

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Ekstraksi Kolagen Kulit Ikan Lele Sangkuriang

Langkah awal dalam proses ekstraksi kolagen dari kulit ikan Lele Sangkuriang adalah menyiapkan kulit ikan Lele Sangkuriang yang diperoleh dari industri petani tambak di desa Kedung Banteng, Tanggulangin, Sidoarjo. Kulit ikan Lele Sangkuriang yang didapatkan dibersihkan dari sisa daging kemudian disimpan di lemari pendingin pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  agar tidak rusak dan kandungan kolagen pada kulit ikan tidak terdenaturasi.

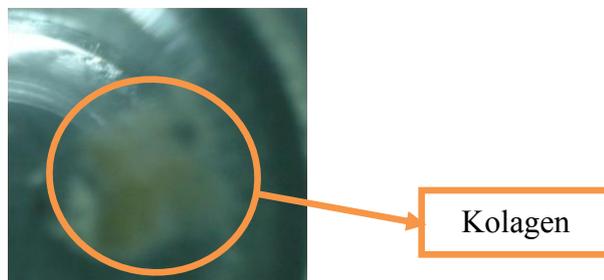
Ekstraksi kolagen dari kulit ikan Lele Sangkuriang dilakukan melalui dua tahapan, yaitu persiapan awal sampel dan ekstraksi kolagen. Pada tahap persiapan awal sampel, meliputi pemotongan, pencucian, *degreasing* kulit ikan dalam NaOH dan liofilisasi. Proses *degreasing* kulit ikan dengan NaOH 0,1 M digunakan untuk menarik protein non-kolagen yang bersifat asam. NaOH termasuk larutan basa sehingga dapat digunakan untuk menetralkan asam. Netralisasi adalah reaksi antara asam dan basa yang menghasilkan air dan garam, sehingga setelah proses *degreasing* dengan NaOH didapatkan kulit ikan yang mengembang. Pengembangan kulit ikan ini, akan memudahkan penarikan kolagen dari kulit ikan pada proses ekstraksi.

Tahap ekstraksi kulit ikan Lele Sangkuriang, meliputi maserasi dalam heksana, pencucian dengan akuades, perendaman kulit ikan dalam asam asetat, filtrasi, sentrifugasi, pengendapan dalam NaCl, dan dialisis. Proses maserasi kulit

ikan dalam heksana dilakukan selama dua hari untuk menghilangkan sisa lemak yang terdapat pada kulit ikan Lele Sangkuriang, kemudian proses ekstraksi kolagen menggunakan asam asetat 0,5 M selama 24 jam. Pengendapan dengan NaCl digunakan untuk mendapatkan endapan kolagen berupa kristal-kristal putih (Peranganing dkk., 2008) yang mengindikasikan bahwa terjadi penggaraman kolagen yang telah berhasil dilakukan. Sehingga untuk memperoleh kolagen murni dilakukan dialisis dalam akuades dengan menggunakan tabung selofan. Tabung selofan merupakan membran semipermeabel yang mampu untuk memisahkan garam pada kolagen menjadi kolagen murni dalam air yang bergerak.

Ekstraksi kolagen kulit ikan Lele Sangkuriang dalam asam asetat 0,5 M selama 24 jam menggunakan 55 gr berat basah kulit ikan, dan menghasilkan kolagen basah seberat 13,85 gr seperti yang ditampilkan pada Gambar 4.1. Jadi, dengan menggunakan Persamaan 3.1, prosentase kandungan kolagen pada kulit ikan Lele Sangkuriang adalah 25,18% dengan perhitungan sebagai berikut.

$$\begin{aligned}\text{Kolagen basah (\%)} &= \frac{13,85}{55} \times 100 \% \\ &= 25,18\%\end{aligned}$$



Gambar 4.1. Kolagen Basah Kulit Ikan Lele Sangkuriang

Menurut Liu *et al.* (2007) kolagen dari kulit ikan Lele menghasilkan kolagen tipe I. Kualitas kolagen kulit ikan memiliki kandungan hidroksiprolin yang lebih sedikit dibandingkan dengan kolagen dari sapi atau babi. Hal ini menjadikan kolagen dari kulit ikan Lele Sangkuriang lebih elastis dan halus dibandingkan kolagen dari hewan ternak (Singh *et al.*, 2010).

#### 4.2 Scaffold Kolagen-Hidroksiapatit

*Scaffold* kolagen-hidroksiapatit dibuat secara *in situ* berdasarkan metode Liu *et al.* (2006) yang telah dimodifikasi. Kolagen kulit ikan Lele Sangkuriang dicampurkan dengan larutan hidroksiapatit dengan variasi kolagen 0%, 5%, 10%, 15%, 20% dan 25% terhadap hidroksiapatit, kemudian diliofilisasi dengan *freeze drying*. Pada penelitian ini, dibuat *scaffold* kolagen-hidroksiapatit dengan variasi persen kolagen 0%, 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%.



Gambar 4.2. *Scaffold* Kolagen-Hidroksiapatit

Sintesis *scaffold* kolagen-hidroksiapatit berbahan dasar kolagen kulit ikan Lele Sangkuriang dilakukan secara *in situ* (Liu *etal.*, 2006). Berdasarkan hasil *scaffold* yang didapatkan, *scaffold* kolagen 5%-hidroksiapatit memiliki bentuk fisik yang sesuai dengan cetakan *scaffold* yang berbentuk silinder berdiameter 0,5 cm dan tinggi 2 cm seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.2, sedangkan untuk *scaffold* lainnya bersifat rapuh. Hal ini disebabkan oleh kecenderungan kolagen

untuk mengikat antar kolagen lebih kuat dibandingkan dengan hidroksiapatit, sehingga semakin banyak kandungan kolagen dalam *scaffold*, maka daya ikat kolagen terhadap hidroksiapatit semakin rendah. Sebaliknya semakin sedikit kandungan kolagen dalam *scaffold* maka daya ikat kolagen terhadap hidroksiapatit semakin tinggi.

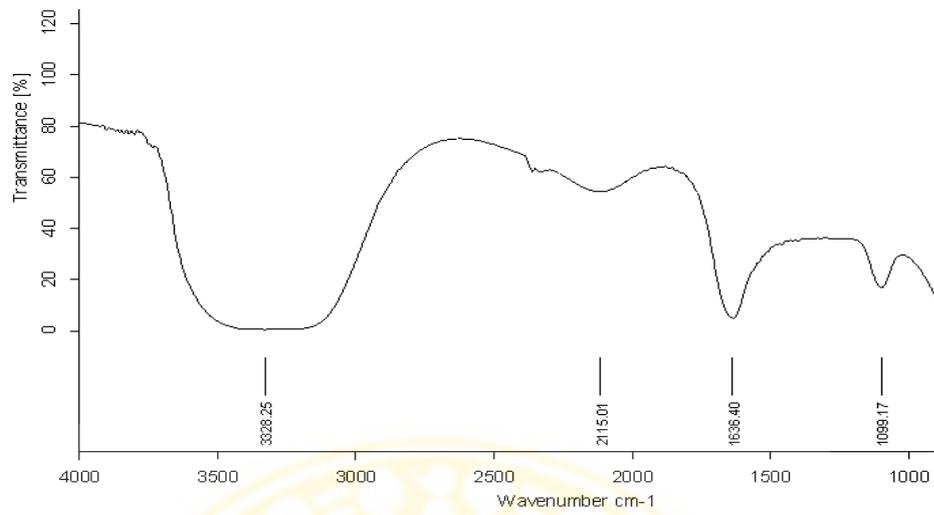
### 4.3 Karakterisi *Scaffold* Kolagen-Hidroksiapatit

#### 4.3.1 FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)

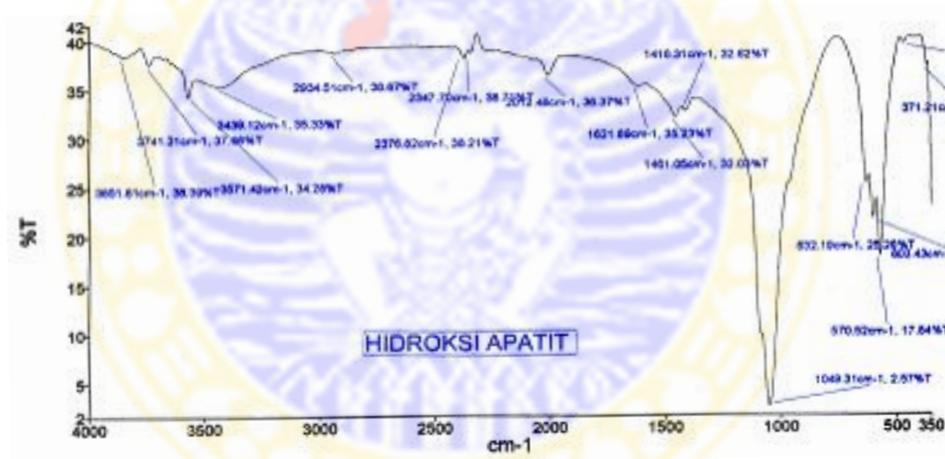
Analisis gugus fungsi untuk kolagen, hidroksiapatit dan *scaffold* kolagen-hidroksiapatit dilakukan dengan menggunakan Tensor 27 FT-IR spektrometer (Bruker Optics Inc.) dan PerkinElmer Frontier Spektroskopi. Hasil dari identifikasi spektrum kolagen, hidroksiapatit dan *scaffold* kolagen-hidroksiapatit ditampilkan pada Tabel 4.1 dan Gambar 4.3, 4.4 dan 4.5.

Tabel 4.1 Spektrum FTIR Kolagen, Hidroksiapatit dan *Scaffold* Kolagen-Hidroksiapatit

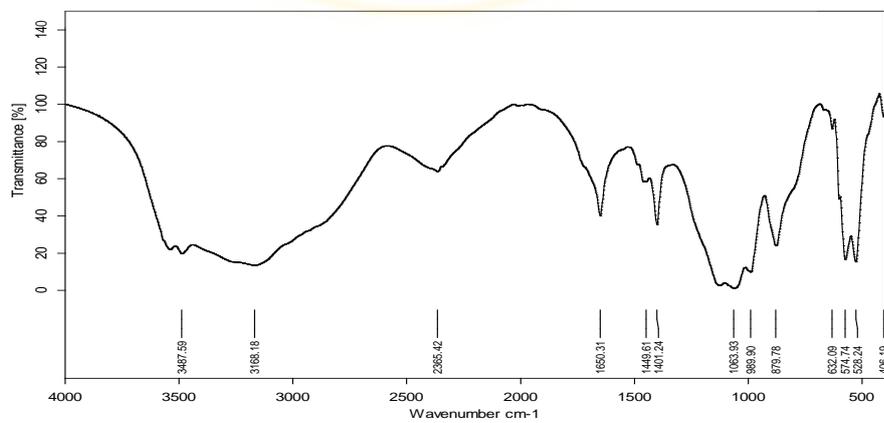
Kolagen (cm <sup>-1</sup> )	Hidroksiapatit (cm <sup>-1</sup> )	<i>Scaffold</i> Kolagen-Hidroksiapatit (cm <sup>-1</sup> )	Deskripsi
-	3571,43	3546,62	-OH
3328,25	-	3267,89	N-H <i>Stretching</i>
1636,4	-	1650,31	C=O <i>stretching</i>
-	-	1508,75	C-N <i>Stretching</i>
-	-	1212,11	C-H <i>stretching</i>
-	1093,89	1067,73	-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
-	1049,31	1063,93	-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
-	632,19	632,09	-OH
-	570,52	574,74	-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>



Gambar 4.3. Spektrum FTIR Kolagen Kulit Ikan Lele Sangkuriang



Gambar 4.4. Spektrum FTIR Hidroksiapatit



D:\SAMPEL\Teknobiomedik Unair\Kolagen-hidroksiapatit 1.0 Kolagen-hidroksiapatit 1 Pellet 10/05/2012

Gambar 4.5. Spektrum FTIR Scaffold Kolagen-Hidroksiapatit

Hasil analisis spektrum FTIR kolagen dari kulit Ikan Lele Sangkuriang pada Gambar 4.3 membuktikan bahwa kolagen terdiri dari gugus amida yang mengabsorpsi N-H *Stretching* pada bilangan gelombang  $3328,25\text{ cm}^{-1}$ , C=O *stretching* pada bilangan gelombang  $1636,40\text{ cm}^{-1}$  (Kong and Yu, 2007). Namun, C-N *Stretching vibration* pada  $1501,96\text{ cm}^{-1}$  (Kong and Yu, 2007), dan C-H *stretching* pada  $1201,25\text{ cm}^{-1}$  (Barth and Zscherp, 2002), tidak terlalu tampak karena puncak yang terbentuk sangat rendah. Selain itu, terjadi pelebaran gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang  $3000\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$  pada spektrum FTIR karena kolagen yang diujikan berupa kolagen basah.

Analisis spektrum FTIR hidroksiapatit dari Gambar 4.4 membuktikan dalam kandungan hidroksiapatit tersusun atas hidrogen (-OH) pada bilangan gelombang  $3571,43\text{ cm}^{-1}$  dan  $632,19\text{ cm}^{-1}$ . Kalsium fosfat ditunjukkan dengan adanya pita absorpsi gugus fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) di daerah  $1049,31\text{ cm}^{-1}$ ,  $1093,89\text{ cm}^{-1}$  dan  $570,52\text{ cm}^{-1}$  (Jie and Yubao, 2004) yang sesuai dengan rumus kimia hidroksiapatit, yaitu  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ .

Analisis spektrum FTIR *scaffold* kolagen-hidroksiapatit dari Gambar 4.5 menjelaskan bahwa *scaffold* kolagen-hidroksiapatit yang terdiri dari dua komponen utama, yaitu kolagen dan hidroksiapatit. Hal ini dibuktikan dengan susunan utama *scaffold* yang berupa spektrum FTIR kolagen dan hidroksiapatit dengan sedikit pergeseran absorbansi bilangan gelombang. Pada kolagen kulit ikan Lele terjadi pergeseran ikatan amida yang mengabsorpsi N-H *stretching* dari  $3328,25$  menjadi  $3267,89\text{ cm}^{-1}$ . Pada spektrum kolagen juga terjadi pergeseran ikatan Amida yang mengabsorpsi C=O *stretching* dari  $1636,40\text{ cm}^{-1}$  bergeser ke

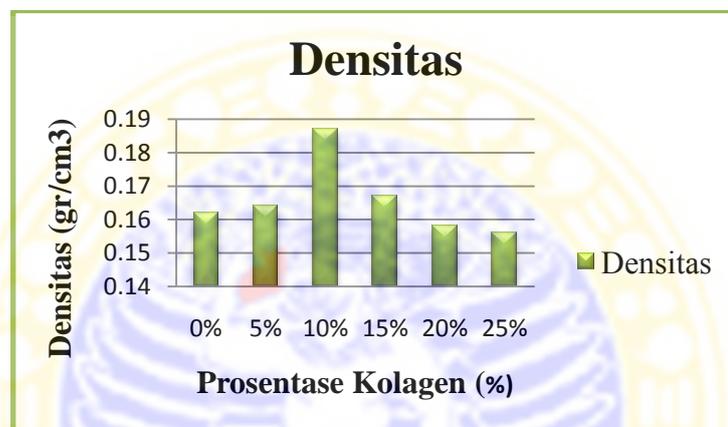
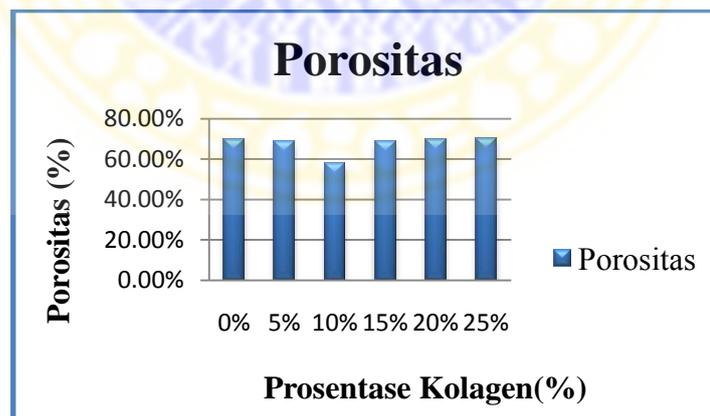
kiri menjadi  $1650,1 \text{ cm}^{-1}$ . Amida yang mengabsorpsi N-H *bending vibration* yang berikatan dengan C-N *Stretching vibration* tampak jelas pada  $1508,75 \text{ cm}^{-1}$ . Pada C-H *stretching* tampak jelas pada bilangan gelombang  $1212,11 \text{ cm}^{-1}$ . Pada hasil FTIR hidroksiapatit menghasilkan pergeseran pita absorpsi gugus hidrogen (-OH) dari bilangan gelombang  $3571,43 \text{ cm}^{-1}$  dan  $632,19 \text{ cm}^{-1}$  ke  $3546,62 \text{ cm}^{-1}$  dan  $632,09 \text{ cm}^{-1}$ , dan gugus fosfat dari daerah  $1093,89 \text{ cm}^{-1}$  ·  $1049,31 \text{ cm}^{-1}$  dan  $570 \text{ cm}^{-1}$  menjadi  $1067,73 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1063,93 \text{ cm}^{-1}$  (Ramli dkk., 2011), dan  $574,74 \text{ cm}^{-1}$  (Jie and Yubao, 2004).

#### 4.3.2 Densitas dan Porositas

Densitas dan porositas merupakan sifat fisis yang penting untuk diketahui pada *scaffold* kolagen-hidroksiapatit untuk aplikasi tulang. Hal ini disebabkan tulang memiliki kerapatan dan ukuran pori-pori tertentu yang menyebabkan proses metabolisme dalam sel tulang berjalan dengan baik, sehingga *scaffold* yang dihasilkan sebaiknya memiliki densitas dan porositas sesuai dengan standar tulang. Densitas suatu benda didefinisikan sebagai massa per satuan volume seperti pada Persamaan 2.2, sehingga untuk mendapatkan nilai densitas dilakukan pengukuran berat kering benda ( $W_k$ ) dan volume benda ( $V$ ). Volume benda kemudian dihitung dengan menggunakan Persamaan 2.1. Uji porositas dilakukan dengan mengukur selisih antara berat basah ( $W_b$ ) dan berat kering ( $W_k$ ) per volume *scaffold* ( $V$ ) yang sesuai dengan Persamaan 2.3. Hasil uji densitas dan porositas *scaffold* kolagen-hidroksiapatit yang telah dilakukan ditampilkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil Uji Densitas dan Porositas

No.	Prosentase Kolagen	Densitas (gr/cm <sup>3</sup> )	Porositas (%)
1.	0 %	0,1621	69,93
2.	5%	0,1640	68,89
3.	10%	0,1867	57,88
4.	15%	0,1675	68,82
5.	20%	0,1583	69,97
6.	25%	0,1565	70,38

Gambar 4.6. Diagram Batang Pengaruh Prosentase Kolagen pada Densitas *Scaffold* Kolagen-HidroksiapatitGambar 4.7. Diagram Batang Pengaruh Prosentase Kolagen pada Porositas *Scaffold* Kolagen-Hidroksiapatit

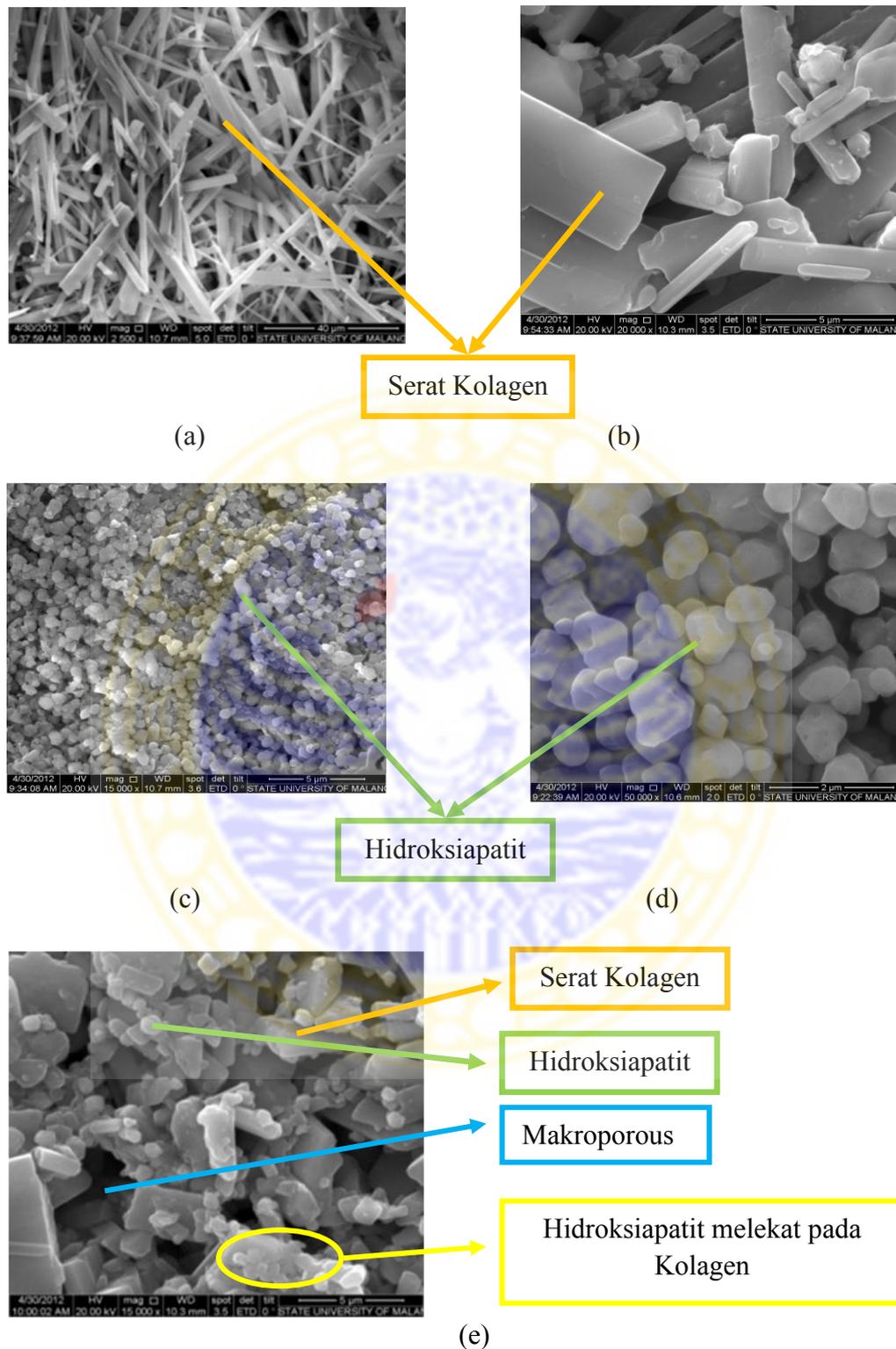
Gambar 4.6 merupakan diagram batang pengaruh prosentase kolagen pada densitas *scaffold* kolagen-hidroksiapatit yang menunjukkan bahwa nilai densitas maksimum dimiliki oleh *scaffold* kolagen 10%-hidroksiapatit, kemudian diikuti oleh *scaffold* kolagen 5%-hidroksiapatit, *scaffold* kolagen 0%-hidroksiapatit, *scaffold* kolagen 15%-hidroksiapatit, *scaffold* kolagen 20%-hidroksiapatit dan nilai densitas terendah dimiliki oleh *scaffold* kolagen 25%-hidroksiapatit. Gambar 4.7 merupakan diagram batang pengaruh prosentase kolagen pada porositas *scaffold* kolagen-hidroksiapatit yang menunjukkan bahwa porositas tertinggi dimiliki oleh *scaffold* kolagen 25%-hidroksiapatit, kemudian diikuti oleh *scaffold* kolagen 20%-hidroksiapatit, *scaffold* kolagen 0%-hidroksiapatit, *scaffold* kolagen 5%-hidroksiapatit, *scaffold* kolagen 15%-hidroksiapatit dan nilai porositas terendah dimiliki oleh *scaffold* kolagen 10%-hidroksiapatit. Data ini menunjukkan bahwa nilai densitas berbanding terbalik dengan nilai porositas. Jadi, semakin tinggi nilai densitas suatu sampel maka porositas sampel tersebut akan semakin rendah, dan sebaliknya semakin tinggi nilai porositas maka semakin rendah nilai densitasnya.

Densitas dan porositas sangat dipengaruhi oleh prosentase kandungan kolagen dalam *scaffold*. Kolagen berperan penting dalam mengikat hidroksiapatit, namun jika kandungan kolagen terlalu tinggi dalam *scaffold* maka kolagen akan cenderung mengikat kolagen sendiri sehingga ikatan kolagen dengan hidroksiapatit menjadi rendah. Hal ini memicu terjadinya kerapatan *scaffold* rendah akibat ukuran dan jumlah pori-pori meningkat seperti yang ditunjukkan dengan *scaffold* kolagen 25%-hidroksiapatit. Komposisi kolagen dan hidroksiapatit

yang tepat akan menghasilkan kerapatan *scaffold* yang tinggi, namun ukuran dan jumlah pori-pori menurun seperti pada *scaffold* kolagen 10%-hidroksiapatit. Hal ini membuktikan bahwa prosentase kolagen berpengaruh terhadap nilai densitas dan porositas *scaffold*.

#### **4.3.3 SEM (*Scanning Electron Microscope*)**

Struktur penampang melintang dari *scaffold* kolagen-hidroksiapatit dilihat dengan menggunakan SEM (Inspect S50. FEI Corp., Jepang). Pada pengujian SEM, digunakan *scaffold* kolagen 5%-hidroksiapatit sebagai sampel uji karena dapat dibentuk sesuai dengan ukuran yang dibutuhkan untuk uji SEM. Pada perlakuan awal sampel, *scaffold* kolagen 5%-hidroksiapatit yang berdiameter 0,5 cm dan tinggi 1 mm diletakkan di sampel *holder*, kemudian dilapisi dengan emas paladium dan kemudian di uji-kan dengan alat SEM dan hasilnya akan tampak pada layar komputer dengan perbesaran tertentu seperti pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8. Hasil SEM (a) Serat-serat Kolagen, (b) Hidroksiapatit, dan (c) *Scaffold* Kolagen-Hidroksiapatit.

Tabel 4.3. Ukuran Makroporous *Scaffold* Kolagen-Hidroksiapatit

No.	Ukuran Pori <i>Scaffold</i> kolagen-Hidroksiapatit ( $\mu\text{m}$ )
1.	3,636
2.	3,545
3.	6,363
4.	2,727
5.	1,182
6.	1,818
7.	3,000
8.	6,636
9.	1,727
10.	3,000
11.	1,636
12.	6,545
13.	3,000
14.	1,617
Rata-rata	3,316

Gambar 4.8. (a) menunjukkan struktur penampang melintang serat-serat kolagen pada perbesaran 2.500 kali. Gambar 4.8. (b) menunjukkan perbesaran struktur penampang melintang serat-serat kolagen pada perbesaran 20.000 kali. Gambar 4.8.(c) menunjukkan struktur penampang melintang hidroksiapatit pada perbesaran 20.000 kali yang berupa butiran-butiran kristal sesuai dengan hasil SEM hidroksiapatit pada penelitian Widiyastuti dkk., 2009. 4.8.(d) menunjukkan perbesaran struktur penampang melintang hidroksiapatit pada perbesaran 50.000 kali. Dan Gambar 4.8.(e) *scaffold* kolagen-hidroksiapatit dengan perbesaran 15.000 kali.

Berdasarkan hasil SEM pada Gambar 4.8. (e) dan Tabel 4.3 menunjukkan bahwa *scaffold* kolagen-hidroksiapatit yang dihasilkan memiliki makroporous  $\pm 3,316 \mu\text{m}$  dan memiliki permukaan yang bergranul akibat hidroksiapatit yang

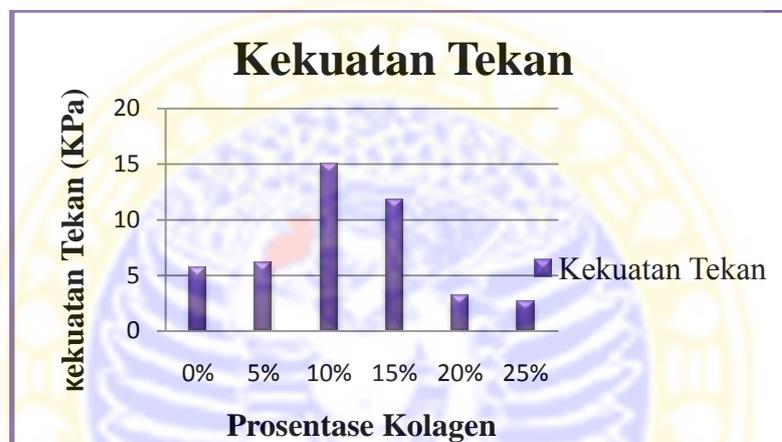
menempel pada serat-serat kolagen sehingga memudahkan sel osteoblast menempel pada *scaffold*. Namun, ukuran makroporous *scaffold* yang dihasilkan jauh dari standar *scaffold* yang telah ada, yaitu 50-400  $\mu\text{m}$  (Laurencin *and* Nair, 2008). Hal ini diduga karena tidak adanya *Solid Freeform Fabrication* seperti pada Gambar 2.10 sehingga *scaffold* yang dihasilkan tidak memiliki desain makroporous dan mikroporous seperti tulang asli. Oleh karena itu, untuk mengetahui peranan *scaffold* kolagen-hidroksiapatit berbasis kolagen kulit ikan Lele Sangkuriang secara optimal maka diperlukan uji *in vivo* pada hewan coba untuk mengetahui migrasi, proliferasi, adhesi, dan diferensiasi untuk perbaikan jaringan tulang yang rusak.

#### 4.3.4 Kekuatan Tekan

Kekuatan tekan dalam penelitian ini, memiliki makna yang sama dengan *crushing strength*, yaitu kemampuan suatu benda dalam menahan beban hingga patah atau retak (Ikebudu, 2012). Pada *scaffold* kolagen-hidroksiapatit, nilai kekuatan tekan diperoleh dengan menggunakan Erweka TBH 220. Preparasi dilakukan dengan mencetak *scaffold* menjadi tablet berdiameter 8 mm dan tinggi 1 mm, kemudian sampel diletakkan pada penampang sampel dan diberikan gaya tekan dengan kecepatan konstan hingga sampel menjadi retak.

Tabel 4.4. Uji Kekuatan Tekan

No.	Kolagen (%)	$\sigma$ (KPa)
1	0	5,690
2	5	6,097
3	10	14,950
4	15	11,760
5	20	3,190
6	25	2,670



Gambar 4.9 Diagram Batang Pengaruh Prosentase Kolagen pada Nilai Kekuatan Tekan *Scaffold* Kolagen-Hidroksiapatit

Hasil uji kekuatan tekan ditunjukkan pada Tabel 4.4. dan Gambar 4.9 menunjukkan diagram batang pengaruh kolagen pada nilai kekuatan tekan dengan tertinggi dimiliki oleh *scaffold* kolagen 10%-hidroksiapatit dengan 14,95 KPa dan nilai terendah dimiliki oleh *scaffold* kolagen 25%-hidroksiapatit dengan hasil 2,67 KPa.

Nilai kekuatan tekan dipengaruhi oleh densitas *scaffold*, densitas menunjukkan kerapatan antar partikel penyusun *scaffold* yaitu kolagen dan hidroksiapatit. Semakin rapat ikatan antara kolagen dan hidroksiapatit dalam *scaffold*, maka nilai kekuatan tekan akan semakin meningkat. Kerapatan antar

partikel menunjukkan tingkat kekuatan ikatan antar partikel penyusun *scaffold*, sehingga jika *scaffold* diberi gaya dari luar cenderung memiliki daya tahan yang kuat terhadap beban yang diberikan. Selain densitas, nilai kekuatan tekan dipengaruhi juga oleh ukuran dan jumlah pori-pori penyusun *scaffold*. Semakin tinggi porositas *scaffold*, maka nilai kekuatan akan semakin rendah, dan sebaliknya. Hal ini disebabkan *scaffold* cenderung lebih rapuh jika memiliki porositas yang tinggi karena memiliki kerangka penyangga yang tipis akibat ukuran dan jumlah pori-pori yang besar, sehingga *scaffold* cenderung lemah dalam menahan beban yang diberikan. Jadi, semakin tinggi nilai kekuatan tekan maka densitasnya akan semakin tinggi dan porositasnya semakin rendah, sebaliknya semakin rendah nilai kekuatan tekan maka semakin rendah pula nilai densitasnya dan semakin tinggi nilai porositasnya.

#### 4.3.5 Uji MTT

Pada uji MTT digunakan sel fibroblas BHK-21 (*Baby Hamster Kidney*). Sampel yang digunakan adalah *scaffold* kolagen 5%-hidroksiapatit. Kontrol media dibuat dari campuran media *eagle*. Kontrol sel disusun dari sel fibroblas BHK-21 dan *eagle*. Sebelum diujikan, *scaffold* kolagen-hidroksiapatit disterilisasi dengan menggunakan sinar UV, kemudian dilarutkan dalam 0,5 cc *eagle* dan serum untuk pertumbuhan selnya. Larutan sampel kemudian dialirkan pada permukaan sel fibroblas BHK-21 dan diinkubasi selama sehari pada suhu 37°C untuk mengetahui perkembangan sel-nya. Masing-masing sampel diulang dengan delapan kali dan diisi larutan sampel 50µm per *well*-nya, dan ditambahkan

pereaksi MTT sehingga warnanya berubah menjadi ungu kebiruan. Selanjutnya, dibaca absorbansinya dengan menggunakan *Elisa reader*. Hasil dari pengujian MTT dapat dilihat pada Tabel 4.5 dibawah ini.

Tabel 4.5. Hasil Uji MTT

No.	Kontrol Sel	Kontrol Media	Hidroksiapatit	<i>Scaffold</i> Kolagen-Hidroksiapatit
1.	0,0900	0,0870	0,0930	0,0810
2.	0,0810	0,0830	0,0850	0,0700
3.	0,1070	0,1090	0,1080	0,1010
4.	0,1060	0,1120	0,1110	0,0970
5.	0,0680	0,0700	0,0680	0,0540
6.	0,1060	0,1080	0,1090	0,0920
7.	0,0820	0,0860	0,0850	0,0700
8.	0,0870	0,0880	0,1200	0,0780
Rata-rata	0,090875	0,092875	0,097375	0,080375

Perhitungan tingkat toksisitas *scaffold* kolagen-hidroksiapatit ini dapat dilakukan melalui perhitungan prosentase sel hidup dengan Persamaan 2.5. Jika sel hidup BHK-21  $\leq 60\%$  maka sampel bersifat toksik, sedangkan jika sel hidup BHK-21  $> 60\%$  maka sampel bersifat non toksik (Wijayanti, 2010). Berdasarkan hasil perhitungan prosentase sel BHK-21 yang hidup pada hidroksiapatit adalah sebagai berikut.

$$\text{Sel Hidup (\%)} = \frac{0,097375 + 0,092875}{0,0900875 + 0,092875} \times 100\% = 103,5374\%$$

Hasil prosentase sel BHK-21 yang hidup pada *scaffold* kolagen-hidroksiapatit adalah sebagai berikut.

$$\text{Sel Hidup (\%)} = \frac{0,080375 + 0,092875}{0,090875 + 0,092875} \times 100\% = 94,2857\%$$

Berdasarkan hasil uji MTT dapat diketahui bahwa hidroksiapatit dan *scaffold* kolagen-hidroksiapatit dengan sel hidup 103,5374% dan 94,285% tidak bersifat toksik karena prosentase sel hidup  $> 60\%$ . Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian Rubianto yang menyatakan suatu sampel tidak bersifat toksik jika prosentase sel hidup mencapai 92,3%-100% (Meizarni, 2005).

#### 4.4 Pembahasan

Ekstraksi kolagen dari kulit ikan Lele Sangkuriang dalam asam asetat menghasilkan 25,18%. Hasil ekstraksi kolagen ini berupa serat-serat kecil dan halus. Prosentase kolagen kulit ikan Lele Sangkuriang telah mendekati prosentase kolagen basah (*Acid Soluble Collagen*) dari *channel catfish* (*Ictalurus punctatus*) yaitu 25,8%. *Channel catfish* merupakan ikan Lele yang berasal dari perairan Amerika Utara (Liu *et al.*, 2007). Kolagen yang terbentuk merupakan kolagen tipe I yang banyak terdapat pada kulit, tendon, tulang dan tulang rawan (Liu *et al.*, 2007). Hasil ekstraksi kolagen ini digunakan untuk membuat *scaffold* kolagen-hidroksiapatit.

Sintesis *scaffold* kolagen-hidroksiapatit dilakukan secara *in situ* dengan melakukan variasi persen kolagen terhadap hidroksiapatit, yaitu 0%, 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%. Namun, hasil terbaik secara fisik dimiliki oleh *scaffold* kolagen 5%-hidroksiapatit.

Hasil analisis spektrum FTIR kolagen kulit ikan Lele Sangkuriang dari Gambar 4.6 menunjukkan bahwa kolagen tersusun atas gugus amida, yaitu N-H *stretching*, C=O *stretching*. Namun, C-N *stretching* dan C-H *stretching* tidak

tampak pada spektrum kolagen kulit ikan Lele Sangkuriang. Hasil FTIR hidroksiapatit menunjukkan bahwa hidroksiapatit tersusun atas gugus fungsi kimia  $-OH$  dan  $-PO_4^{3-}$ . Hasil analisis spektrum FTIR *scaffold* kolagen-hidroksiapatit menunjukkan *scaffold* tersusun atas spektrum FTIR kolagen yang dibuktikan dengan adanya *N-H stretching*, *C=O stretching*, *C-N stretching* dan *C-H stretching* dan hidroksiapatit dengan adanya  $-OH$  dan  $-PO_4^{3-}$ .

Hasil analisis nilai densitas dan porositas *scaffold* kolagen-hidroksiapatit menunjukkan bahwa prosentase kolagen berpengaruh terhadap nilai densitas dan porositas *scaffold*. Nilai maksimum densitas dimiliki *scaffold* kolagen 10%-hidroksiapatit, yaitu  $0,187 \text{ gr/cm}^3$  dengan porositas terendah yaitu 55,53%, dan porositas tertinggi dimiliki oleh *scaffold* kolagen 25%-hidroksiapatit, yaitu 70,38% dengan densitas terendah  $0,156 \text{ gr/cm}^3$ . Hal ini membuktikan bahwa nilai densitas berbanding terbalik dengan nilai porositas. Nilai densitas dan porositas *scaffold* kolagen-hidroksiapatit secara keseluruhan telah sesuai dengan standar tulang *cancellous*, yaitu densitas  $0,1-1 \text{ gr/cm}^3$  (Ficai *et al.*, 2011) dan porositas 50-90% (Liu and Webster, 2007). Sehingga *scaffold* kolagen-hidroksiapatit berbasis kolagen kulit ikan Lele Sangkuriang dapat diaplikasikan sebagai *bone tissue engineering* untuk proses penyembuhan jaringan tulang yang rusak.

Hasil uji SEM menampilkan hidroksiapatit melekat pada serat-serat kolagen dan makroporous yang terbentuk pada *scaffold* kolagen-hidroksiapatit. Ukuran makroporous yang dihasilkan  $\pm 3,316 \mu\text{m}$ . Nilai ini menguatkan hasil uji porositas *scaffold* yang menyatakan ukuran dan banyaknya pori-pori yang menyusun *scaffold* berbanding lurus dengan nilai porositas *scaffold*. Pada hasil

SEM pada Gambar 4.8 menunjukkan bahwa hidroksiapatit melekat pada serat-serat kolagen.

Nilai kekuatan tekan berhubungan erat dengan densitas dan porositas, karena nilai kekuatan tekan berbanding lurus dengan densitas, dan berbanding terbalik dengan nilai porositas. Hal ini telah sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa nilai kekuatan tekan tertinggi dimiliki oleh *scaffold* kolagen 10%-hidroksiapatit, yaitu 14,95%. Meskipun nilai *scaffold* kolagen-hidroksiapatit yang dihasilkan tidak sesuai dengan referensi tulang *cancellous*, yaitu 2-12 MPa (Ficai *et al.*, 2011), namun fungsi kekuatan tekan pada *scaffold* untuk aplikasi *bone tissue engineering* sebagai penahan *bone crash* dapat digantikan oleh penyanggah (*bandage*) tulang.

Salah satu syarat sifat biokompatibilitas pada suatu material adalah non toksik. Uji sitotoksitas *scaffold* kolagen-hidroksiapatit dengan uji MTT yang dilakukan secara *in vitro* dengan sel fibroblas BHK-21 (*Baby Hamster Kidney*). Berdasarkan hasil uji MTT tersebut dapat diketahui bahwa *scaffold* kolagen-hidroksiapatit tidak bersifat toksik karena sel fibroblas BHK-21 yang hidup adalah 94,2857%, dan hidroksiapatit 103,5374 %. Kedua nilai ini sudah memenuhi syarat suatu sampel tidak toksik yaitu sel fibroblas BHK-21 yang hidup diantara 92,3 % - 100% (Rubianto dalam Meizarni, 2005) dan telah melebihi standar tidak bersifat toksik karena persen sel hidup mencapai > 60% (Wijayanti, 2010). Oleh karena hasil uji telah membuktikan *scaffold* kolagen-hidroksiapatit tidak bersifat toksik, maka *scaffold* kolagen-hidroksiapatit berbahan dasar kolagen kulit ikan

Lele Sangkuriang dapat digunakan sebagai kandidat implan *bone tissue engineering*.

