prof. Dr. apt. Suharjono, MS	Anggota		
6.	Dr. Imam Susilo, dr., Sp.PA(K)	Anggota		
7.	Dr. apt. Budi Suprapti, M.Si	Anggota		
8.	apt. Dra. Esti Hendradi, M.Si., Ph.D	Anggota		

Dekan,

Prof. apt. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D

NIP. 19701022 199512 1 001

DISERTASI

**BOVIN HIDROKSIAPATIT, GELATIN DAN ALENDRONAT
SEBAGAI SCAFFOLD DALAM AKSELERASI
PENYEMBUHAN DEFEK TULANG**



SAMIRAH

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

**BOVIN HIDROKSIAPATIT, GELATIN DAN ALENDRONAT
SEBAGAI *SCAFFOLD* DALAM AKSELERASI
PENYEMBUHAN DEFEK TULANG**

DISERTASI

**Untuk memperoleh Gelar Doktor
Dalam Program Studi Doktor Ilmu Farmasi
Pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
Yang telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Disertasi Terbuka
Pada Hari Jumat, 15 Oktober 2021**

Oleh:

**SAMIRAH
NIM. 051517097302**


**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

LEMBAR PENGESAHAN

**UJIAN TERTUTUP DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 22 OKTOBER 2021**

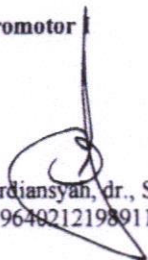
OLEH

Promotor



Prof. apt. Junaidi Khotib, S.Si. M.Kes., PhD.
NIP. 197010221995121001

Ko-Promotor I



Dr. Ferdiansyah, dr., Sp.OT(K)
NIP. 196402121989111001

Ko-Promotor II



Dr. apt. Aniek Setiya Budiadin, M. Si
NIP 195912121989032001

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Doktor Ilmu Farmasi



Prof. Dr. apt. Djoko Agus Purwanto, M.Si.
NIP. 195908051987011001

RINGKASAN

BOVIN HIDROKSIAPATIT, GELATIN DAN ALENDRONAT SEBAGAI SCAFFOLD DALAM AKSELERASI PENYEMBUHAN DEFEK TULANG

Samirah

Scaffold digunakan untuk mempercepat regenerasi defek tulang dan mempercepat penyembuhan tulang yang mengalami cedera. Regenerasi tulang dimulai dari perekrutan, perlekatan dan proliferasi sel progenitor yang diikuti diferensiasi sel yang sesuai sehingga mampu memulihkan jaringan yang rusak. *Golden standard* penanganan terjadinya defek tulang adalah autograf, tetapi penggunaannya sangat terbatas sehingga digunakan *scaffold*. *Scaffold* yang digunakan terbuat dari bovin hidroksiapatit (BHA) dan gelatin (GEL) yang mengandung bahan aktif alendronat. Komposit bovin hidroksiapatit (BHA) dan gelatin (GEL) merupakan alternatif yang baik sebagai *scaffold* karena menyatukan sifat osteokonduktif dari BHA dan elastisitas dari GEL dan menyesuaikan dengan komposisi tulang. Alendronat digunakan untuk meningkatkan formasi tulang, menstimulasi diferensiasi dan maturasi dari osteoblas. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa alendronat meningkatkan osteogenesis dari osteoblas, ekspresi dari marker osteogenik yaitu BMP2, kolagen tipe I, osteokalsin, osteopontin dan alkali fosfatase.

Tujuan dari penelitian ini yaitu pengembangan *scaffold* BHA-GEL-ALE yang mampu berfungsi sebagai *scaffold* pada defek tulang yang memiliki komposisi mirip dengan tulang manusia dan mampu meningkatkan formasi tulang menyebabkan akselerasi penyembuhan defek tulang.

Pada penelitian ini *scaffold* dibuat dari BHA-GEL yang ditambahkan alendronat dengan kadar sebesar 0,1%, 0,5% dan 1,0% sehingga terbentuk granul. Granul kering direndam dalam glutaraldehid sebagai *crosslink agent* lalu dibentuk pelet silinder dengan ukuran diameter 4mm. Selanjutnya dilakukan karakterisasi fisiko kimia sebagai *scaffold* yang baik meliputi melalui uji ikatan kimia dengan spektroskopi *Fourier Transformed Infrared* (FTIR), uji morfologi permukaan dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM), Uji *compressive strength* untuk mengetahui kekuatan mekanik dari *scaffold*, uji sitotoksitas dengan [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] (MTT), uji porositas, densitas, uji *sweling* serta uji degradasi dari *scaffold*.

Penyembuhan defek tulang pada penggunaan lokal *scaffold* alendronat pada penelitian ini dilakukan implantasi pada hewan coba kelinci. Implantasi dilakukan pada 60 ekor kelinci pada minggu ke 2, 4 dan 8 yang terbagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok BHA-GEL, kelompok ALE 0,1% kelompok ALE 0,5% dan ALE 1,0%. Analisis akselerasi penyembuhan defek tulang melalui evaluasi pertumbuhan kalus dengan pengamatan radiologi x ray, histopatologi dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) untuk osteoblas, osteoklas dan osteosit. Dilakukan juga analisis marker *bone* - alkali fosfatase (BALP), osteokalsin dan *Bone Morphogenetic Protein* (BMP 2).

Berdasarkan hasil karakterisasi fisikokimia meliputi uji perubahan gugus fungsi, uji morfologi permukaan, uji porositas dan densitas, uji *compressive strength*, uji sitotoksitas, uji *swelling* dan degradasi dari *scaffold* BHA-GEL-ALE dengan kadar alendronat 0,1%, 0,5% dan 1,0% menunjukkan bahwa semua *scaffold* yang dibuat dapat berfungsi sebagai *scaffold* yang baik pada defek tulang. Analisis akselerasi penyembuhan defek tulang pada penggunaan *scaffold* dapat meningkatkan jumlah osteoblas, osteosit pada semua kelompok minggu ke 2, 4 dan 8. Matriks tulang baru mengalami peningkatan pada semua kelompok secara tidak bermakna minggu ke 2, 4 dan 8. Jumlah Osteoklas mengalami peningkatan pada kelompok BHA-GEL dan ALE 0,1% minggu ke 2 dan 4. Untuk kadar BALP mengalami peningkatan pada kelompok BHA-GEL dan ALE 0,1% minggu ke 2. Peningkatan kadar osteokalsin terjadi pada semua kelompok minggu ke 8 sedangkan kadar BMP2 mengalami peningkatan pada kelompok BHA-GEL dan ALE 0,1% minggu ke 2 dan 4.

Mekanisme penyembuhan defek tulang dengan penggunaan *scaffold* BHA-GEL-ALE melalui 2 jalur yaitu peningkatan kadar BMP2 diikuti dengan peningkatan jumlah sel osteoblas, peningkatan jumlah sel osteosit yang menyebabkan peningkatan matriks tulang baru. Jalur berikutnya yaitu peningkatan BMP2 diikuti dengan peningkatan jumlah sel osteoblas, peningkatan kadar osteokalsin dan peningkatan jumlah sel osteosit yang menyebabkan peningkatan matriks tulang baru.

Kesimpulan penelitian ini menunjukkan bahwa *scaffold* BHA-GEL-ALE menghasilkan akselerasi penyembuhan defek tulang dengan *scaffold* yang terbaik yaitu ALE 0,1%.

Saran dari penelitian ini, direkomendasikan *scaffold* BHA-GEL-ALE dengan kadar 0,1% merupakan komposit yang terbaik yang nantinya diharapkan dapat diaplikasikan secara klinis pada manusia. Diperlukan penelitian translasional dengan marker dan parameter yang berkorelasi antara hasil pra klinik ini dengan parameter pada tataran klinik terhadap *bone healing*.

SUMMARY

Bovine Hydroxyapatite, Gelatin and Alendronate as Scaffold in The Acceleration of Bone Defect Healing

Samirah

A scaffold is a biomaterial used to accelerate the regeneration and healing of injured bones such as bone defects. The regeneration of bone tissue starts from the recruitment, attachment, and proliferation of the progenitor cells, continued by appropriate cell differentiations, thus being able to recover the injured tissues. The golden standard of bone defect management is an autograft. However, a scaffold is used instead of an autograft due to its limited use. The applied scaffold is composed of bovine hydroxyapatite (BHA) and gelatin (GEL) containing alendronate. A composite of BHA and GEL is an excellent scaffold alternative because it combines the osteoconductivity of BHA and the elasticity of GEL as well as is compatible with the bones' composition. Alendronate serves to increase bone formation, stimulate the differentiation and the maturation of osteoblasts. Recent studies have shown that alendronate increases the osteogenesis of osteoblasts and the expression of osteogenic markers such as BMP2, type-1 collagen, osteocalcin, osteopontin, and alkaline phosphatase.

The aim of this study was to construct the BHA-GEL-ALE bone scaffold having an ability of a scaffold with a composition similar to the one in the human bones. Consequently, the scaffold is expected to cause the acceleration of bone defects.

In the study, the scaffold was made of a composite of BHA-GEL added with alendronate with concentrations of 0.1%, 0.5%, and 1.0% to form granules. The dry granules were immersed in glutaraldehyde as a crosslink agent and then compressed with a diameter of 4mm. The physicochemical characteristics tests of the scaffold were conducted. The chemical bonding was examined with Fourier Transformed Infrared (FTIR) spectroscopy, surface morphology was examined with Scanning Electron Microscope (SEM), hardness was examined with an autograph, and the cytotoxicity was examined with [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] (MTT). We also conducted porosity, density, swelling, degradation tests of the scaffold.

The healing of the bone defects in the local use of alendronate scaffold in the study was by implanting the scaffold in the rabbits serving as the animal models. The implantation was performed in 60 rabbits divided into five groups: the negative control, BHA-GEL, ALE 0.1%, ALE 0.5%, and ALE 1.0%. The analysis of the acceleration of the bone defects was carried out by evaluating the callus growth with X-Ray radiography, the histopathology with Hematoxylin-eosin (HE) staining for osteoblasts, osteoclasts, and osteocytes. Bone marker analysis was also conducted by using alkaline phosphatase (BALP), osteocalcin, and Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2).

Based on the scaffold characterization test, including the test for functional groups, the tests of surface morphology, porosity and density, compressive strength,

cytotoxicity, swelling, and degradation of the BHA-GEL-ALE scaffold with 0.1%, 0.5%, and 1.0% of alendronate; it was shown that all scaffolds that were made served as good scaffolds for the bone defects. The analysis of the acceleration of the bone defects in scaffold use demonstrated that it increased the number of osteoblasts and osteocytes in all groups in weeks 2, 4, and 8. New bone matrix in all group increased insignificantly in weeks 2, 4, and 8. The number of osteoclasts in groups of BHA-GEL and ALE 0.1% increased in weeks 2 and 4. The BALP level in the groups of BHA-GEL and ALE 0.1% increased in week 2. The increase of osteocalcin level occurred in all groups in week 8 while the increase of BMP2 level in the groups of BHA-GEL and ALE 0.1% occurred in weeks 2 and 4.

The mechanism of using BHA-GEL-ALE scaffold in healing the bone defects occurred in 2 pathways. The first pathway was the increase of BMP2 level, followed by the increasing number of osteoblast cells and osteocyte cells triggering the increase of new bone matrix. The second pathway was the increase of BMP2 level, continued by the increase of the number of osteoblast cells, osteocalcin level, and the number of osteocyte cells resulting in new bone matrix increase.

In conclusion, this study showed that the BHA-GEL-ALE scaffold resulted in the acceleration of the healing of bone defects with the best scaffold of ALE 0.1%.

This study suggests that the BHA-GEL-ALE scaffold with a concentration of 0.1% is recommended as it was the best composite. It is expected to be clinically applied to humans. A translational research with markers and parameters correlating the results of this preclinical study with the parameters of the clinical study on bone healing is required.

ABSTRACT

Bovine Hydroxyapatite, Gelatin and Alendronate as Scaffold in The Acceleration of Bone Defect Healing

Samirah

The treatment of bone defects is still a challenging problem in the orthopedics field. Autograph is the gold standard of bone defect treatment. However, the bone that is used as a scaffold in this procedure is limited. Bovine hydroxyapatite (BHA) and gelatin (GEL) composites are osteoconductive biomaterials suitable as bone scaffolds. In addition, alendronate can be added to these composites to increase osteogenesis from osteoblasts and the expression of osteogenic markers.

The scaffold was made of a composite of BHA-GEL added with alendronate with 0,1%, 0,5%, and 1% concentration and were formed as cylindrical pellets. The characteristics of the pellets were tested as physicochemical characteristics. Furthermore, in vivo test was carried out using 60 rabbits to test the healing mechanism of bone defects. The rabbits were divided into five groups: the control group, the BHA-GEL group, the ALE 0,1% group, the ALE 0,5% group, and the ALE 1% group. Each group was sacrificed in the second, fourth, and eighth weeks. The analysis of the acceleration of the bone defects was carried out by evaluating the callus growth with X-Ray radiography, the histopathology with Hematoxylin-eosin (HE) staining for osteoblasts, osteoclasts, and osteocytes. Bone marker analysis was also conducted by using alkaline phosphatase (BALP), osteocalcin, and Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2).

Based on the scaffold characterization test, it was shown that all scaffolds that were made served as good scaffolds for the bone defects. The analysis of the acceleration of the bone defects in scaffold use demonstrated that it increased the number of osteoblasts and osteocytes in all groups in weeks 2, 4, and 8. New bone matrix in all group increased insignificantly in weeks 2, 4, and 8. The number of osteoclasts in groups of BHA-GEL and ALE 0.1% increased in weeks 2 and 4. The BALP level in the groups of BHA-GEL and ALE 0.1% increased in week 2. The increase of osteocalcin level occurred in all groups in week 8 while the increase of BMP2 level in the groups of BHA-GEL and ALE 0.1% occurred in weeks 2 and 4.

The mechanism of using BHA-GEL-ALE scaffold in healing the bone defects occurred in 2 pathways. The first pathway was the increase of BMP2 level, followed by the increasing number of osteoblast cells and osteocyte cells triggering the increase of new bone matrix. The second pathway was the increase of BMP2 level, continued by the increase of the number of osteoblast cells, osteocalcin level, and the number of osteocyte cells resulting in new bone matrix increase. The BHA-GEL-ALE scaffold resulted in the acceleration of the healing of bone defects with the best scaffold of ALE 0.1%.

Keywords: bone defect, bovine hydroxyapatite, gelatin, alendronate, scaffold