

**ANALISIS LAJU DEGRADASI
*INJECTABLE BONE SUBSTITUTE (IBS) DENGAN
VARIASI PENAMBAHAN ALENDRONATE***

SKRIPSI



NOVITASARI

**PROGRAM STUDI S-1 FISIKA
DEPARTEMEN FISIKA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2016

**ANALISIS LAJU DEGRADASI
INJECTABLE BONESUBSTITUTE (IBS) DENGAN
VARIASI PENAMBAHAN ALENDRONATE**

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains
Bidang Fisika pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga**

Oleh :

**NOVITASARI
081211332023**

Tanggal Lulus : 15 Agustus 2016

Disetujui Oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II



**Dyah Hikmawati, S.Si, M.Si
NIP. 196911281994032001**



**Drs. Siswanto, M.Si
NIP. 196403051989031003**

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Analisis Laju Degradasi *Injectable Bone Substitute* (IBS)
dengan Variasi Penambahan *Alendronate*
Penyusun : Novitasari
NIM : 081211332023
Pembimbing I : Dyah Hikmawati, S.Si, M.Si
Pembimbing II : Drs. Siswanto, M.Si
Tanggal Seminar : 15 Agustus 2016

Disetujui oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II



Dyah Hikmawati, S.Si, M.Si

NIP. 196911281994032001

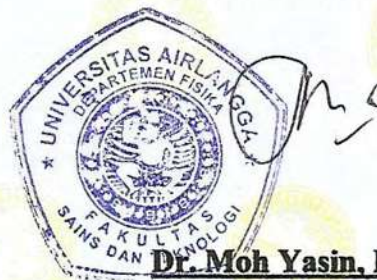


Drs. Siswanto, M.Si

NIP. 196403051989031003

Mengetahui,

**Ketua Program Studi S1 Fisika
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga**



Dr. Moh Yasin, M.Si

NIP. 196703121991021001

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah.

Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.

SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Novitasari
NIM : 081211332023
Program Studi : Fisika
Fakultas : Sains dan Teknologi
Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul :

ANALISIS LAJU DEGRADASI *INJECTABLE BONE SUBSTITUTE* (IBS) DENGAN VARIASI PENAMBAHAN *ALENDRONATE*

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah diterapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 18 Agustus 2016



Novitasari

NIM. 081211332023

Novitasari 081211332023, 2016. **Analisis Laju Degradasi *Injectable Bone Substitute* (IBS) dengan Variasi Penambahan *Alendronate***. Skripsi ini di bawah bimbingan Dyah Hikmawati, S.Si., M.Si. dan Drs. Siswanto, M.Si., Departemen Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

ABSTRAK

Menurut data "*Indonesian White Paper*", osteoporosis pada tahun 2007 mencapai 28,8% untuk pria dan 32,3% wanita. Penanganan osteoporosis dengan mengisi defek tulang menggunakan IBS. Telah dilakukan sintesis dan karakterisasi *Injectable Bone Substitute* (IBS) dengan variasi penambahan *alendronate*. Variasi dilakukan untuk mengetahui laju degradasi dari sampel IBS. Sintesis IBS dibuat dengan mengaduk hidroksiapatit dan gelatin 5% (w/v) dengan perbandingan 45:55. Selanjutnya, *alendronate* ditambahkan pada larutan dengan variasi komposisi yaitu 0%, 5%, 10%, 15% dan 20% massa hidroksiapatit tiap sampel dan diaduk juga hingga homogen. Campuran hidroksiapatit, gelatin dan *alendronate* dicampurkan dengan HPMC 2% (w/v). Karakterisasi secara *in vitro* meliputi uji keasaman (pH), uji *setting time*, uji FTIR, uji SEM, uji XRD dan uji degradasi dengan larutan SBF. Komposisi penambahan *alendronate* terbaik pada suspensi IBS adalah 10% *alendronate*. Hasil ini didapatkan berdasarkan uji degradasi selama 14 hari. Hasil uji FTIR menunjukkan terbentuknya ikatan hidroksiapatit dengan gelatin (Ca^{2+} -- COO^-) pada daerah serapan $1560,54 \text{ cm}^{-1}$ dan gugus fungsi P-O-C milik *alendronate* pada bilangan gelombang $1049,45 \text{ cm}^{-1}$. Hasil uji keasaman (pH) menunjukkan sampel memiliki nilai pH 7 dan mampu mempertahankan kestabilannya ketika diukur dalam 1 bulan. Suspensi IBS mengalami *setting* dalam waktu 3 jam 38 menit ketika diinjeksikan pada substrat HA dan mampu menyelimuti permukaannya dilihat dari hasil SEM. Ukuran pori mengecil dari kisaran $153 - 625,8 \mu\text{m}$ menjadi $247,4 - 480,8 \mu\text{m}$. Hasil Uji XRD menunjukkan derajat kristalinitas 82,56% turun menjadi 81,51%. Setelah uji degradasi hari ke-5 dan hari ke-14 ukuran pori dan derajat kristalinitasnya berubah. Ukuran pori membesar dari kisaran $112,1 - 510,9 \mu\text{m}$ menjadi $115,7 - 542,5 \mu\text{m}$ dan derajat kristalinitasnya dari 82,13% naik menjadi 82,57%.

Kata Kunci : *Injectable Bone Substitute*, Hidroksiapatit, Gelatin, *alendronate*, Laju Degradasi

Novitasari 081211332023, 2016. **Degradation Rate Analysis *Injectable Bone Substitute (IBS) With Variations Alendronate***. This thesis is under guidance of Dyah Hikmawati, S.Si., M.Si. and Drs. Siswanto, M.Si., Physics Department, Faculty of Science and Technology, Airlangga University

ABSTRAK

According to the data "*Indonesian White Paper*", osteoporosis in 2007 reached 28.8% for men and 32.3% of women. Treatment of osteoporosis with a bone defect filled with IBS. It has been synthesized and characterized of *Injectable Bone Substitute (IBS)* with the addition of *alendronate* variations. Variations to determine the rate degradation of samples IBS. The suspension is synthesized by stirring hydroxyapatite and gelatin 5% (w/v) with a ratio of 45:55. *Alendronate* was added to the solution with composition is 0% , 5%, 10%, 15% and 20% by mass of hydroxyapatite. The mixture was then with HPMC 2% (w/v). Characterization performance include tests of acidity (pH), *setting time*, FTIR, SEM, XRD and degradation test with SBF solution. The addition of *alendronate* best composition on the suspension IBS is 10% *alendronate*. These results were obtained by degradation test for 14 days. FTIR test results indicate the formation of hydroxyapatite bonding with gelatin (Ca^{2+} -- COO^-) in the catchment area $1560,54 \text{ cm}^{-1}$ and the function group P-O-C belong to *alendronate* at wave number $1049,45 \text{ cm}^{-1}$. The test results of acidity (pH) indicates sample has a pH value of 7 and is able to remain stable when measured in 1 month. Suspension *settings* IBS experience in 3 hours and 38 minutes when injected at HA substrate and capable of enveloping surface seen from the SEM. HA substrate pore size is smaller from range of 153 to 625,8 μm into 247,4 to 480.8 μm . XRD test results indicate degree of crystallinity of 82,56% down to 81,51%. After the degradation test day 5 and day 14 pore size and the degree of crystallinity changed. Pore size is increase from range of 112,1 to 510,9 μm into 115,7 to 542,5 μm and degree of crystallinity of 82,13% rising to 82,57%.

Kata Kunci : *Injectable Bone Substitute*, Hydroxyapatite, Gelatin, *alendronate*, Degradation rate.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan naskah skripsi penelitian ini yang berjudul **“Analisis Laju Degradasi *Injectable Bone Substitute (IBS)* dengan Variasi Penambahan *Alendronate*”** dengan baik dan lancar. Penulisan naskah skripsi disusun dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.) di Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

Penyusunan naskah skripsi ini tidak terlepas dari bantuan beberapa pihak, untuk itu penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan kesempatan bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi tepat waktu.
2. Nabi Muhammad SAW yang telah menjadi tauladan bagi kita semua.
3. Kedua orang tua Ayah Mohammad Teguh dan Ibu Siti Mai Saroh.
4. Bapak Moh. Yasin, M.Si. sebagai Ketua Departemen Fisika.
5. Bapak Imam Sapuan, S.Si., M.Si. dan ibu Dr. Riries Rulaningtyas, S.T., M.T. selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan motivasi selama menempuh kuliah S1 fisika
6. Ibu Dyah Hikmawati, S.Si., M.Si. sebagai dosen pembimbing I dan bapak Drs. Siswanto, M.Si. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan banyak ide inovatif, motivasi, saran dan bimbingannya
7. Bapak Drs. Djony Izak R., M.Si. selaku dosen penguji I dan bapak Supadi, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji II yang telah memberikan kritik dan saran.

8. Para dosen S1 Fisika yang telah memberikan ilmu dan bimbingannya selama proses belajar di S1 Fisika.
9. Bapak dan Ibu yang telah membantu dalam sintesis dan karakterisasi antara lain, bu Aniek (bahan alendronate), pak Kusairi (uji FTIR), pak Lesmono (Freezed-Dry), pak Heri (uji XRD) dan bu Zulaica (uji SEM).
10. Illiyin, Dewi, Dila dan Ratna sebagai patner skripsi yang selalu setia membantu, menemani dan mendukung segala kegiatan dalam penelitian serta pembuatan naskah skripsi ini.
11. Retno, Mita, Pooja, Amel, Mila dan Muthia yang mewarnai kehidupan selama 4 tahun di kampus.
12. Teman-teman S1 Fisika angkatan 2012 yang senantiasa memberi semangat, dukungan dan bantuannya selama penyusunan skripsi ini.
13. Teman-teman yang lain yang tidak bisa penulis tulis satu persatu.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Oleh karena itu, saran dan kritik dari pembaca sangat diharapkan untuk perbaikan penulisan selanjutnya. Semoga hasil penelitian pada skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan orang lain.

Surabaya, 18 Agustus 2016

Penulis,

Novitasari

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Batasan masalah	5
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tulang	7
2.2 Osteoporosis.....	8
2.3 <i>Remodeling</i> Tulang	10
2.4 <i>Injectable Bone Substitute (IBS)</i>	10
2.4.1 Hidroksiapatit.....	11
2.4.2 Gelatin	13
2.4.3 <i>Hydroxypropyl Methyl Cellulose (HPMC)</i>	14
2.4.4 <i>Alendronate</i>	15
2.5 Degradasi Tulang	16
2.6 <i>Fourier Transform Infra Red (FTIR)</i>	18
2.7 <i>Setting Time IBS</i>	22

2.8	<i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM)	23
2.9	<i>X-Ray Diffraction</i> (XRD)	24
2.10	Degradasi dengan <i>Simulated Body Fluid</i> (SBF)	27
BAB III METODE PENELITIAN		30
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.2	Alat dan Bahan Penelitian	30
3.3.1	Alat Penelitian	30
3.3.2	Bahan Penelitian	31
3.3	Diagram Alir Penelitian	32
3.4	Prosedur Penelitian	33
3.4.1	Pembuatan Sampel	33
3.4.2	Uji Keasaman	34
3.4.3	Uji <i>Setting Time</i>	35
3.4.4	Uji <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM)	36
3.4.5	Uji <i>X-Ray Diffraction</i> (XRD)	37
3.4.6	Uji <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR)	37
3.4.7	Uji Laju Degradasi dengan <i>Simulated Body Fluid</i> (SBF)	39
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		40
4.1	Hasil Sintesis Injectable Bone Substitute (IBS)	40
4.2	Hasil Karakterisasi Kinerja IBS	41
4.2.1	Uji <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR)	41
4.2.2	Uji Keasaman (pH)	45
4.2.3	Uji <i>Setting Time</i>	46
4.2.4	Uji <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM)	52
4.2.5	Uji <i>X-Ray Diffraction</i> (XRD)	54
4.3	Uji Laju Degradasi dengan <i>Simulated Body Fluid</i> (SBF)	57
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		72
5.1	Kesimpulan	72
5.2	Saran	73
DAFTAR PUSTAKA		74
LAMPIRAN		

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
Gambar 2. 1	Struktur Tulang	8
Gambar 2. 2	Tulang Normal dan Keropos	9
Gambar 2. 3	Suspensi <i>Injectable Bone Substitute</i>	11
Gambar 2. 4	Struktur Kimia Hidroksiapatit.....	12
Gambar 2. 5	Struktur Kimia Gelatin.....	14
Gambar 2. 6	Struktur Kimia HPMC	15
Gambar 2. 7	Struktur Kimia <i>Alendronate</i>	16
Gambar 2. 8	Sistem Optik FTIR	21
Gambar 2. 9	Prinsip Kerja SEM	24
Gambar 2. 10	Difraksi Sinar-X	27
Gambar 3. 1	Diagram Alir Penelitian	32
Gambar 3. 2	(a)Pembuatan Larutan Gelatin (b) Pembuatan Larutan Gelatin, Hidroksiapatit dan <i>Alendronate</i> (c) Pembuatan Larutan HPMC (d) Pencampuran Larutan HPMC ke dalam Larutan Gelatin, Hidroksiapatit dan <i>Alendronate</i> sebagai suspensi IBS	33
Gambar 3. 3	(a) Indikator Universal (b) Selama Uji pH (c) Hasil Uji pH.....	34
Gambar 3. 4	Proses Uji <i>Setting Time</i>	35
Gambar 3. 5	(a) Instrumen SEM (b) sebelum uji SEM (c) Setelah Uji SEM	36
Gambar 3. 6	Alat Uji XRD	37
Gambar 3. 7	(a) Alat Uji FTIR (b) Sebelum (c)Setelah Freezed-Dry.....	38
Gambar 3. 8	(a) Larutan SBF (b) Uji Laju Degradasi	39

Gambar 4. 1 (a) Sampel IBS dengan Penambahan <i>Alendronate</i> 10% Hasil Sintesis (b) Sampel IBS Ketika Diinjeksikan Pada Cawan Petri.....	41
Gambar 4. 2 (a) Spektrum FTIR sampel IBS 0% <i>Alendronate</i> (b) Spektrum FTIR sampel IBS 10% <i>Alendronate</i>	42
Gambar 4. 3 Grafik Uji pH	45
Gambar 4. 4 Grafik Hubungan Lama <i>Setting Time</i> terhadap Variasi <i>Alendronate</i> (w/w) pada Sampel IBS	47
Gambar 4. 5 Perbandingan Massa Sebelum dan Setelah <i>Setting</i>	49
Gambar 4. 6 Perbandingan Volume Sebelum dan Setelah <i>Setting</i>	50
Gambar 4. 7 Perbandingan Densitas Sebelum dan Setelah <i>Setting</i>	51
Gambar 4. 8 (a) Hasil Uji SEM Substrat HA Sebelum <i>Setting</i> (b) Hasil Uji SEM Substrat HA Setelah <i>Setting</i>	53
Gambar 4. 9 (a) Spektrum XRD Substrat HA (b) Spektrum XRD Substrat HA dengan IBS.....	54
Gambar 4. 10 Grafik Laju Degradasi IBS dengan Variasi <i>Alendronate</i>	59
Gambar 4. 11 (a) Spektrum FTIR Sampel IBS Degradasi Hari Ke-5 (b) Spektrum FTIR Sampel IBS Degradasi Hari Ke-14	64
Gambar 4. 12 (a) Spektrum FTIR sampel IBS 0% <i>Alendronate</i> (b) Spektrum FTIR sampel IBS 10% <i>Alendronate</i> (c) Spektrum FTIR Sampel IBS Degradasi Hari Ke-5 (d) Spektrum FTIR Sampel IBS Degradasi Hari Ke-14	66

Gambar 4. 13 (a) Hasil Uji SEM Substrat HA Degradasi Hari Ke-0 (b) Hasil Uji SEM Substrat HA Degradasi Hari Ke-5 (c) Hasil Uji SEM Substrat HA Degradasi Hari Ke-1469

Gambar 4. 14 (a) Spektrum XRD Substrat HA Degradasi Hari Ke-5 (b) Spektrum XRD Substrat HA Degradasi Hari Ke-570

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Gambar	Halaman
Tabel 2. 1	Daerah Serapan Gelombang IR pada Beberapa Gugus Fungsi.....	21
Tabel 2. 2	Komposisi Bahan Kimia Penyusun Larutan SBF	28
Tabel 4. 1	Daerah Serapan Gugus Fungsi Sampel IBS Tanpa dan dengan Penambahan <i>Alendronate</i>	44
Tabel 4. 2	Hasil Uji <i>Setting Time</i>	47
Tabel 4. 3	Perubahan Massa Substrat HA Sebelum dan Setelah <i>Setting</i>	48
Tabel 4. 4	Perubahan Volume Substrat HA Sebelum dan Setelah <i>Setting</i>	50
Tabel 4. 5	Perubahan Densitas Substrat HA Sebelum dan Setelah <i>Setting</i>	51
Tabel 4. 6	Fasa yang Terbentuk dan Derajat Kristalinitas dari Hasil XRD.....	55
Tabel 4. 7	Penurunan Massa IBS Hasil Uji Laju Degradasi	58
Tabel 4. 8	Data Persamaan Linier Hasil Uji Laju Degradasi.....	63
Tabel 4. 9	Daerah Serapan Gugus Fungsi Sampel IBS Degradasi Hari Ke-5 dan Hari Ke-14	65
Tabel 4. 10	Fasa yang Terbentuk dan Derajat Kristalinitas dari Hasil XRD.....	70

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia mengalami transisi demografi, dilihat dari komposisi penduduk usia tua Indonesia yang semakin meningkat setiap tahunnya. Tahun 2007 jumlah usia lanjut di Indonesia mencapai 8,4% atau 18,4 juta jiwa, kemudian meningkat di tahun 2008 menjadi 9,3% atau 21,1 juta jiwa (Kementerian PP dan PA, 2011). Peningkatan jumlah penduduk tua di Indonesia diiringi dengan meningkatnya jumlah kasus osteoporosis. Menurut data “*Indonesian White Paper*” yang dikeluarkan PEROSI, prevalensi osteoporosis pada tahun 2007 mencapai 28,8% untuk pria dan 32,3% untuk wanita (Trihapsari, 2009). Osteoporosis merupakan kondisi yang ditandai dengan berkurangnya massa tulang dan penurunan kualitas jaringan tulang yang menimbulkan kerapuhan tulang (Tandra, 2009). Upaya pencegahan osteoporosis, di antaranya dengan olahraga teratur, mengkonsumsi olahan kalsium yang cukup dan memperbaiki pola kebiasaan hidup. Pada kasus lanjut untuk mengobati osteoporosis memerlukan pembiayaan yang tinggi antara lain, harus melakukan operasi, terapi, dan pembelian obat. Oleh karena itu, untuk mengatasi masalah osteoporosis dapat dilakukan dengan pemberian *Injectable Bone Substitute*.

Injectable Bone Substitute (IBS) adalah material pengganti tulang dalam bentuk suspensi. *Injectable Bone Substitute* dapat diaplikasikan dengan cara disuntikkan untuk menjangkau daerah defek tulang yang lebih dalam dan mampu menyesuaikan bentuk defek dengan baik. Penyuntikan IBS pada tulang

diharapkan dapat menggantikan material tulang yang hilang akibat osteoporosis. Berdasarkan komposisi penyusun tulang yang akan diperbaiki, maka IBS dapat dibuat dari komposit hidroksiapatit-gelatin. Hidroksiapatit (HA) merupakan kalsium fosfat yang banyak digunakan sebagai material pengganti dan perbaikan jaringan tulang manusia yang cacat karena memiliki kemiripan dengan struktur kimia tulang. Material ini bersifat non-toksik dan bioaktif serta memiliki biokompatibilitas tinggi dengan jaringan sekitar dan dapat mendorong pertumbuhan tulang baru karena strukturnya berpori (Ichsan, 2012). Hidroksiapatit termasuk material keramik yang bersifat *brittle* (mudah patah) sehingga untuk dapat diaplikasikan memerlukan material lain dari jenis polimer, seperti gelatin. Gelatin adalah polipeptida yang dihasilkan dari hidrolisa kolagen tulang, kulit dan jaringan ikat. Hidrolisa tergantung pada *cross-link* antara ikatan peptida dan grup-grup asam amino yang relatif yang terbentuk (Ockerman et al., 2000). Pembuatan komposit hidroksiapatit-gelatin diharapkan sesuai dengan penyusun komponen tulang.

Injectable Bone Substitute berbasis komposit hidroksiapatit-gelatin merupakan material pengganti tulang dengan tingkat *biodegradable* tinggi (Azkarzadeh, 2004). Kuatnya ikatan antargugus mempengaruhi degradasi secara fisik dapat dibentuk dengan penambahan bahan yang memiliki afinitas elektron tinggi seperti *alendronate*. *Alendronate* mampu berinteraksi dengan kalsium tulang dan menghambat *osteoclast* dalam proses perombakan tulang (Shi et al., 2008 dalam Putra, 2014). Pada kasus osteoporosis, tulang mudah mengalami

degradasi sehingga penambahan alendronate pada IBS memungkinkan untuk mengatasi mudah terlepasnya ikatan antargugus pada tulang.

Penelitian tentang sintesis dan karakterisasi suspensi hidroksiapatit-gelatin dengan penambahan *alendronate* sebagai IBS telah dilakukan oleh Putra (2014). Suspensi dibuat dari campuran hidroksiapatit, gelatin, dan *alendronate* serta penambahan HPMC sebagai bahan pembuat suspensi. Sebelum dikarakterisasi IBS diinjeksikan pada substrat hidroksiapatit. Berdasarkan hasil karakterisasi diperoleh bahwa komposit hidroksiapatit-gelatin dengan penambahan *alendronate* memenuhi sifat-sifat sebagai IBS. Sifat-sifat IBS, yakni mampu *setting* atau pengerasan dalam waktu 5-6 jam, viskositas atau kekentalan yang sesuai dengan sediaan injeksi serta perubahan pH yang mendekati netral yaitu 6,7 ketika dalam bentuk suspensi. Adanya peningkatan ukuran pori ditunjukkan dari uji *Scanning Electron Microscope* (SEM). Akan tetapi, pada penelitian ini belum dilakukan uji degradasi yang berfungsi untuk mengetahui laju degradasi IBS. Pengetahuan tentang laju degradasi sangat penting untuk mengetahui cepat lambatnya interaksi IBS dengan substrat.

Penelitian tentang laju degradasi pernah dilakukan oleh Maulida (2015) dengan bahan IBS yang lain tanpa penambahan *alendronate*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pasta IBS dapat mengatasi kekurangan kalsium dan material anorganik yang ada pada tulang dengan dibuktikan melalui uji SEM. Akan tetapi, sampel IBS telah terdegradasi sebagian dalam waktu 48 jam ketika direndam dalam SBF. Hal ini membuktikan bahwa IBS ini bersifat kurang baik jika diinjeksikan pada pasien karena laju degradasi yang ditunjukkan cukup singkat

jika dibandingkan dengan laju pertumbuhan tulang yang dilakukan oleh *osteoblast* yang memerlukan waktu ± 2 minggu. Oleh karena itu, dibutuhkan penambahan *alendronate* pada IBS yang berfungsi untuk mengatur laju degradasi sehingga ketika terjadi degradasi total dapat bersamaan dengan selesainya *remodeling* tulang yang dilakukan oleh *osteoblast*.

Variasi penambahan *alendronate* dilakukan untuk memperoleh laju degradasi IBS yang sesuai dengan kebutuhan. Tujuan variasi ini untuk memperoleh dosis penambahan *alendronate* yang tepat agar sesuai dengan waktu *remodeling* tulang yang dilakukan oleh *osteoblast*. Penentuan Laju degradasi sangat diperlukan jika diaplikasikan secara klinis. Laju degradasi yang terlalu cepat akan membuat IBS mudah meluruh sehingga waktu yang dibutuhkan untuk melakukan pengulangan injeksi juga semakin cepat. Sebaliknya, jika laju degradasi terlalu lama juga akan menghalangi osteoblas melakukan perbaikan tulang secara alami.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis laju degradasi pada IBS HA-gelatin sebagai *drug delivery* osteoporosis dengan variasi penambahan *alendronate*. Beberapa karakterisasi yang diperlukan antara lain, uji pH, uji *setting time*, uji laju degradasi, uji *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), uji *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dan uji *X-Ray Diffraction* (XRD). Uji *setting time* digunakan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan material untuk melakukan pengerasan. Uji degradasi digunakan untuk mengetahui laju degradasi material dengan mengukur berat sebelum dan sesudah dicelupkan ke dalam *Simulated Body Fluid* (SBF). Untuk membuktikan terjadinya degradasi dengan

melihat perubahan ukuran pori dapat ditunjukkan dari hasil uji SEM. Sedangkan, perubahan sifat kristalinitas dapat dilihat dari hasil uji XRD serta untuk melihat perubahan ikatan antargugus fungsi dengan melihat hasil uji FTIR.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah variasi penambahan *alendronate* mempengaruhi laju degradasi IBS pada substrat?
2. Bagaimana morfologi permukaan, kristalinitas dan ikatan antargugus substrat akibat degradasi IBS dengan penambahan *alendronate*?
3. Berapa komposisi optimal *alendronate* pada IBS agar diperoleh laju degradasi yang terbaik?

1.3 Batasan Masalah

Pembatasan masalah perlu ada agar pembahasan tidak menyimpang dari topik penelitian. Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Hidroksiapatit, gelatin, HPMC, *alendronate* dan bahan-bahan lain yang digunakan merupakan produk komersial.
2. Perbandingan komposisi hidroksiapatit dan gelatin adalah 45:55 dengan gelatin 5% (w/v) dan HPMC 2 % (w/v).
3. Variasi penambahan *alendronate* 0%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5% dan 15% dari massa hidroksiapatit.
4. Karakterisasi yang digunakan meliputi, uji pH, uji *setting time*, uji laju degradasi, uji FTIR, uji SEM dan uji XRD.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui laju degradasi IBS dengan variasi penambahan *alendronate*.
2. Menganalisis morfologi permukaan, kristalinitas dan ikatan antargugus fungsi terkait degradasi.
3. Mengetahui komposisi optimal *alendronate* pada IBS agar diperoleh laju degradasi terbaik.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat melengkapi penelitian sebelumnya dan memberikan wawasan ilmiah tentang variasi penambahan *alendronate* terhadap laju degradasi IBS berbasis hidroksiapatit-gelatin sebagai upaya mengatasi osteoporosis.

BAB II

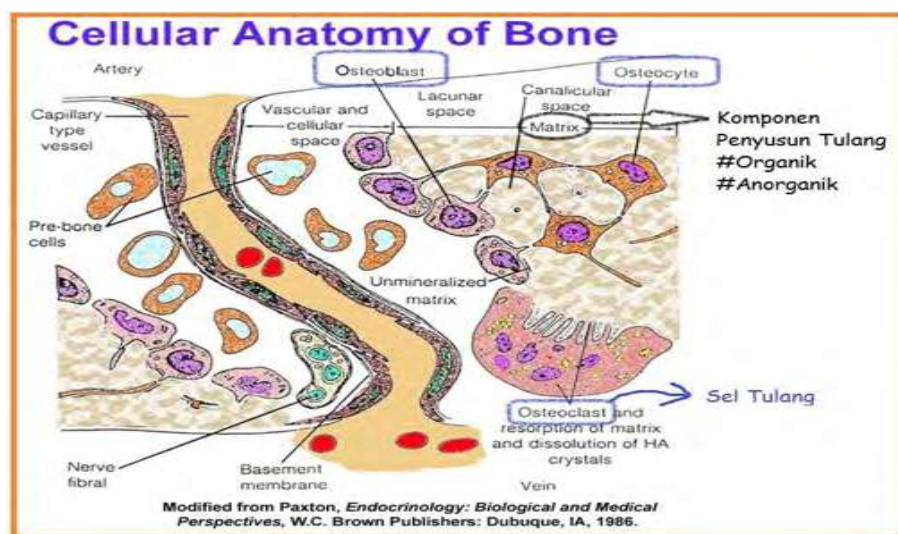
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tulang

Tulang merupakan alat gerak pasif pada tubuh manusia terdiri atas sel-sel dan jaringan tulang yang mempunyai sistem aliran darah sebagai pembawa nutrisi untuk metabolisme yang memungkinkan kalsium didepositkan sehingga tulang menjadi lebih keras dan kokoh (Cameron, 2006). Empat fungsi utama tulang, yakni fungsi mekanik sebagai penyokong tubuh serta tempat melekat jaringan otot untuk pergerakan, protektif untuk melindungi alat vital dalam tubuh, metabolik untuk mengatur keseimbangan berbagai mineral tubuh serta sebagai tempat metabolisme berbagai mineral seperti kalsium dan fosfat dan hemopoetik sebagai tempat proses pembentukan dan perkembangan sel darah (Syarifudin, 2001). Tulang tersusun atas bahan keramik apatit, protein, fibrosa kolagen dan air. Tulang terdiri dari 22% matrik organik di mana 90 - 96% nya adalah kolagen, 69% mineral dan 9% air. Mineral tulang terdiri dari submikroskopik kristal apatit kalsium dan fosfat, menyerupai hidroksiapatit dengan struktur kristal $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, ion mineral lainnya adalah sitrat ($C_6H_5O_7^{-4}$), karbonat (CO_3^{-2}), fluoride (F^-), dan ion hidroksil (OH^-) (Park, 2008).

Tulang terdiri atas matriks tulang dan 3 jenis sel tulang yaitu, osteosit, *osteoblast*, dan *osteoclast* dapat diamati pada Gambar 2.1. Osteosit mempunyai peranan penting dalam pembentukan matriks tulang dengan cara membantu pemberian nutrisi dan mengendalikan kandungan mineral dalam tulang.

Osteoblast bertanggung jawab atas kegiatan sintesis komponen organik matriks tulang kolagen tipe I dan sekresi mineral keseluruhan substansi pada daerah yang memiliki kecepatan metabolisme tinggi, sedangkan *osteoclast* merupakan sel tulang yang besar berfungsi menghancurkan jaringan tulang serta berperan penting dalam pertumbuhan tulang (osifikasi), penyembuhan dan pembentukan kembali (*remodeling*) bentuk tulang.



Gambar 2.1 Struktur Tulang (Paxton, 1986)

2.2 Osteoporosis

Osteoporosis berasal dari kata osteo dan porous, osteo artinya tulang, dan porous berarti berlubang atau keropos. Osteoporosis merupakan kondisi atau penyakit dimana tulang menjadi rapuh dan mudah retak atau patah. Osteoporosis (tulang yang keropos) adalah penyakit yang mempunyai sifat khas berupa massa tulang yang rendah atau berkurang disertai gangguan mikro-arsitektur tulang dan penurunan kualitas jaringan tulang yang dapat menimbulkan kerapuhan tulang (Tandra, 2009). Kepadatan tulang berkurang secara perlahan sehingga pada

awalnya osteoporosis tidak menimbulkan gejala. Beberapa penderita tidak memiliki gejala. Jika kepadatan tulang sangat berkurang sehingga tulang menjadi kolaps atau hancur, maka akan timbul nyeri tulang dan kelainan bentuk. Osteoporosis tidak memiliki tanda-tanda atau gejala sampai patah tulang terjadi. Inilah mengapa osteoporosis sering disebut sebagai 'silent disease' (IOF, 2010). Berdasarkan ukuran pori perbedaan tulang yang normal dan tulang yang sudah mengalami pengroposan ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Tulang Normal dan Keropos (Kuncoro, S., 2015)

Rendahnya densitas tulang pada kasus osteoporosis disebabkan tulang mengalami degradasi yang tinggi sehingga matriks tulang banyak yang larut akibat tergerus cairan dalam tubuh. Untuk mencegah terjadinya osteoporosis perlu mempertahankan atau meningkatkan kepadatan tulang dengan mengonsumsi kalsium yang cukup, melakukan olah raga dengan beban dan mengonsumsi obat (untuk beberapa orang tertentu). Pada kasus lanjut untuk mengobati osteoporosis memerlukan pembiayaan yang tinggi antara lain, harus melakukan operasi, terapi, dan pembelian obat. Oleh karena itu, untuk mengatasi masalah osteoporosis dapat dilakukan dengan pemberian *Injectable Bone Substitute* (IBS).

2.3 Remodeling Tulang

Tulang merupakan struktur yang dinamik dan menjalani proses regenerasi secara terus-menerus yang dinamakan *remodeling* (Robling et al., 2006). *Remodeling* adalah proses regenerasi yang terjadi secara terus-menerus dengan mengganti tulang yang lama dengan tulang yang baru (Monologas, 2000). Proses *remodeling* meliputi dua aktifitas yaitu proses pembongkaran tulang (*bone resorption*) sebagai aktivitas osteoklas dan proses pembentukan tulang baru (*bone formation*) sebagai aktivitas osteoblast (Murray, 2003). *Remodeling* berlangsung antara 2-8 minggu dimana waktu terjadinya pembentukan tulang berlangsung lebih lama dibanding dengan resorpsi tulang (Hajar, 2014).

2.4 *Injectable bone substitute* (IBS)

Injectable bone substitute adalah material pengganti tulang dalam bentuk yang bisa disuntikkan. Ada dua macam tipe IBS, yaitu IBS yang mengandung semen hidrolis ionik semen yang mengeras secara *in vivo* setelah injeksi dan IBS yang mengandung suspensi dalam bentuk pembawa yang siap digunakan (Weiss et al., 2007 dalam Putra, 2014). Suspensi IBS ditunjukkan pada gambar 2.3. Perkembangan penelitian IBS berawal dari semen tulang yang kemudian diaplikasikan dengan cara disuntikkan untuk menjangkau daerah defek tulang yang lebih dalam dan mampu menyesuaikan bentuk defek dengan baik (Bohner et al., 2010).



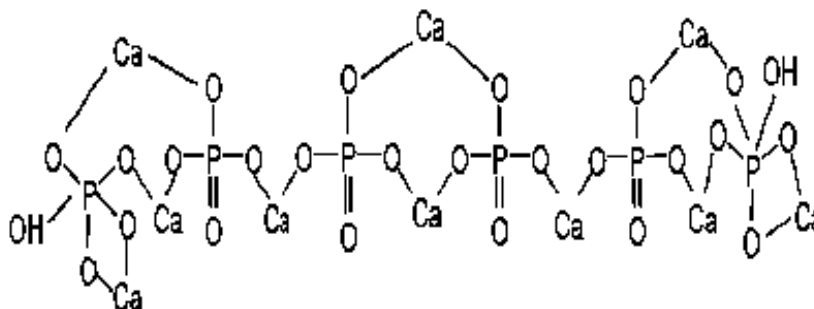
Gambar 2.3 Suspensi IBS (Anonim, 2014)

Syarat-syarat IBS agar dapat diaplikasikan, yaitu memiliki waktu pengerasan (*setting time*) yang pas, kekentalan (viskositas) yang sesuai dengan syarat suspensi dan pH mendekati pH netral. Pada penelitian ini, IBS dibuat dari komposit hidroksiapatit-gelatin dengan penambahan HPMC sebagai zat pembuat suspensi. Hidroksiapatit berperan sebagai material anorganik dan gelatin sebagai material organik tulang. Selain itu, peran IBS bisa juga sebagai penghantar obat (*drug delivery*) untuk membantu proses penyembuhan defek tulang seperti *alendronate*.

2.4.1 Hidroksiapatit

Hidroksiapatit (HA) yang memiliki struktur kimia $[Ca_{10} (PO_4)_6 (OH)_2]$ merupakan komponen mineral utama bagi tulang manusia. Hidroksiapatit adalah suatu kalsium fosfat keramik yang terdiri atas kalsium (Ca) dan fosfat (P) dan berasal dari rangka sejenis binatang karang dan melalui proses hidrotermal. Oleh karena itu, Hidroksiapatit tidak mengalami permasalahan dari segi kesesuaian biologi. Selain itu, Hidroksiapatit dapat digunakan sebagai bahan pengganti tulang misalnya, mengisi dan membangun kembali tulang yang cacat (Pramesti R, 2011).

Hidroksiapatit (HA) memiliki sifat biokompabilitas yaitu kemampuan untuk menyesuaikan dengan kecocokan tubuh penerima dan bioaktivitas yaitu kemampuan untuk bereaksi dengan jaringan dan menghasilkan ikatan kimia yang sangat baik. Struktur kimia hidroksiapatit ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur Kimia Hidroksiapatit (Warastuti, Y. dan Basril A., 2011)

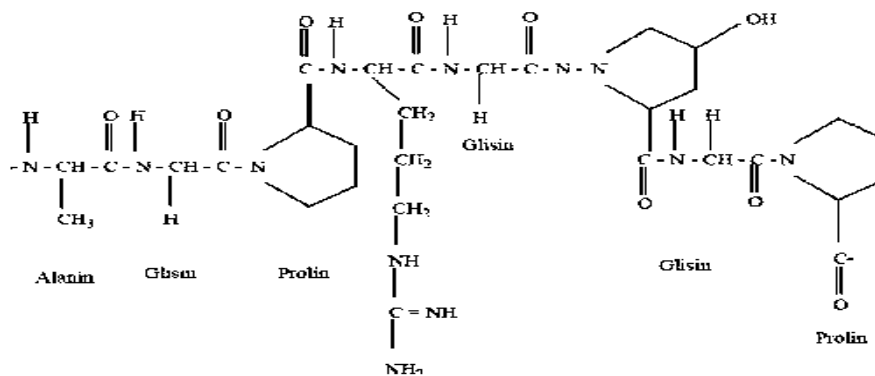
Sifat mekanis merupakan faktor yang membatasi penggunaan HA sebagai implan pada bagian yang menanggung beban tinggi. Akan tetapi, hidroksiapatit termasuk golongan keramik yang stabil sehingga cenderung memiliki kristalinitas tinggi yang dapat dibuktikan melalui uji XRD. Umumnya faktor yang mempengaruhi sifat mekanis HA adalah bentuk serbuk, pori-pori dan besar butir. Serbuk HA yang memiliki stoikiometri yang tepat yaitu rasio molar Ca/P sebanyak 1,67 dapat menghasilkan sifat mekanis HA yang unggul (Suchanek dan Yoshimura, 1998). Pori-pori HA yang letaknya tidak teratur dan tidak saling berhubungan satu sama lain (tidak rekat) menyebabkan pori-pori menjadi faktor yang melemahkan kekuatan bahan HA (Smith, 1996). Ukuran butir juga menurunkan kekuatan bahan HA dengan mempengaruhi ikatan antara butir (Smith, 1996) sehingga memerlukan uji SEM untuk mengetahui ukuran porinya.

2.4.2 Gelatin

Gelatin adalah polipeptida yang dihasilkan dari hidrolisa kolagen tulang, kulit dan jaringan ikat. Hidrolisa tergantung pada *cross-link* antara ikatan peptida dan grup-grup asam amino yang relatif yang terbentuk (Ockerman et al., 2000). Gelatin yang umum dijumpai berasal dari sapi dan babi. Gelatin mengandung protein yang sangat tinggi dan rendah kadar lemaknya. Gelatin kering dengan kadar air 8-12% mengandung protein sekitar 84-86% Protein, lemak hampir tidak ada dan 2-4% mineral. Gelatin bersifat serba bisa, yaitu bisa berfungsi sebagai bahan pengisi, pengemulsi (emulsifier), pengikat, pengendap, pemer kaya gizi, pengatur elastisitas, dapat membentuk lapisan tipis yang elastis, membentuk film yang transparan dan kuat. Sifat penting lainnya yaitu daya cernanya yang tinggi dan dapat diatur, sebagai pengawet dan penstabil.

Berdasarkan cara pembuatannya, ada dua jenis gelatin yaitu gelatin tipe A dan tipe B. Gelatin tipe A adalah gelatin yang umumnya dibuat dari kulit hewan muda (terutama kulit babi), sehingga proses pelunakannya dapat dilakukan dengan cepat yaitu dengan sistem perendaman dalam larutan asam (A = acid). Gelatin tipe B adalah gelatin yang diolah dari bahan baku yang keras seperti dari kulit hewan yang tua atau tulang, sehingga proses perendamannya perlu lama dan larutan yang digunakan yaitu larutan basa.

Asam amino yang paling banyak terdapat pada gelatin adalah glisin (26,4-30,5 %), prolin (14,8-18 %), hidroksiprolin (13,3-14,5%), asam glutamate (11,1-11,7%) dan alanin (8,6-11,3 %) (Leach dalam Yudiono, 2003). Struktur kimia gelatin ditunjukkan pada Gambar 2.5.

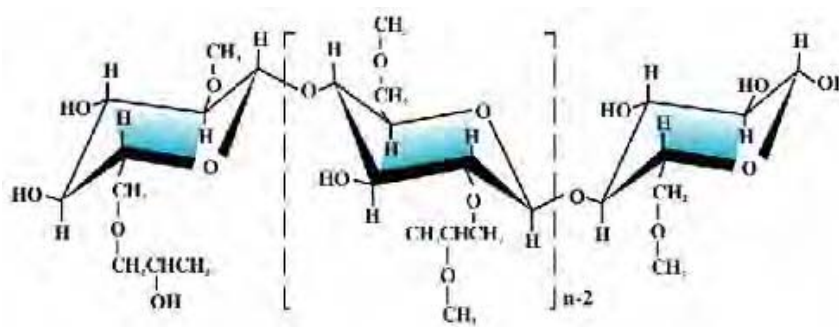


Gambar 2.5 Struktur Kimia Gelatin (Chaplin, 2012)

2.4.3 *Hydroxypropyl Methyl Cellulose (HPMC)*

Suspensi adalah salah satu jenis campuran yang heterogen dari beberapa material yang secara kasat mata terlihat tercampur secara merata tetapi dalam waktu tertentu akan terpisah antara fase terdispersi dengan fase pendispersi berbentuk larutan. Material dalam bentuk suspensi harus memiliki stabilitas yang baik untuk menjaganya tetap dalam keadaan suspensi. Suspensi yang mengendap harus memiliki kemampuan untuk membentuk suspensi kembali ketika terjadi pengendapan dengan cara pengocokan. Proses pengendapan ini terjadi karena adanya perbedaan tegangan permukaan antara zat padat dengan zat cair dalam suspensi. Untuk menurunkan tegangan permukaan dari zat padat, maka diperlukan zat pensuspensi atau *Suspending Agent*. Selain itu, penurunan tegangan permukaan juga bisa dilakukan dengan cara memperkecil ukuran partikel zat padat yang akan memperkecil energi bebas dan juga menyebabkan turunnya tegangan permukaan (Alvianny, 2008).

Hydroxypropyl Methyl Cellulose (HPMC) adalah polimer yang dapat larut dalam air dan banyak digunakan pada industri makanan sebagai pengental, pembuat gel dan bahan penstabil. Selain itu, banyak dipakai pula dalam industri farmasi untuk mengontrol sistem pelepasan obat. HPMC juga bersifat biokompatibel dan biodegradabel, sehingga sesuai jika dipakai untuk pembuatan komposit hidroksiapatit-gelatin (Warastuti dan Abbas,2011). Struktur kimia HPMC ditunjukkan pada Gambar 2.6.

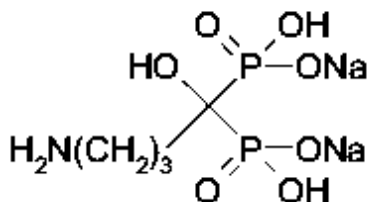


Gambar 2.6 Struktur kimia *Hydroxypropyl Methyl Cellulos* (Sahoo et al., 2012)

2.4.4 Alendronate

Alendronat adalah salah satu jenis obat biphosfonate. Bisfosfonat (BP) adalah kelompok obat yang memiliki kemampuan mencegah hilangnya massa tulang dengan mekanisme penghambatan osteoklas sehingga menekan *turnover* tulang (Borromeo et al., 2011). *Alendronate* digunakan untuk mengobati osteoporosis (penurunan kepadatan tulang yang mengarah ke patah tulang) dan nyeri tulang. Sifat *alendronate* yang memiliki afinitas elektron yang tinggi terhadap ion Ca^{2+} memungkinkan mampu berinteraksi dengan kalsium tulang dan menghambat *osteoclast* dalam proses perombakan tulang.

Pada tingkat seluler, *alendronate* menempati lokasi istimewa pada tempat resorpsi tulang, khususnya di bawah osteoklas. *Alendronate* tidak mempengaruhi penambahan atau penggabungan osteoklas tetapi menghambat aktivitas osteoklas. Penggunaan *alendronate* secara topikal dengan media pembawa atau *drug delivery system (DDS)* diharapkan dapat memberikan efek menghambat resorpsi tulang dan meningkatkan kepadatan mineral (Utari, 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Shen et al. (2014) menunjukkan bahwa IBS dari *calcium phosphate cement (CPC)* dengan penambahan *alendronate* sebesar 0,1 – 0,2 gram (10% – 15% dari massa hidroksiapatit) menghasilkan sifat mekanik terbaik serta mampu mengatasi defek tulang. Struktur kimia *alendronate* ditunjukkan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Struktur Kimia Alendronate (Turhanen et al., 2006)

2.5 Degradasi Tulang

Tulang tersusun atas matriks organik, mineral dan air. Matriks organik tulang berasal dari kolagen. Kolagen merupakan material golongan polimer. Gelatin adalah salah satu turunan dari kolagen Tipe I. Sedangkan mineral atau material anorganik paling banyak adalah hidroksiapatit. Hidroksiapatit (HA) merupakan golongan keramik. Tulang dipengaruhi faktor lingkungan yang ada didalam tubuh.

Faktor lingkungan seperti cairan tubuh dapat mengurangi sifat mekanik tulang sehingga terjadi degradasi yang ditandai dengan pengurangan densitas massa. Secara umum, matriks degradasi yang disebabkan oleh paparan lingkungan seperti cairan tubuh diwujudkan sebagai matriks yang mengalami keretakan dan erosi yang mengarah ke pengurangan matriks didominasi sifat. Secara biologi, degradasi tulang terjadi akibat aktivitas *osteoclast* yang lebih tinggi dibandingkan aktivitas *osteoblast*. Sedangkan secara kimia, degradasi tulang akibat ikatan antargugus fungsi terlepas, biasanya lebih mudah terjadi pada material polimer. Pada kasus osteoporosis, degradasi tulang berlangsung cepat sehingga kerapuhan tulang yang mengakibatkan tulang keropos.

Gelatin bersifat *biodegradable* serta merupakan materi yang amorf. Sedangkan, hidroksiapatit bersifat bioaktif dan biokompatibel serta merupakan materi yang mempunyai kristalinitas tinggi. Pencampuran gelatin dan hidroksiapatit akan menurunkan sifat kristalinitas dan meningkatkan sifat amorfnya serta dapat meningkatkan laju degradasi. Proses degradasi berlangsung lebih cepat pada materi amorf daripada materi yang kristalin karena sifat penetrasi airnya (Warastuti et al., 2013). Maka dari itu, di dalam tulang yang akan terdegradasi terlebih dahulu adalah material polimer. Gelatin berfungsi sebagai tempat dudukan untuk hidroksiapatit. Setelah rantai utama atau ikatan antargugus pada gelatin terlepas maka hidroksiapatit akan mulai meluruh dikarenakan tidak ada lagi tempat pegangan. Pada proses degradasi yang dipengaruhi oleh cairan tubuh, gugus fungsi $-OH$ bebas yang akan terlepas terlebih dahulu karena dapat berikatan dengan molekul air membentuk ikatan hidrogen.

Degradasi polimer dapat didefinisikan sebagai proses yang ditandai dengan pecahnya tulang punggung rantai utama atau ikatan-ikatan gugus samping (Rabek,1980). Menurut Temenoff dan Mikos (2008), mekanisme biodegradasi polimer dapat terjadi dalam dua cara, yaitu mekanisme pelarutan (*swelling/dissolution*) dan mekanisme pemotongan rantai (*chain scission*).

Biodegradasi dengan cara pelarutan terjadi melalui penyerapan air ke dalam polimer yang menyebabkan adanya jarak antar makromolekul. Pada mekanisme ini, air berperan sebagai *plastizer* yang menyebabkan material polimer menjadi lebih lunak (*ductile*) yaitu terjadi pengurangan ikatan antara rantai sekunder. Kondisi ini menyebabkan penurunan kristalinitas polimer tersebut. Menurut Laitinen dkk. (1992), parameter yang digunakan untuk memonitor terjadinya biodegradasi selain penurunan berat molekul adalah menurunnya kekuatan mekanis.

2.6 *Fourier Transform Infra Red (FTIR)*

Fourier Transform Infra Red (FTIR) merupakan salah satu teknik spektroskopi inframerah yang dapat mengidentifikasi kandungan gugus fungsi. Daerah inframerah pada spektrum gelombang elektromagnetik mencakup bilangan gelombang 14.000 hingga 10 cm^{-1} . Daerah inframerah sedang ($4000 - 400\text{ cm}^{-1}$) berkaitan dengan transisi energi vibrasi dari molekul yang memberikan informasi mengenai gugus fungsi dalam molekul tersebut. Daerah inframerah jauh ($400 - 100\text{ cm}^{-1}$) bermanfaat untuk menganalisis molekul yang mengandung atom-atom berat seperti senyawa anorganik. Daerah inframerah dekat ($12.5000 -$

4000 cm^{-1}) yang peka terhadap vibrasi *overtone* (Schechter, 1997). Daerah serapan gelombang inframerah pada beberapa gugus fungsi ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Pada alat spektrofotometri inframerah, nilai bilangan gelombang berbanding terbalik terhadap frekuensi atau energinya. Bilangan gelombang dan panjang gelombang dapat dikonversi menggunakan persamaan 2.1.

$$V(\text{cm}^{-1}) = 1/\lambda(\mu\text{m}) \times 10^4 \dots\dots\dots (2.1)$$

Informasi absorpsi inframerah pada umumnya diberikan dalam bentuk spektrum dengan panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}) sebagai absis x dan intensitas absorpsi atau persen transmitan sebagai ordinat y. Intensitas pita dapat dinyatakan dengan transmitan (T) atau absorban (A). Transmitan adalah perbandingan antara fraksi sinar yang diteruskan oleh sampel (I) dan jumlah sinar yang diterima oleh sampel tersebut (I_0). Absorban adalah $-\log$ dari transmitan yang ditunjukkan pada persamaan 2.2.

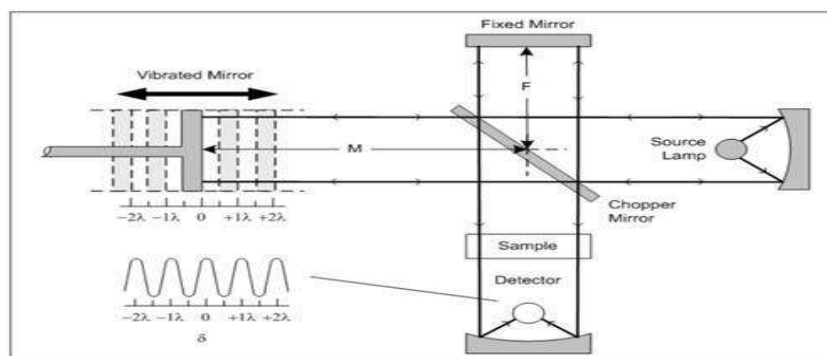
$$A = \log(1/T) = -\log T = -\log I/I_0 \dots\dots\dots (2.2)$$

Komponen alat FTIR terdiri dari 5 bagian utama, yaitu (Griffiths, 1975):

1. Sumber sinar yang terbuat dari filamen Nerst atau globar yang dipanaskan menggunakan listrik hingga temperatur 1000-1800 °C.
2. Beam splitter merupakan berupa material transparan dengan indeks relatif sehingga menghasilkan 50% radiasi akan direfleksikan dan 50% radiasi akan diteruskan.
3. Interferometer yang berfungsi untuk membentuk interferogram yang akan diteruskan menuju detektor.

4. Daerah cuplikan, dimana berkas acuan dan cuplikan masuk ke dalam daerah cuplikan dan masing-masing menembus sel acuan dan cuplikan secara bersesuaian.
5. Detektor merupakan piranti yang mengukur energi pancaran yang lewat akibat panas yang dihasilkan. Detektor yang sering digunakan adalah termokopel dan balometer.

Mekanisme yang terjadi pada alat FTIR seperti pada Gambar 2.8 dapat dijelaskan sebagai berikut, sinar yang datang dari sumber sinar akan diteruskan, dan kemudian akan dipecah oleh pemecah sinar menjadi dua bagian sinar yang saling tegak lurus. Sinar ini kemudian dipantulkan oleh dua cermin yaitu cermin diam dan cermin bergerak. Sinar hasil pantulan kedua cermin akan dipantulkan kembali menuju pemecah sinar untuk saling berinteraksi. Dari pemecah sinar, sebagian sinar akan diarahkan menuju cuplikan dan sebagian menuju sumber. Gerakan cermin yang maju mundur akan menyebabkan sinar yang sampai pada detektor akan berfluktuasi. Sinar akan saling menguatkan ketika kedua cermin memiliki jarak yang sama terhadap detektor, dan akan saling melemahkan jika kedua cermin memiliki jarak yang berbeda. Fluktuasi sinar yang sampai pada detektor ini akan menghasilkan sinyal pada detektor yang disebut interferogram. Interferogram ini akan diubah menjadi spektra IR dengan bantuan computer berdasarkan operasi matematika (Tahid,1994).



Gambar 2.8 Sistem optik FTIR (Tahid, 1994)

Tabel 2.1 Daerah Serapan Gelombang *Infrared* pada Beberapa Gugus Fungsi

(Putra, 2014)

Gugus Fungsi	Jenis Senyawa	Daerah Serapan (cm^{-1})
-O-H	Alkohol	3300-3500
-N-H stretching	Amina	3310-3500
-C-CH ₃	Alifatik	2850-2990
-C-H atau O-CH ₃	Alifatik	2700-2880
-NH ₂	Amina	1590-1650
COO ⁻ strech	Asam karboksilat, aldehid, keton, ester	1690-1760
CH ₂	Alifatik	1450-1470
PO ₄ ³⁻ asimetri stretching	Fosfat	900-1200
PO ₄ ³⁻ asimetri bending	Fosfat	400-700
P-O-C stretching	Fosfat	990-1050

2.7 *Setting Time* IBS

Setting time adalah waktu yang dibutuhkan material untuk melakukan pengerasan. *Setting time* sangat diperlukan untuk tujuan aplikasi medis misalnya dalam bidang orthopedi. Pada penggunaan IBS untuk penyembuhan defek tulang, proses *setting time* menjadi salah satu hal yang penting. Pada kasus osteoporosis, lama waktu suspensi IBS mengalami pengerasan akan berpengaruh pada tindakan medis selanjutnya. *Setting time* yang terlalu cepat akan membatasi waktu dokter atau ahli bedah untuk mengaplikasikan material tersebut. Sebaliknya, jika *setting time* terlalu lama akan membuat dokter atau ahli bedah menunggu untuk menutup defek tulang dan menunda proses selanjutnya. Waktu *setting* material dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya rasio serbuk dan cairan, temperatur dan pencampuran (Putri, 2013). *Setting time* diukur dengan menghitung waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan material dengan sifat mekanik yang stabil (Bohner, 2010).

Pada penelitian ini, media pengujian *setting time* dilakukan menggunakan sebuah substrat yang memiliki komponen yang sama dengan komponen penyusun IBS, salah satunya adalah substrat hidroksiapatit yang berbentuk balok. Pengujian *setting time* dilakukan dalam keadaan kering pada suhu ruangan sekitar 27°C. Pembuktian IBS mengalami *setting* dapat dilihat dari perubahan massa, volume dan kerapatan (densitas). Dimensi volume diperoleh dari mengukur panjang (p), lebar (l) dan tinggi (t). Volume dihitung menggunakan persamaan 2.3.

$$V = p \times l \times t \dots\dots\dots (2.3)$$

Dimana, V adalah voume (cm³), panjang (cm), lebar (cm) dan tinggi (cm).

Sedangkan kerapatan atau densitas dihitung dengan menggunakan perbandingan massa dengan volume. Hasil perhitungan menggunakan persamaan 2.4.

$$\rho = \frac{m}{V} \dots\dots\dots (2.4)$$

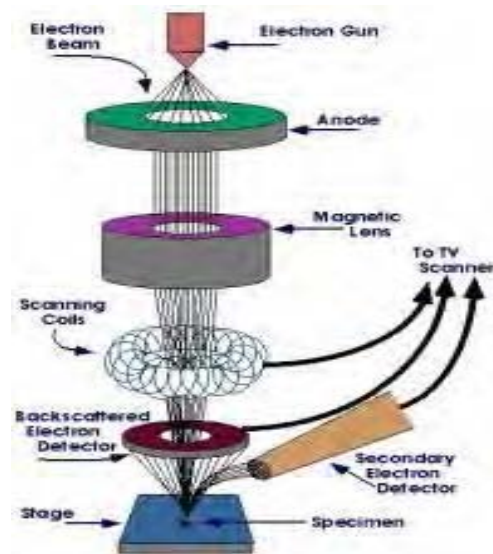
Dimana, ρ adalah densitas (g/cm^3), m adalah massa (g) dan V adalah volume (cm^3). Secara mikroskopik IBS yang telah *setting* pada substrat HA dapat dilihat morfologi permukaan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

2.8 *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Scanning Electron Microscopy (SEM) adalah salah satu teknik yang banyak digunakan dalam karakterisasi mikrostruktur material dan salah satu tipe mikroskop elektron yang mampu menghasilkan resolusi tinggi dari gambaran suatu permukaan sampel. Oleh karena itu, gambar yang dihasilkan mempunyai karakteristik secara kualitatif dalam dua dimensi karena menggunakan elektron sebagai pengganti gelombang cahaya serta berguna untuk menentukan struktur permukaan sampel. Gambar topografi permukaan berupa tonjolan, lekukan dan ketebalan lapisan tipis dari penampang melintangnya (Mulder,1996).

Prinsip kerja SEM ditunjukkan pada gambar 2.9. Mikroskop elektron atau SEM ini memfokuskan sinar elektron (*electron beam*) di permukaan objek, kemudian lensa magnetik memfokuskan elektron menuju suatu titik pada permukaan sampel, sinar elektron yang terfokus memindai (scan) keseluruhan sampel dengan diarahkan oleh koil pemindai, elektron mengenai sampel lalu terjadi hamburan elektron dari permukaan sampel, detektor mendeteksi adanya sinyal sehingga muncul gambar pada monitor CRT. Perbedaan tipe yang berbeda

dari SEM memungkinkan penggunaan yang berbeda-beda antara lain untuk studi morfologi, analisis komposisi dengan kecepatan tinggi, kekasaran permukaan, porositas, distribusi ukuran partikel, homogenitas material atau untuk studi lingkungan tentang masalah sensitifitas material (Sitorus, 2009).



Gambar 2.9 Prinsip kerja SEM (Anonim, 2009)

2.9 Uji *X-Ray Diffraction* (XRD)

X-ray diffraction (XRD) merupakan teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi fasa kristalin dalam material dengan cara menentukan parameter struktur kisi serta untuk mendapatkan ukuran partikel. Prinsip dasar XRD adalah mendifraksi cahaya yang melalui celah kristal seperti pada Gambar 2.10. Difraksi cahaya oleh kisi-kisi atau kristal ini dapat terjadi apabila difraksi tersebut berasal dari radius yang memiliki panjang gelombang yang setara dengan jarak antar atom, yaitu sekitar 1 Å. Radiasi yang digunakan berupa radiasi sinar-X, elektron, dan neutron. Sinar-X merupakan foton dengan energi tinggi yang memiliki

panjang gelombang berkisar antara $0,5 - 2,5 \text{ \AA}$. Ketika berkas sinar-X berinteraksi dengan suatu material, maka sebagian berkas akan diabsorpsi, ditransmisikan, dan sebagian lagi dihamburkan terdifraksi. Hamburan terdifraksi inilah yang dideteksi oleh XRD. Berkas sinar X yang dihamburkan tersebut ada yang saling menghilangkan karena fasanya berbeda dan ada juga yang saling menguatkan karena fasanya sama. Berkas sinar X yang saling menguatkan itulah yang disebut sebagai berkas difraksi.

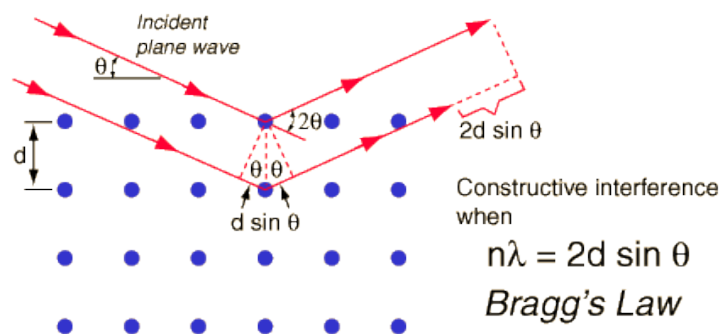
Prinsip kerja XRD dimulai dari penembakan sinar-X dari tabung sinar katode sehingga menghasilkan elektron-elektron. Elektron-elektron tersebut diberi percepatan tegangan sehingga dapat sampai ke target. Ketika elektron-elektron mempunyai energi yang cukup untuk mengeluarkan elektron-elektron dalam target, karakteristik spektrum sinar-X dihasilkan. Spektrum ini terdiri atas beberapa komponen-komponen, yang paling umum adalah $K\alpha$ dan $K\beta$. Panjang gelombang yang spesifik merupakan karakteristik dari bahan target (Cu, Fe, Mo, Cr). Tembaga sebagai bahan sasaran yang paling umum untuk difraksi kristal tunggal, dengan radiasi Cu $K\alpha = 0,15418 \text{ \AA}$. Saat sampel dan detektor diputar, intensitas sinar X pantul itu direkam. Ketika geometri dari peristiwa sinar-X tersebut memenuhi persamaan Bragg, interferensi konstruktif terjadi dan suatu puncak di dalam intensitas terjadi. Detektor akan merekam dan memproses isyarat penyinaran ini dan mengkonversi isyarat itu menjadi suatu arus yang akan dikeluarkan pada printer atau layar komputer.

Hukum Bragg merumuskan tentang persyaratan yang harus dipenuhi agar berkas sinar X yang dihamburkan tersebut merupakan berkas difraksi sesuai

dengan Gambar 2.10. Berkas sinar-X dengan panjang gelombang λ jatuh pada suatu kristal dengan sudut θ terhadap deretan-deretan atom dengan jarak antar atom dalam kristal adalah d . Berkas sinar-X yang didifraksikan oleh atom Q dan P yang memenuhi persyaratan adalah sudut difraksi bersama-sama dengan sudut jatuh dari berkas semula terletak sebidang. Interferensi konstruktif hanya terjadi jika panjang gelombang lintasan itu sama dengan kelipatan bulat dari panjang gelombang sinar-X dan mengikuti aturan Bragg yaitu :

$$2d_{hkl} \sin \theta = n \lambda \dots\dots\dots (2.5)$$

Dimana d adalah jarak antar bidang, θ adalah sudut difraksi, n adalah orde difraksi ($n=1,2,3,\dots$) dan λ adalah panjang gelombang sinar-X.



Gambar 2.10 Difraksi Sinar-X

Data yang diperoleh dari XRD berupa intensitas difraksi sinar-X yang terdifraksi dan sudut-sudut 2θ . Tiap pola yang muncul pada pola XRD mewakili satu bidang kristal yang memiliki orientasi tertentu. Untuk menghitung derajat kristalinitas pada IBS berbasis komposit hidroksiapatit-gelatin dapat menggunakan persamaan 2.6.

$$\%K = \frac{FLK}{FLK+FLA} \dots\dots\dots (2.6)$$

Dimana:

FLK (fraksi luas kristalin) : β kristal x Intensitas

FLA (fraksi luas amorf) : β amorf x Intensitas

$$\beta = \frac{1}{2}(2\theta_1 - 2\theta_2) \dots\dots\dots (2.7)$$

$2\theta_1$ adalah titik sudut awal puncak dan $2\theta_2$ adalah titik sudut akhir puncak yang akan ditinjau fraksi luasnya. Fraksi luas kristalin dihitung menggunakan pendekatan luas segitiga dimana penghilangan background atau pengurangan amorf menghasilkan fraksi luas kristalin.

2.10 Degradasi IBS dengan *Simulated Body Fluid* (IBS)

Degradasi adalah suatu reaksi perubahan kimia atau peruraian suatu senyawa atau molekul menjadi senyawa atau molekul yang lebih sederhana secara bertahap. Degradasi polimer pada dasarnya berkaitan dengan terjadinya perubahan sifat karena ikatan rantai utama makromolekul. Berdasarkan dengan penyebabnya, kerusakan atau degradasi polimer ada beberapa macam, yakni kerusakan termal (panas), fotodegradasi (cahaya), radiasi (energi tinggi), kimia, biologi (biodegradasi) dan mekanis (Allen, 1983).

Proses kimiawi untuk mengevaluasi kemampuan IBS terdegradasi dalam tubuh dapat dilakukan menggunakan larutan SBF. *Simulated Body Fluid* adalah larutan buatan yang memiliki komposisi dan konsentrasi ionik yang hampir mirip dengan plasma darah manusia yang disimpan di bawah kondisi pH ringan (6,9 – 7,4) dan suhu fisiologis yang identik (35 – 37°C) . Pertama kali, SBF diperkenalkan oleh Kokubo (1991) yang menjelaskan bahwa suatu bahan agar

dapat berikatan dengan tulang hidup adalah terbentuknya lapisan apatit mirip tulang pada permukaan bahan di dalam tubuh dan pembentukan apatit tersebut secara *in vivo* dapat diproduksi dalam SBF (Kokubo, 2006).

Metode yang digunakan untuk membuat larutan SBF adalah dengan metode yang dipakai oleh Kokubo menurut penelitian Warastuti dan Suryani (2013). Sebanyak 1 liter aquabides disiapkan untuk membuat larutan SBF dengan komposisi seperti pada Tabel 2.2. Aquabides diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian bahan kimia dimasukkan satu persatu sesuai urutan yang tertera pada Tabel 2.2 (satu bahan kimia diaduk sampai larut, baru ditambahkan dengan bahan kimia berikutnya). Suhu larutan diatur pada 37°C dan pH larutan pada *range* pH normal tubuh yaitu 6,9-7,4 dengan menggunakan larutan HCl 1 M.

Tabel 2.2 Komposisi Bahan Kimia Penyusun Larutan SBF (Warastuti dan Suryani, 2013)

No.	Bahan Kimia	Jumlah
1.	NaCl	7,996 gram
2.	NaHCO ₃	0,350 gram
3.	KCl	0,224 gram
4.	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,228 gram
5.	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,305 gram
6.	CaCl ₂ .2H ₂ O	0.278 gram
7.	Na ₂ SO ₄	0.071 gram
8.	(HOCH ₂) ₃ CNH ₂	6,057 gram
9.	HCl 1 M	40 mL

Setelah beberapa dekade, para peneliti biomaterial sepakat bahwa pembentukan apatit pada material yang direndam dalam larutan SBF adalah bukti dari ke-bioaktifan material tersebut, dan dapat digunakan untuk mengantisipasi kemampuannya berikatan dengan tulang secara *in vivo* (Bohner, 2009). Selama pengujian, biomaterial direndam dalam larutan sintetik yang mensimulasi bagian anorganik dari plasma darah dengan atau tanpa adanya kultur sel dalam kurun waktu yang disesuaikan. Metode ini bersifat mudah dan sederhana untuk menguji kestabilan dari material di dalam tubuh serta lama waktu material mengalami biodegradasi (Muller, 2005)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisika Material Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Laboratorium Farmasi Kimia Universitas Airlangga, Laboratorium Sentral Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang dan Laboratorium Biro Pengembangan Produksi PT Semen Gresik. Penelitian dilaksanakan selama 6 bulan yang dimulai pada bulan Februari sampai bulan Juli tahun 2016.

3.2 Alat Dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

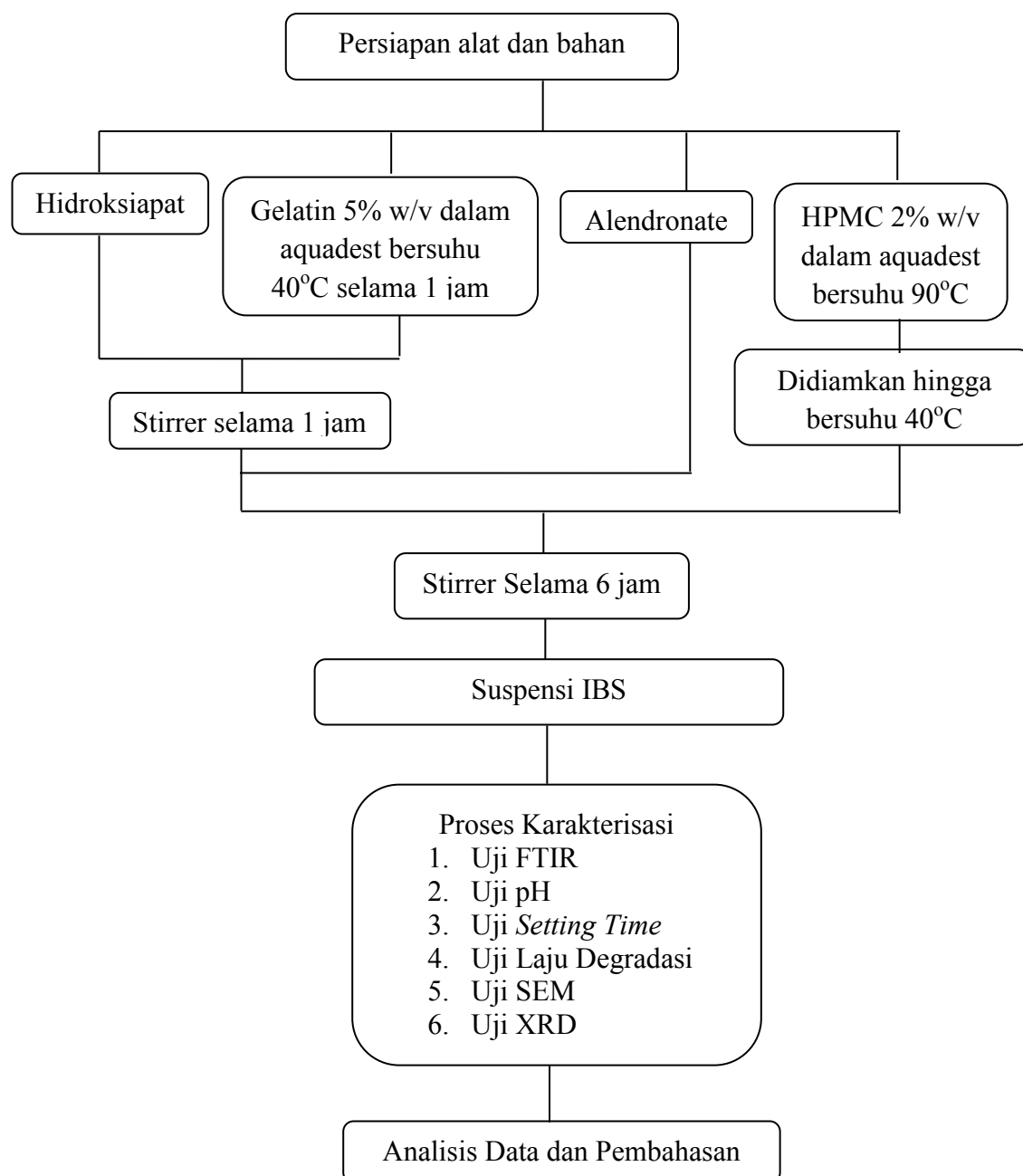
Peralatan yang digunakan pada penelitian ini terbagi menjadi dua jenis, yaitu sintesis dan karakterisasi sampel. Peralatan untuk sintesis sampel antara lain timbangan digital, gelas beker, pipet, gelas ukur, termometer, cawan petri, pengaduk dan *magnetic stirrer*. Sementara peralatan yang digunakan untuk karakterisasi antara lain *stopwatch*, indikator universal untuk uji pH, seperangkat uji *setting time* dan uji laju degradasi di Laboratorium Fisika Material Universitas Airlangga, Spektrofotometer FTIR di Laboratorium Farmasi Kimia Universitas Airlangga, instrumen XRD di Laboratorium Biro Pengembangan Produksi PT Semen Gresik dan seperangkat alat SEM di Laboratorium Sentral FMIPA universitas Negeri Malang.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang di gunakan pada penelitian ini juga terbagi ke dalam dua jenis, yaitu bahan untuk pembuatan sampel dan bahan untuk karakterisasi sampel. Bahan untuk pembuatan sampel antara lain bubuk hidroksiapatit dari tulang Sapi Bank Jaringan RSUD Dr.Soetomo, gelatin, *Alendronate*, HPMC dari Sigma Alderich H7509 dan aquades. Sementara bahan untuk karakterisasi sampel antara lain substrat hidroksiapatit dari Bank Jaringan RSUD Dr.Soetomo, dan bahan-bahan pembuat *Simulated Body Fluid* (SBF) seperti aquabides, NaCl, NaHCO₃, KCL, K₂HPO₄.3H₂O, MgCl₂.6H₂O, CaCl₂.2H₂O, Na₂SO₄, (CH₂OH)₃CNH₂ dan HCL 1 M.

3.3 Diagram Alir Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan sesuai dengan diagram alir yang ditunjukkan Gambar 3.1.

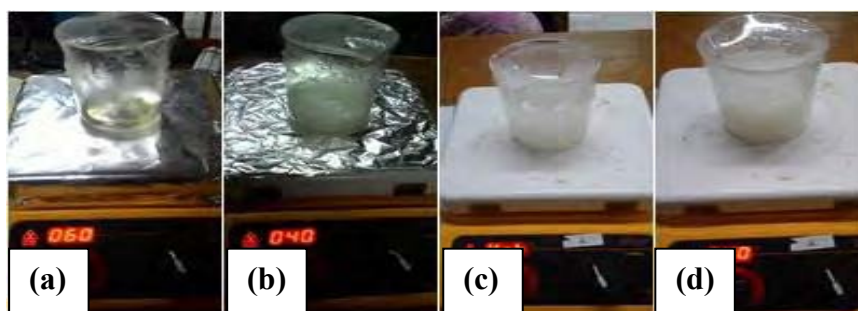


Gambar 3.1 Diagram Alir Tahapan Penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Sampel

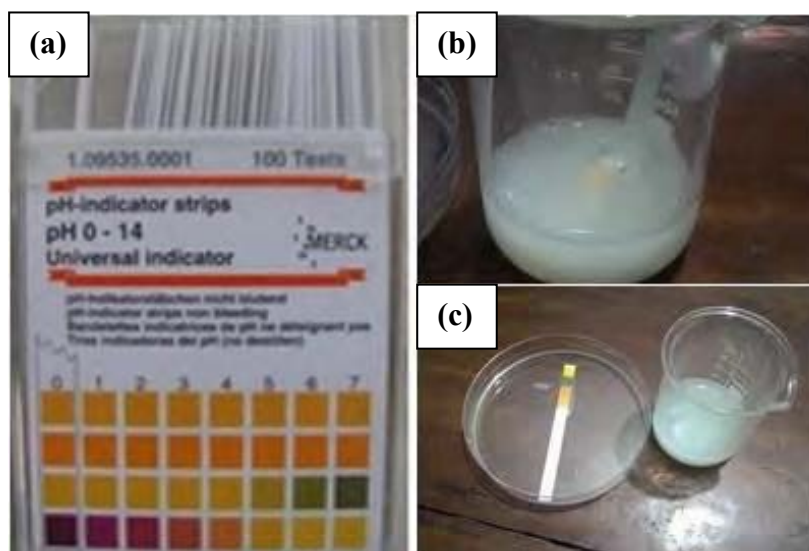
Sintesis IBS dibuat dengan melarutkan bubuk gelatin ke dalam aquades dengan konsentrasi 5% (w/v) bersuhu 40°C selama 1 jam. Larutan gelatin kemudian ditambahkan serbuk hidroksiapatit dengan perbandingan komposisi HA-gelatin sebesar 45:55 dan diaduk selama 1 jam. Selanjutnya, alendronate ditambahkan variasi komposisi, yaitu 0%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, dan 15% dari massa hidroksiapatit tiap sampel dan diaduk hingga homogen. Sementara itu, HPMC 2% (w/v) dilarutkan dengan aquades bersuhu 90°C kemudian didiamkan hingga bersuhu 40°C. Larutan HPMC selanjutnya dicampurkan ke dalam larutan HA-gelatin-alendronate dengan suhu campuran 40°C dan diaduk selama 6 jam hingga akan terlihat komposit hidroksiapatit-gelatin dalam bentuk suspensi yang berwarna putih. Pencampuran bahan dilakukan dengan *magnetic stirrer with heater* (pemanas) dan dikontrol suhunya menggunakan termometer. Tahap pembuatan sampel IBS dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 (a) Pembuatan Larutan Gelatin (b) Pembuatan Larutan Gelatin, Hidroksiapatit dan *Alendronate* (c) Pembuatan Larutan HPMC (d) Pencampuran Larutan HPMC ke dalam Larutan Gelatin, Hidroksiapatit dan *Alendronate* sebagai suspensi IBS

3.4.2 Uji Keasaman (pH)

Uji Derajat keasaman IBS digunakan untuk menyatakan tingkat asam atau basa yang dimiliki oleh sampel IBS. Uji pH dilakukan di laboratorium Fisika Material Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya. Uji ini dilakukan dengan menggunakan indikator universal. Proses pengujian dengan cara mencelupkan indikator universal ke dalam sampel IBS sampai mencapai garis strip selama 10 detik lalu angkat. Amati warna yang ditunjukkan oleh indikator universal lalu bandingkan dengan referensi sehingga diperoleh nilai pH dan catat hasilnya. Ulangi uji ini setiap 1 minggu sekali selama 1 bulan agar membuktikan sampel tetap terjaga atau tidak terkontaminasi. Uji ini dilakukan pada seluruh sampel IBS dengan variasi penambahan *alendronate*. Alat uji pH ditunjukkan pada Gambar 3.3



Gambar 3.3 (a) Indikator Universal (b) Selama Uji pH (c) Hasil Uji pH

3.4.3 Uji *Setting Time*

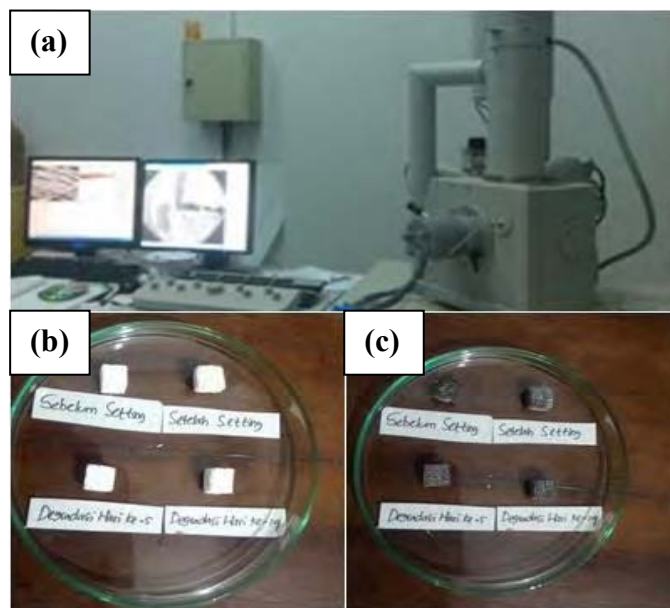
Uji *Setting time* digunakan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan material untuk melakukan pengerasan atau *setting* yang sangat dibutuhkan saat pengaplikasinya sebagai *injectable bone substitute*. Uji ini dilakukan di laboratorium Fisika Material Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya. Pengujian *setting time* dilakukan dengan menggunakan substrat HA. Sebelum melakukan uji *setting time* substrat HA diukur massa dan dimensi volumenya yang berupa panjang, lebar dan tinggi karena bentuknya tidak beraturan. Proses pengujian dilakukan dengan cara memasukkan sample suspensi ke dalam suntikan. Kemudian sampel disuntikkan ke dalam substrat HA. Amati *setting* yang terjadi. Ukur dan catat waktu yang dibutuhkan untuk *setting*. Pengujian *setting time* dilakukan dalam keadaan kering pada suhu ruangan sekitar 27°C. Selanjutnya dilakukan pengukuran massa (gram), volume (cm³) dan densitas (g/cm³). Pembuktian IBS mengalami *setting* dapat dilihat dari morfologi permukaan substrat secara mikroskopik sebelum dan sesudah diuji *setting time* dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) serta pembentukan fasa hidroksiapatit dan derajat kristalinitas menggunakan *X-Ray Diffraction*.



Gambar 3.4 Proses pengujian *Setting time*

3.4.4 Uji *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Uji SEM digunakan untuk mengetahui morfologi permukaan dari substrat HA secara mikroskopik. Dari hasil uji SEM akan diketahui ukuran pori substrat sebelum dan sesudah dilakukan uji *setting time* akan terlihat penampang permukaan substrat yang telah tertutupi sampel IBS. Selain itu, hasil uji SEM juga dapat digunakan untuk membuktikan adanya degradasi setelah dilakukan uji degradasi. Sebelum dilakukan uji SEM, substrat terlebih dahulu dibersihkan dan dikeringkan untuk kemudian ditempatkan pada *stake holder* yang telah dilapisi *carbon tip* emas (Au). Ukuran *stake holder* adalah 12 mm atau 25 mm. Kontak area substrat dibuat luas untuk memudahkan dalam identifikasi. Substrat dianalisis dalam ukuran dibawah 200 nm dan hasil keluarannya berupa citra atau gambar dalam formal *tiff image*. Instrumen SEM yang digunakan adalah Inspect S50.FEI Corp., Jepang yang berada di Laboratorium Sentral FMIPA Universitas Negeri Malang (Gambar 3.5)



Gambar 3.5 (a) Instrumen SEM (b) sebelum uji SEM (c) Setelah Uji SEM

3.4.5 Uji *X-Ray Diffraction* (XRD)

Uji XRD digunakan untuk mengidentifikasi tingkat kristalinitas dan kandungan hidroksiapatit yang terbentuk. Uji ini dilakukan di Laboratorium Biro Penembangan Produksi Semen PT Semen Gresik. Data yang diperoleh dari metode karakterisasi XRD adalah berupa grafik sudut hamburan (sudut Bragg) terhadap intensitas. Grafik ini akan menunjukkan fasa hidroksiapatit yang terbentuk serta derajat kristalinitas substrat HA sebelum dan setelah *setting* . Selain itu, uji ini juga dilakukan setelah uji laju degradasi. Alat uji XRD ditunjukkan pada Gambar 3.6.

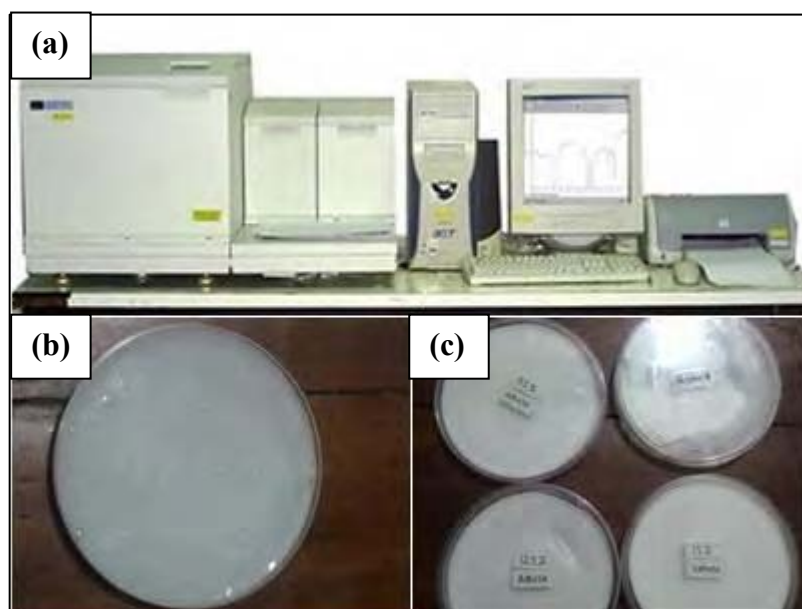


Gambar 3.6 Alat XRD

3.4.6 Uji *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Uji FTIR dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi material penyusun IBS. Pengujian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Kimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Untuk melakukan pengujian ini dilakukan preparasi terlebih dahulu. Sampel yang berbentuk cair atau suspensi

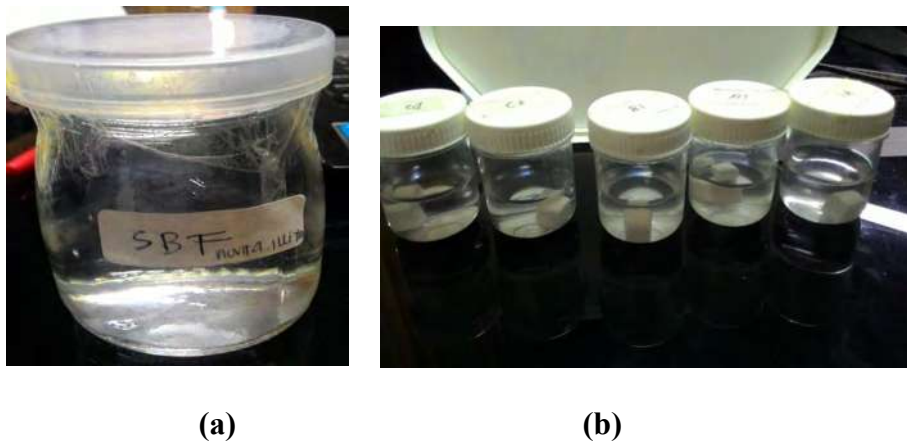
harus dipadatkan atau dikeringkan terlebih dahulu untuk mendapatkan hasil FTIR yang baik. Proses pengeringan sampel suspensi dilakukan menggunakan metode *frozen-dry*. Sampel suspensi yang telah jadi diletakkan dalam suatu wadah atau loyang, kemudian dimasukkan ke dalam *freezer* dengan suhu -20°C selama 4 jam. Sampel yang telah membeku dimasukkan ke dalam *lyophilizer* untuk menghilangkan bagian es yang membeku dan langsung kering selama 24 jam. Setelah itu, sampel akan menjadi kering dan siap untuk di uji FTIR. Sampel tersebut akan diambil dalam ukuran yang kecil dan ditambahkan bubuk KBr terlebih dahulu dan dikompaksi. Sampel yang telah kompaksi kemudian diletakkan dalam *holder* alat spektrofotometer FTIR dan akan disinari oleh *infrared*. Hasil uji FTIR berupa grafik daerah serapan atau spektrum dengan bilangan gelombang (*wave number*) sebagai absis x dan intensitas absorpsi atau persen transmitan sebagai ordinat y.



Gambar 3.7 (a) Alat uji FTIR (b) Sebelum Freezed-Dry (c) Setelah Freezed-Dry

3.4.7 Uji Laju Degradasi dengan *Simulated Body Fluid* (SBF)

Uji laju degradasi digunakan untuk mengetahui kemampuan sampel IBS dapat larut dalam tubuh menggunakan larutan dengan komposisi cairan tubuh yaitu SBF. Larutan SBF dibuat sesuai dengan cara yang telah dijelaskan pada subbab 2.10 dengan menggunakan bahan penyusun seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.2. Pada proses pengujian substrat HA berbentuk kubus yang telah *setting* dengan sampel IBS dimasukkan ke dalam *pot bottle* yang sebelumnya telah diisi larutan SBF 5 ml dan ditutup rapat seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.8. Uji ini dilakukan selama 14 hari dan diukur perubahan massa (gram) setiap harinya. Larutan SBF memiliki range pH 7 atau netral. Untuk menjaga kestabilan pH larutan SBF, maka dilakukan penggantian larutan SBF setiap 2 hari sekali. Laju degradasi sampel IBS dapat digambarkan dalam bentuk grafik hubungan antara massa dengan waktu.



Gambar 3.8 (a) Larutan SBF (b) Uji Laju Degradasi

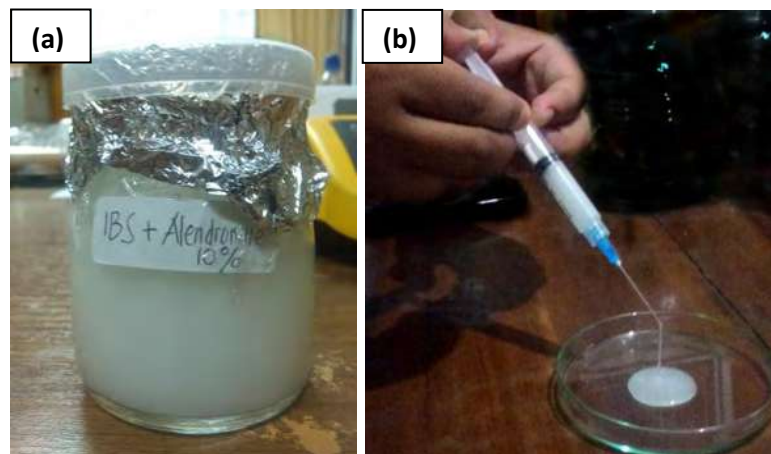
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah dilakukan analisis laju degradasi IBS Hidroksiapatit-Gelatin sebagai *drug delivery* osteoporosis dengan variasi penambahan *alendronate* yaitu, 0% (kontrol), 5% (A), 7,5% (B), 10% (C), 12,5% (D) dan 15% (E). Analisis yang dilakukan meliputi gugus fungsi, pH, waktu pengerasan, morfologi permukaan, kristalinitas dan laju degradasi sampel untuk memperoleh karakteristik yang optimal dalam aplikasi klinis. Oleh karena itu, karakterisasi yang dilakukan antara lain, uji FTIR, uji pH, uji *setting time* (waktu pengerasan), uji SEM, uji XRD dan uji laju degradasi.

4.1 Hasil Sintesis *Injectable Bone Substitute* (IBS)

Sintesis IBS dalam bentuk suspensi yang berbasis hidroksiapatit-gelatin dengan variasi penambahan *alendronate* yang diaplikasikan sebagai *drug delivery* osteoporosis. Perbandingan komposisi hidroksiapatit-gelatin dalam pembuatan IBS yang digunakan yaitu 45:55. Sampel IBS dibuat dalam 6 variasi komposisi *alendronate* yaitu 0%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5% dan 15% dari massa hidroksiapatit. Konsentrasi gelatin dan HPMC yang digunakan yaitu 5% w/v gelatin dan 2% w/v. Perbandingan HPMC, gelatin dan hidroksiapatit yang dipakai adalah 3:1:1. Hasil sintesis sampel IBS berbentuk suspensi yang dapat diinjeksi atau disuntikkan dan berwarna putih dapat dilihat pada Gambar 4.1.

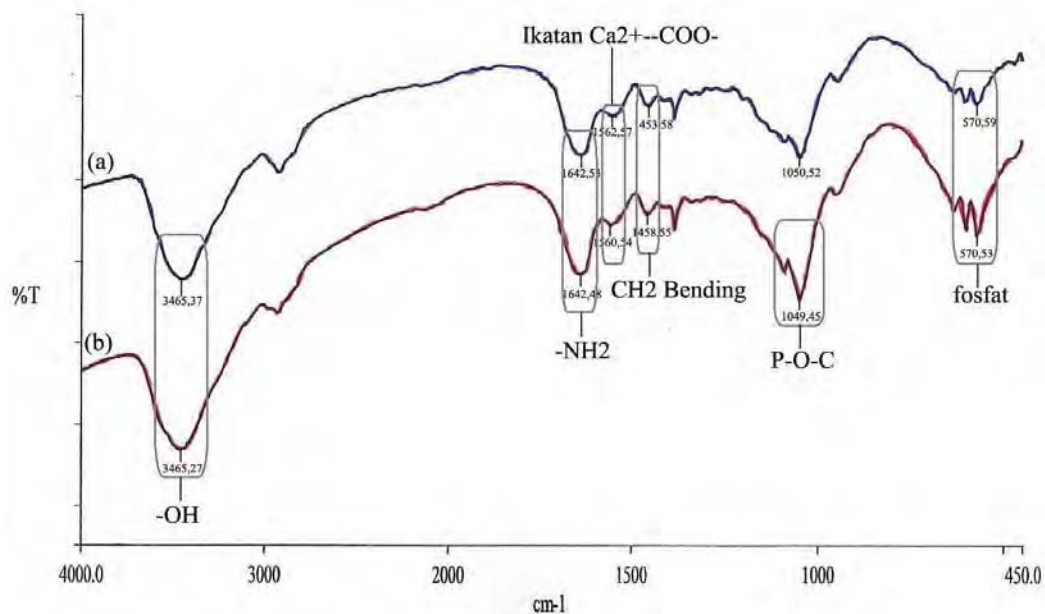


Gambar 4.1 (a) Sampel IBS dengan Penambahan *Alendronate* 10% Hasil Sintesis (b) Sampel IBS ketika Diinjeksikan pada Cawan Petri

4.2 Hasil Karakterisasi Kinerja Suspensi IBS

4.2.1 Uji *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Uji FTIR dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi bahan penyusun IBS. Sampel IBS berupa suspensi yang dapat diinjeksikan. Sediaan yang dibutuhkan pada uji FTIR berupa padatan sehingga dilakukan proses pengeringan dengan menggunakan metode *frozen-dry*. Hasil uji FTIR berupa grafik daerah serapan atau spektrum dengan bilangan gelombang (*wave number*) sebagai absis x dan intensitas absorpsi atau persen transmittan sebagai ordinat y. Transmittan adalah perbandingan antara fraksi sinar yang diteruskan dan diterima oleh sampel IBS. Transmittan berhubungan dengan absorban. Absorban adalah $-\log$ dari transmittan. Pada penelitian ini menggunakan daerah infrared dengan bilangan gelombang $4000-450\text{ cm}^{-1}$. Spektrum FTIR ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2(a) Spektrum FTIR Sampel IBS 0% *Alendronate* **(b)** Spektrum FTIR Sampel IBS 10% *Alendronate*

Gambar 4.2(a) menunjukkan hasil spektrum FTIR dari sampel IBS 0% *alendronate* yang telah melalui metode *freeze-dry*. Berdasarkan spektrum yang dihasilkan, terdapat beberapa daerah serapan yang menjadi ciri khas dari bahan utama yang digunakan, seperti pada bilangan gelombang $3465,37 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan gugus fungsi OH (ikatan H intermolekuler) dari semua bahan utama yang memiliki gugus OH. Gugus amina (NH_2) milik gelatin terlihat pada daerah serapan $1642,53 \text{ cm}^{-1}$. Selain itu, gelatin juga memiliki gugus fungsi karboksil yang merupakan khas dari kolagen tipe 1 dengan daerah serapan $1690 - 1760 \text{ cm}^{-1}$ (Narbat et al., 2006). Penelitian yang telah dilakukan oleh Narbat (2006) menunjukkan bahwa hidroksipatit dan gelatin membentuk ikatan antara ion Ca^{2+} dengan gugus karboksil (COO^-) sehingga gugus fungsi karboksil tidak muncul pada sampel. Oleh sebab itu, pada penelitian ini gugus fungsi karboksil tersebut

tidak muncul sehingga dapat dikatakan bahwa gugus karboksil telah berikatan dengan ion Ca^{2+} yang berasal dari hidroksiapatit yang menyebabkan adanya pergeseran daerah serapan. Pergeseran daerah gugus fungsi dari ikatan ini juga telah diteliti oleh Wang et al., (2010) dan Putra (2014). Ikatan gugus karboksil (COO^-) dari geatin dengan Ca^{2+} dari hidroksiapatit ditunjukkan pada daerah serapan $1562,57 \text{ cm}^{-1}$. Gugus fungsi fosfat (PO_4^{3-}) milik hidroksiapatit terlihat pada daerah serapan $570,59 \text{ cm}^{-1}$.

Gambar 4.2(b) menunjukkan hasil spektrum FTIR dari sampel IBS 10% *alendronate*. Berdasarkan spektrum menunjukkan bahwa beberapa daerah serapan yang dihasilkan tidak jauh berbeda dengan hasil FTIR dari sampel IBS 0% *alendronate* tetapi pada hasil ini terdapat tambahan satu gugus fungsi milik *alendronate*. Bilangan gelombang $3460,27 \text{ cm}^{-1}$ merupakan daerah serapan gugus fungsi OH (ikatan H intermolekuler) dari semua bahan utama yang memiliki gugus OH. Ikatan antara hidroksiapatit dan gelatin yang ditunjukkan dengan terbentuknya gugus karboksil (COO^-) dari geatin dengan Ca^{2+} dari hidroksiapatit pada daerah $1560,54 \text{ cm}^{-1}$. *Alendronate* terlihat pada daerah serapan $1642,48 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan gugus amina (NH_2) dan bilangan gelombang $1049,45 \text{ cm}^{-1}$ merupakan daerah serapan vibrasi regang P-O-C (Capra et al., 2011). Gugus fungsi fosfat (PO_4^{3-}) milik hidroksiapatit terlihat pada daerah serapan $570,53 \text{ cm}^{-1}$.

Berdasarkan Gambar 4.2 dapat dibuat tabel serapan gugus fungsi seperti yang ditunjukkan Tabel 4.1. Pada Tabel 4.1 dapat dijelaskan bahwa karakterisasi FTIR menghasilkan ciri khas daerah serapan gugus fungsi dari bahan penyusun IBS. Beberapa gugus fungsi yang dihasilkan antara lain, gugus fungsi -OH

(ikatan H intermolekuler) dimiliki oleh semua bahan IBS, vibrasi regang NH_2 dimiliki oleh gelatin dan *alendronate*, Ikatan Ca^{2+} -- COO^- membuktikan adanya ikatan antara hidroksiapatit (Ca^{2+}) dengan gelatin yang ditunjukkan gugus karboksil (COO^-), vibrasi tekuk CH_2 menjadi bagian dari cabang selulosa yang membentuk HPMC, vibrasi regang P-O-C dimiliki oleh *alendronate*, dan serapan fosfat (PO_4)³⁻ milik hidroksiapatit dan *alendronate*.

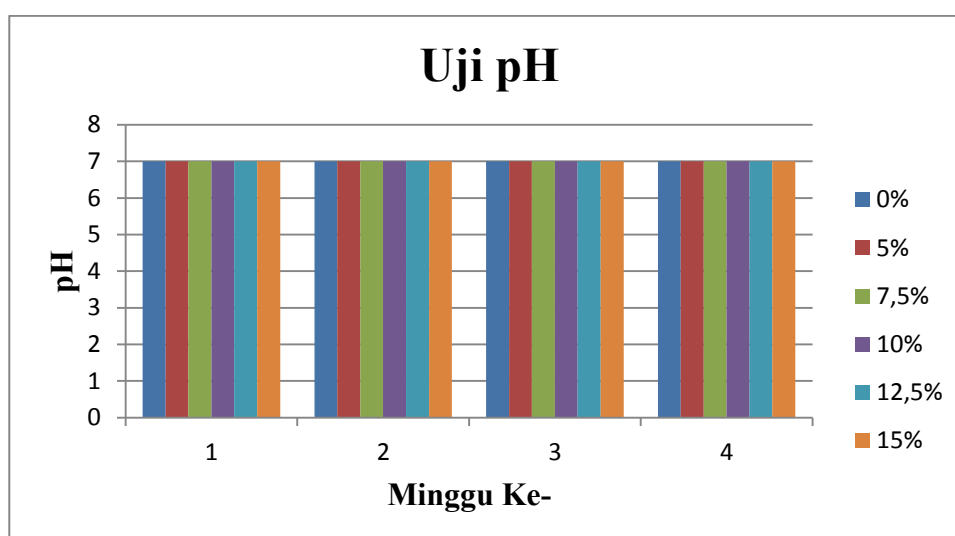
Tabel 4.1 Daerah Serapan Gugus Fungsi Sampel IBS Tanpa dan dengan Penambahan *Alendronate*

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	
	IBS 0% <i>Alendronate</i>	IBS 10% <i>Alendronate</i>
Vibrasi regang OH (ikatan H intermolekuler)	3465,37	3465,27
Vibrasi regang NH_2	1642,53	1642,48
Ikatan Ca^{2+} -- COO^-	1562,57	1560,54
Vibrasi tekuk CH_2	1453,58	1458,55
Vibrasi regang P-O-C	-	1049,45
Serapan Fosfat (PO_4) ³⁻	570,59	570,53

Hasil Analisis FTIR dapat mengidentifikasi bahan-bahan penyusun IBS yang terbukti masih ada setelah dilakukan sintesis atau pencampuran. Setelah terbukti maka diperlukan uji keasaman untuk mengetahui bahwa suspensi IBS yang dibuat berada pada range pH 7 dan stabil setiap waktu agar dapat mudah berikatan dengan lingkungan sekitar ketika diinjeksikan ke dalam tubuh.

4.2.2 Uji keasaman (pH)

Derajat keasaman IBS digunakan untuk menyatakan tingkat asam atau basa yang dimiliki oleh sampel IBS. Pentingnya mengetahui pH dari suspensi IBS yang telah dibuat untuk memudahkan dalam aplikasi klinis. Syarat pH IBS agar dapat setting dengan tulang harus memiliki range pH 7 atau netral. Uji pH untuk memastikan tidak terjadi rasa sakit ketika diinjeksikan ke dalam tubuh. Selain itu, pH harus berada dalam keadaan stabil dari hari ke hari. Pada penelitian ini, pH dari sampel diukur setiap 7 hari sekali selama 1 bulan dengan menggunakan indikator universal. Alasan dilakukan pengujian pH selama 1 bulan yakni agar sampel IBS yang diinjeksikan terbukti tidak mudah terkontaminasi. Untuk itu, setiap selesai dilakukan uji sampel disimpan pada lemari es pada suhu 20°C agar dapat terjaga kestabilan pH-nya. Gambar 4.3 menunjukkan hasil uji pH untuk semua variasi penambahan *alendronate* pada range pH 7 atau netral. Kestabilan pH menjamin tidak terjadinya kontaminasi pada sampel IBS. Selain itu, jika diinjeksikan dapat kompatibel dengan tubuh.



Gambar 4.3 Grafik Uji pH

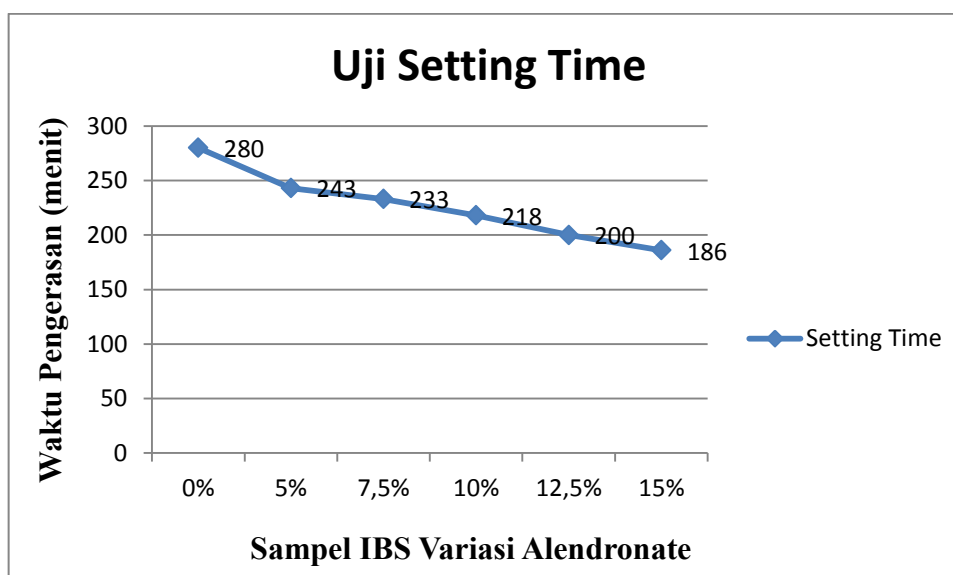
4.2.3 Uji *Setting Time*

Uji *Setting time* digunakan untuk mengetahui waktu pengerasan IBS saat diaplikasikan pada tulang yang dalam hal ini dilakukan secara *in vitro*. Pada penelitian ini, pengujian *setting time* dilakukan dengan menggunakan substrat HA yang berbentuk kubus. Substrat HA berasal dari tulang sapi yang telah dibeku-keringkan dengan metode *freeze dried*. Bahan penyusun IBS memiliki komponen yang sama dengan substrat HA. Pengujian *setting time* dilakukan dalam keadaan kering pada suhu ruangan sekitar 27°C. Uji ini dilakukan dengan cara memasukkan substrat HA ke dalam 3 ml suspensi IBS selama 10 menit, kemudian angkat dan taruh pada cawan petri, lalu tunggu hingga kering serta amati dan catat waktunya. Massa dan dimensi volume substrat HA yang digunakan tidak sama untuk semua variasi *alendronate*.

Hasil pengujian *setting time* diperoleh lama waktu yang dibutuhkan sampel IBS untuk mengalami *setting* atau pengerasan yang ditunjukkan pada Tabel 4.2 dan digambarkan dalam bentuk grafik pada Gambar 4.4. Pengukuran waktu pengerasan menggunakan *stopwatch* dengan skala terkecil 1 detik dan nilai ketidakpastian 0,5 detik atau 0,0083 menit. Nilai ketidakpastian yang diperoleh dalam penelitian ini sama dengan ketidakpastian *stopwatch* karena pengukuran yang dilakukan merupakan pengukuran tunggal. Hasil Tabel 4.2 dapat dikatakan bahwa IBS dengan komposisi *alendronate* yang semakin banyak memiliki lama waktu pengerasan yang semakin singkat. Hal ini sesuai dengan fungsi *alendronate* yakni mampu berinteraksi dan berikatan dengan ion Ca^{2+} yang ada pada IBS.

Tabel 4.2 Hasil Uji *Setting Time*

No	Variasi <i>Alendronate</i>	Waktu Pengerasan (menit)
1	0%	280
2	5%	243
3	7,5%	233
4	10%	218
5	12,5%	200
6	15%	186



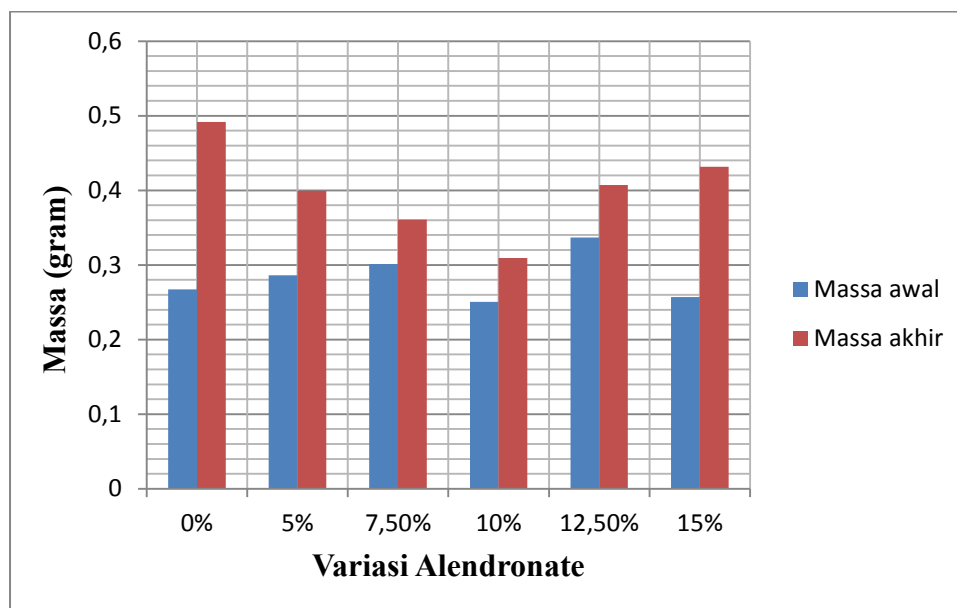
Gambar 4.4 Grafik Hubungan Lama Setting Time terhadap Variasi *Alendronate* (w/w) pada Sampel IBS

Kecepatan waktu *setting* yang dijelaskan oleh grafik menunjukkan bahwa sampel IBS dengan penambahan *alendronate* mampu *setting* dengan substrat HA. Penambahan komposisi *alendronate* yang lebih banyak memungkinkan adanya daya tarik ion Ca^{2+} yang ada di dalam sampel IBS dan substrat HA. Hal ini

nampak pada perubahan massa substrat HA sebelum dan setelah *setting* yang disajikan dalam Tabel 4.3 dan Gambar 4.5. Hasil massa setelah setting berbeda-beda dikarenakan ukuran substrat HA yang digunakan tidak sama dan massa sebelum setting juga berbeda. Akan tetapi, secara umum terjadi peningkatan massa yang membuktikan bahwa sampel IBS dapat setting dengan substrat HA. Pengukuran massa substrat HA menggunakan neraca digital dengan skala terkecil 0,0001 gram dan nilai ketidakpastian 0,00005 gram. Nilai ketidakpastian yang diperoleh dalam penelitian ini sama dengan ketidakpastian neraca digital karena pengukuran yang dilakukan merupakan pengukuran tunggal.

Tabel 4.3 Perubahan Massa Substrat HA Sebelum dan Setelah *Setting*

Variasi <i>Alendronate</i>	Massa (gram)		Perubahan Massa (gram)	Pertambahan Massa (%)
	Sebelum	Setelah		
0%	0,2673	0,4918	0,2245	83,99
5%	0,2861	0,3993	0,1132	39,57
7,5%	0,3011	0,361	0,0599	19,89
10%	0,2506	0,3091	0,0585	23,34
12,5%	0,3367	0,4073	0,0706	20,97
15%	0,2571	0,4314	0,1743	67,79

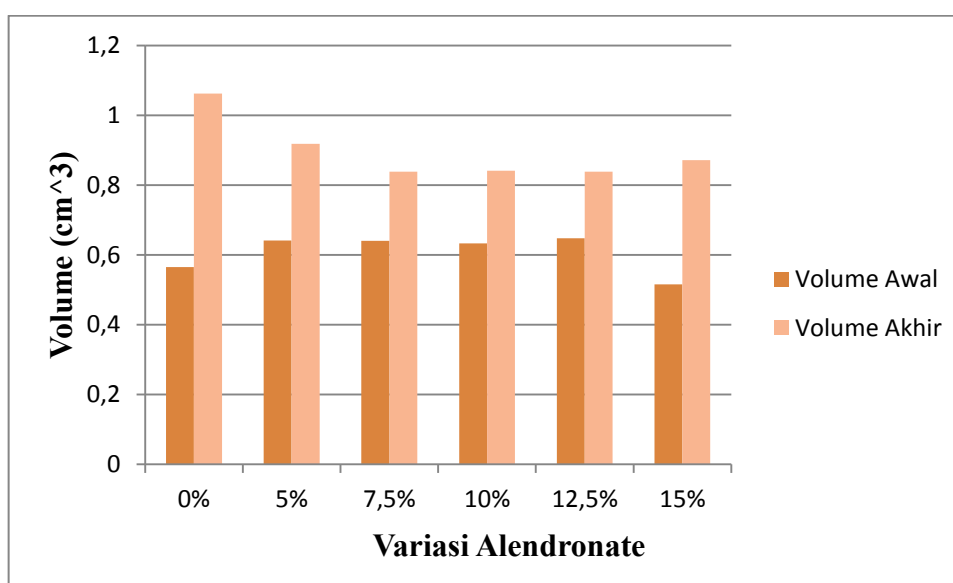


Gambar 4.5 Perbandingan Massa Sebelum dan Sesudah Setting

Selain mengalami perubahan massa, substrat HA juga mengalami perubahan volume pada saat suspensi IBS mengalami *setting* yang disajikan dalam Tabel 4.4. dan Gambar 4.6. Menurut penelitian Putra (2014), terjadinya perubahan volume pada substrat HA disebabkan adanya proses *swelling* (pengembangan) sebelum *setting* (pengerasan). Suspensi IBS yang mampu memasuki bagian dalam substrat HA menjadi penyebab *swelling*. Pengukuran dimensi volume substrat HA menggunakan jangka sorong dengan skala terkecil 0,05 mm dan nilai ketidakpastian 0,025 mm. Nilai ketidakpastian panjang, lebar dan tinggi yang diperoleh dalam penelitian ini sama dengan ketidakpastian jangka sorong karena pengukuran yang dilakukan merupakan pengukuran tunggal.

Tabel 4.4 Perubahan Volume Substrat HA Sebelum dan Setelah *Setting*

Variasi <i>Alendronate</i>	Volume (cm ³)		Perubahan Volume (cm ³)	Pengurangan Volume (%)
	Sebelum	Setelah		
0%	0,4730	0,4630	-0,0101	2,13
5%	0,4463	0,4351	-0,0112	2,50
7,5%	0,4704	0,4305	-0,0399	8,47
10%	0,3962	0,3676	-0,0286	7,23
12,5%	0,5200	0,4859	-0,0341	6,56
15%	0,4990	0,4950	-0,0040	0,80

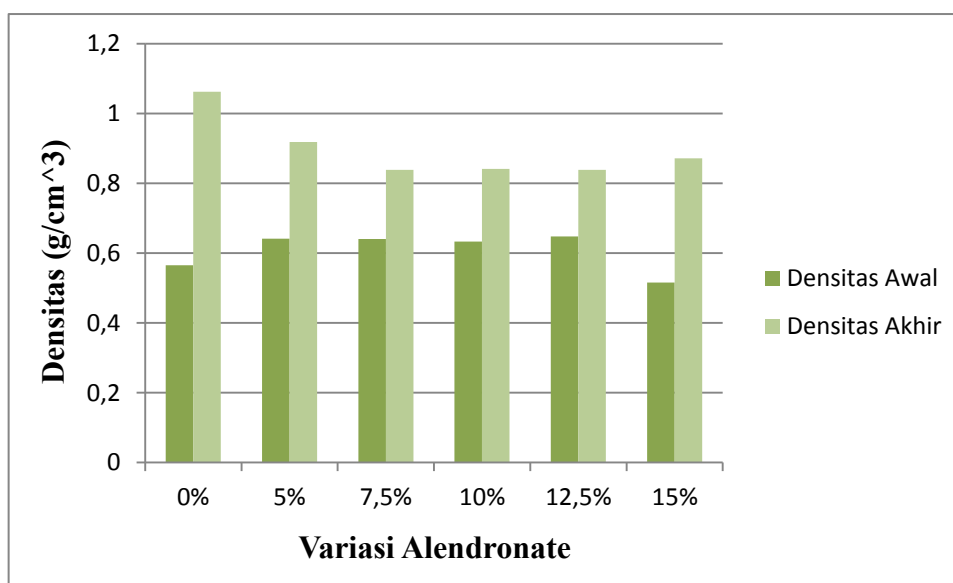
**Gambar 4.6** Perbandingan Volume Sebelum dan Sesudah *Setting*

Suspensi IBS ketika diinjeksikan tidak hanya mampu mengisi bagian yang keropos tetapi adanya gelatin sebagai pelekat atau tempat pijakan HA mampu mengikat HA tulang dengan HA dari IBS sehingga strukturnya menjadi lebih

padat. Hal ini juga mempengaruhi perubahan densitas (kerapatan) dari substrat HA. Kerapatan atau densitas dihitung dengan menggunakan persamaan (2.4). Hasil pengujian kerapatan disajikan pada Tabel 4.5 dan Gambar 4.7.

Tabel 4.5 Perubahan densitas Substrat HA Sebelum dan Setelah *Setting*

Variasi <i>Alendronate</i>	densitas(g/cm^3)		Perubahan densitas (g/cm^3)	Pertambahan densitas (%)
	Sebelum	Setelah		
0%	0,5651	1,0623	0,4972	88,00
5%	0,6411	0,9177	0,2766	43,15
7,5%	0,6401	0,8385	0,1984	30,99
10%	0,6325	0,8409	0,2084	32,95
12,5%	0,6475	0,8383	0,1908	29,46
15%	0,5152	0,8715	0,3563	69,15



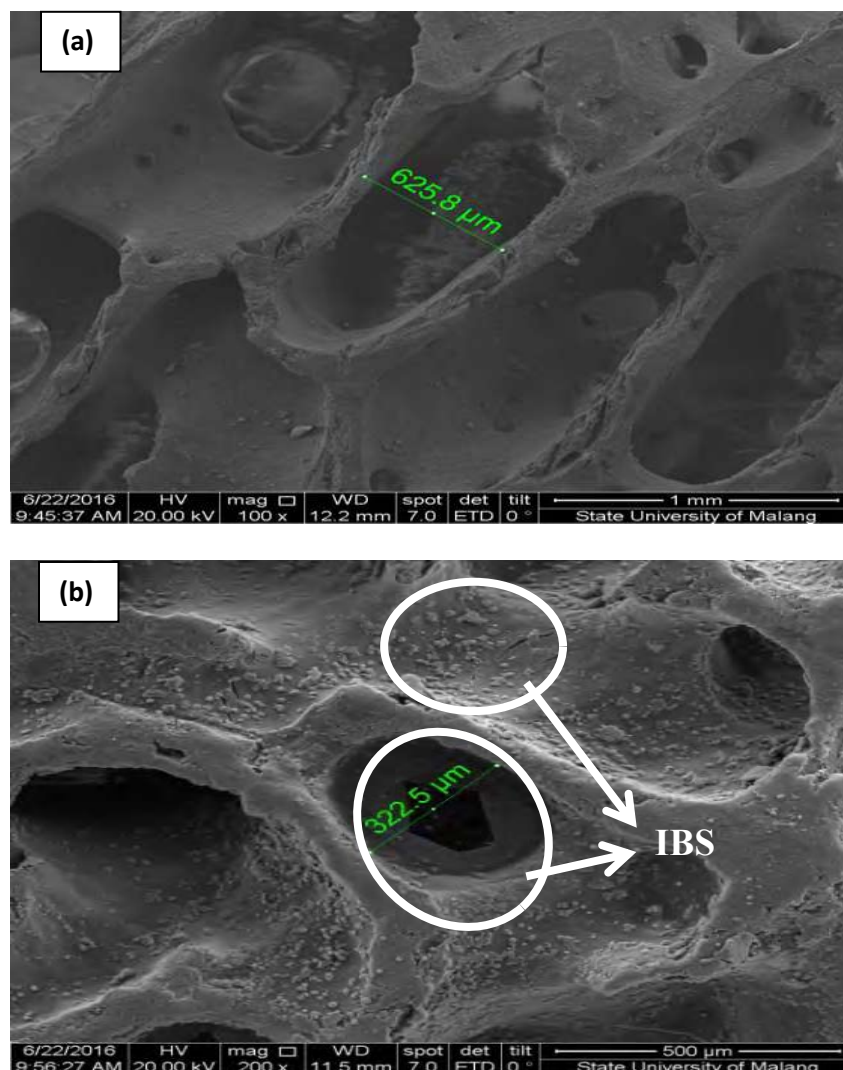
Gambar 4.7 Perbandingan Densitas Sebelum dan Sesudah Setting

Berdasarkan Tabel 4.5, secara umum substrat HA mengalami peningkatan densitas. Densitas mula-mula dari substrat HA mempunyai nilai (0,5152 – 0,6475) g/cm³ yang sesuai dengan nilai densitas untuk tulang keropos (osteoporosis), sedangkan Densitas akhir dari substrat HA memiliki nilai (0,8383 – 1,0623) g/cm³ yang sesuai dengan nilai densitas untuk tulang normal. Densitas tulang normal manusia menurut Susan (2002), densitas tulang normal manusia sebesar >0,833 g/cm³, sedangkan densitas tulang yang mengalami osteoporosis sebesar <0,648 g/cm³. Oleh karena itu, kasus osteoporosis atau pengeroposan tulang dapat diatasi dengan suspensi IBS. Hal ini dapat dibuktikan dengan terjadinya setting yang dilihat pada peningkatan massa dan densitas substrat HA. Substrat HA sebelum dan setelah mengalami *setting* kemudian diujikan dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk mengetahui perubahan morfologi permukaannya secara mikroskopik.

4.2.4 Uji *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Uji Scanning Electron Microscopy (SEM) digunakan untuk membuktikan sampel IBS mampu setting dengan melihat morfologi permukaannya seperti pada Gambar 4.8. Hasil *scanning* substrat HA murni atau sebelum setting terlihat permukaannya halus dan memiliki ukuran pori yang cukup besar. Sedangkan, hasil *scanning* Substrat HA setelah setting permukaannya terselimuti oleh sampel IBS yang ditunjukkan dengan adanya bintik-bintik kecil yang menempel pada dinding dan bentuk pori yang dihasilkan lebih kecil. Bintik-bintik ini diindikasikan sebagai hidroksiapatit yang berasal dari sampel IBS. Hidroksiapatit mampu

setting atau menempel dengan substrat HA karena adanya ikatan kalsium dalam tulang. Ukuran pori sebelum setting menunjukkan nilai pada kisaran 153 μm hingga 625,8 μm . Ukuran pori ini mengecil setelah substrat HA disuntikkan oleh sampel IBS, yaitu pada kisaran 247,4 μm hingga 480,8 μm . Hal ini menunjukkan bahwa sampel IBS mampu masuk ke dalam pori-pori substrat dan mengikat hidroksiapatit yang ada di sekitarnya.

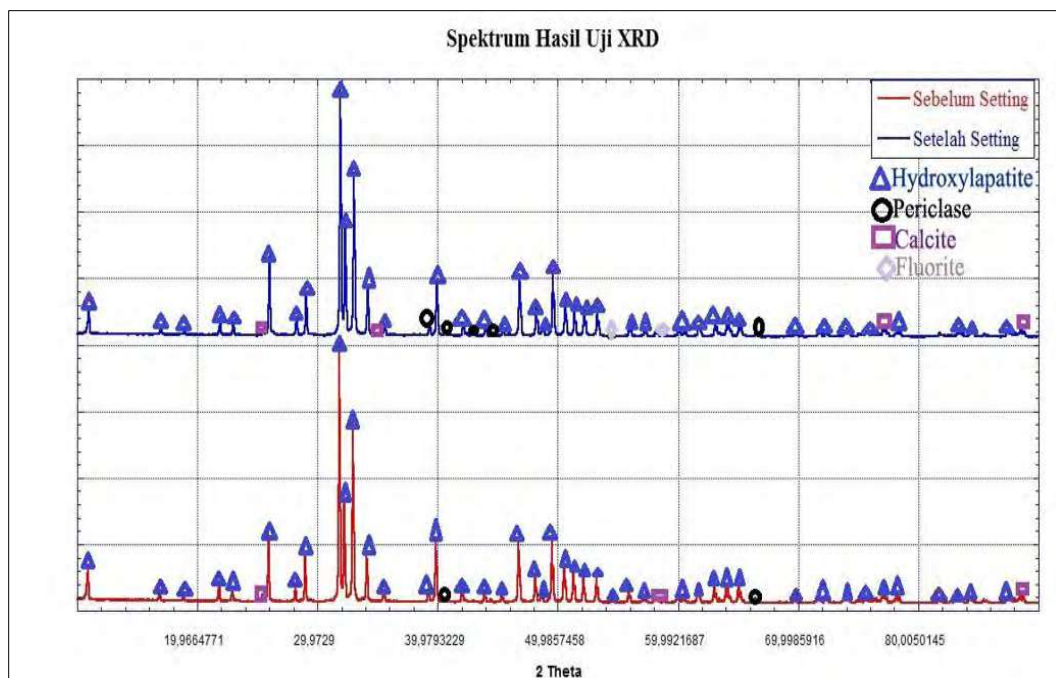


Gambar 4.8 (a) Hasil uji SEM Substrat HA sebelum Setting **(b)** Hasil uji SEM Substrat HA setelah Setting

Setelah sampel IBS terbukti *setting* yang dilihat dari peningkatan massa dan dansitas hasil uji pengerasan serta morfologi permukaan dan ukuran pori hasil uji SEM, maka diperlukan karakterisasi berikutnya yakni uji XRD yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan HA yang terbentuk dan derajat kristalinitas.

4.2.5 Uji X-Ray Diffraction (XRD)

X-ray diffraction (XRD) digunakan untuk mengidentifikasi derajat kristalinitas dan kandungan hidroksiapatit yang terbentuk. Data yang diperoleh dari metode karakterisasi XRD adalah berupa grafik sudut hamburan (sudut Bragg) terhadap intensitas. Berdasarkan hasil uji XRD diketahui kandungan hidroksiapatit yang terbentuk dari substrat HA sebelum dan sesudah dilakukan uji *setting time* yang ditunjukkan pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 (a) Spektrum XRD Substrat HA **(b)** Spektrum XRD Substrat HA dengan IBS

Tabel 4.6 Fasa yang Terbentuk dan Derajat Kristalinitas dari Hasil XRD

Nama Sampel	Fasa yang Terbentuk				Derajat Kristalinitas
	Hydroxylapatite $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	Periclase MgO	Calcite CaCO_3	Fluorite CaF_2	
Substrat HA / sebelum <i>setting</i>	99,15%	0,25%	0,59%	0,01%	82,36%
Substrat HA + IBS / setelah <i>setting</i>	99,50%	0,11%	0,39%	0,00%	81,51%

Berdasarkan Gambar 4.9 dapat dibuat tabel fasa yang terbentuk dan nilai derajat kristalinitas seperti yang ditunjukkan Tabel 4.6. Pada Tabel 4.6 terlihat hasil analisis XRD menunjukkan bahwa fasa yang terbentuk paling besar adalah hidroksiapatit. Hasil fasa hidroksiapatit setelah *setting* lebih banyak dari pada sebelum *setting* atau substrat HA murni. Hal ini disebabkan karena sampel IBS berbasis hidroksiapatit-gelatin yang diinjeksikan pada substrat HA mengandung hidroksiapatit juga sehingga fasa HA yang terbentuk setelah *setting* menjadi meningkat. Selain itu, terdapat fasa-fasa lain yang terbentuk dari hasil yang didapatkan, namun keberadaan fasa ini tidak membahayakan bagi tubuh karena memiliki prosentase yang kecil serta masih termasuk unsur yang terdapat pada tulang manusia. Selain untuk menentukan fase yang terbentuk, hasil uji XRD juga dapat menentukan kristalinitas dari sampel.

Kristalinitas dihitung dengan menggunakan persamaan 2.6 dan 2.7 Berdasarkan Tabel 4.6 dapat dikatakan bahwa kristalinitas HA murni atau substrat HA yang belum dilakukan uji *setting time* memiliki derajat kristalinitas yang cukup tinggi karena termasuk golongan keramik dan belum terkontaminasi dengan bahan lain. Sedangkan substrat HA sesudah setting memiliki derajat kristalinitas lebih rendah karena sudah diinjeksi dengan sampel IBS. Hal ini disebabkan karena yang *setting* itu adalah bahan komposit yang ada HPMC dan gelatin yang merupakan polimer yang cenderung bersifat amorf sehingga derajat kristalinitasnya menurun. Material amorf memiliki kerapatan molekul yang lebih rendah daripada material kristalin sehingga pemecahan rantai kimia menjadi lebih mudah. Komposit yang diberi tambahan gelatin dan HPMC menyebabkan derajat kristalinitasnya menurun, hal ini dibuktikan oleh Warastuti dan Suryani (2013).

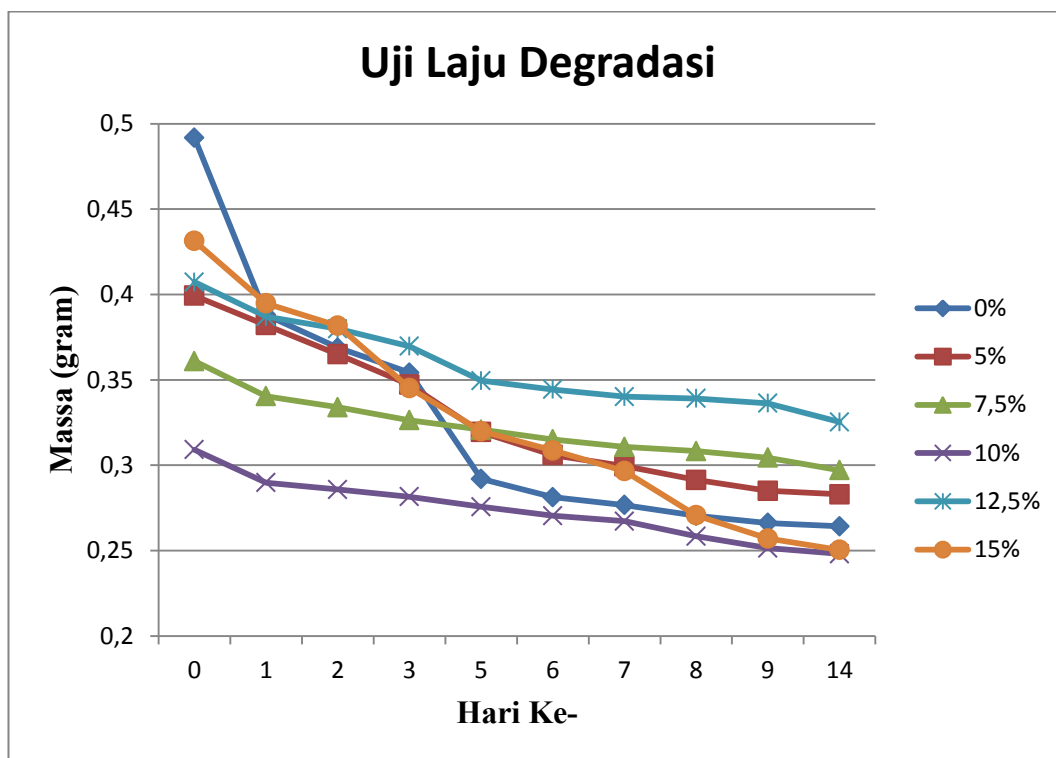
Penjelasan sebelumnya, yakni peningkatan massa dan densitas hasil uji *setting time*, terbentuknya lapisan IBS yang menyelimuti permukaan sampel hasil uji SEM serta peningkatan fasa hidroksiapatit yang terbentuk dan penurunan kristalinitas hasil uji XRD, membuktikan bahwa Suspensi IBS mampu *setting* pada substrat HA. Berikutnya akan dilakukan uji degradasi substrat HA yang telah setting dengan IBS untuk mengetahui laju degradasi IBS yang ditunjukkan dengan terjadinya penurunan massa setiap harinya. Nantinya hasil uji laju degradasi dapat menjadi rekomendasi untuk melakukan penyuntikan kembali sesuai kebutuhan.

4.3 Uji Laju Degradasi dengan *Simulated Body Fluid* (SBF)

Uji degradasi digunakan untuk memastikan suspensi IBS ketika diaplikasikan ke dalam tubuh dapat mengalami degradasi karena berinteraksi dengan cairan yang ada di dalam tubuh. Uji degradasi menggunakan substrat HA yang telah setting dengan suspensi IBS dengan cara direndam selama 10 menit kemudian dibiarkan kering secara alami. Setelah Substrat HA kering maka dapat dikatang sudah setting yang dibuktikan dengan karakterisasi sebelumnya. degradasi dilakukan dengan cara merendam substrat HA yang telah setting dengan larutan yang memiliki komposisi mirip cairan tubuh, yaitu larutan SBF. Substrat HA hasil *setting* direndam dalam larutan SBF selama 14 hari dan diukur perubahan massa setiap harinya. Larutan SBF memiliki range pH netral atau 7. Untuk menjaga kestabilan pH dari larutan SBF, maka dilakukan penggantian larutan SBF setiap 2 hari sekali. Alasan dilakukan uji degradasi selama 14 hari karena sesuai dengan Waktu yang dibutuhkan sel osteoblast untuk memulai proses *bone remodeling* adalah 2 minggu setelah terjadi pengeroposan. Laju degradasi sampel IBS dapat dibuat tabel yang ditunjukkan pada Tabel 4.7 serta digambarkan dalam bentuk grafik hubungan antara massa dengan waktu yang ditunjukkan pada Gambar 4.10. Pengukuran massa substrat HA menggunakan neraca digital dengan skala terkecil 0,0001 gram dan nilai ketidakpastian 0,00005 gram. Nilai ketidakpastian yang diperoleh dalam penelitian ini sama dengan ketidakpastian neraca digital karena pengukuran yang dilakukan merupakan pengukuran tunggal.

Tabel 4.7 Perubahan Massa IBS hasil Uji Laju Degradasi

Hari ke-	Massa (gram)					
	0%	5%	7,5%	10%	12,5%	15%
0	0,4918	0,3993	0,361	0,3091	0,4073	0,4314
1	0,3881	0,3821	0,3404	0,2898	0,387	0,3948
2	0,3688	0,365	0,334	0,2858	0,3799	0,3817
3	0,3542	0,3472	0,3264	0,2816	0,3697	0,3452
4	-	-	-	-	-	-
5	0,292	0,3194	0,3208	0,2757	0,3495	0,3199
6	0,2813	0,3059	0,3151	0,2704	0,3444	0,3087
7	0,2767	0,2995	0,3107	0,2672	0,3402	0,2966
8	0,2704	0,2914	0,3083	0,2584	0,3391	0,2707
9	0,2662	0,285	0,3044	0,2515	0,3363	0,2571
10	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-
14	0,2642	0,283	0,2971	0,2481	0,3253	0,2504



Gambar 4.10 Grafik Laju Degradasi IBS dengan Variasi Alendronate

Berdasarkan Gambar 4.10 laju degradasi sampel IBS tanpa penambahan *alendronate* menunjukkan bahwa penurunan massa terjadi tidak stabil. Hal ini ditunjukkan pada hari ke-1, degradasi yang ditunjukkan dengan penurunan massa terjadi cukup tinggi dengan selisih massa sebesar 0,1037g. Pada hari ke-2 hingga hari ke-14 terjadi penurunan massa yang cukup banyak. Akan tetapi, pada hari ke-9 massa substrat HA sudah menunjukkan lebih rendah daripada massa awal substrat sebelum *setting* sehingga diindikasikan bahwa sampel IBS dalam substrat sudah habis. Oleh karena itu, jika sampel IBS tanpa *alendronate* diinjeksikan maka dibutuhkan waktu injeksi kembali pada hari ke-8.

Laju degradasi sampel IBS dengan penambahan 5% *alendronate* yang ditunjukkan pada Gambar 4.10 menunjukkan penurunan massa yang sedikit stabil dikarenakan sudah ada penambahan *alendronate* sehingga laju degradasinya dapat

dikendalikan. Pada hari ke-1 hingga hari ke-3, degradasi cukup stabil dengan selisih massa sekitar 0,0171 g hingga 0,0178 g, sedangkan degradasi pada hari ke-6 hingga ke-14 terjadi kestabilan penurunan massa. Kestabilan ini terjadi karena adanya penambahan *alendronate* pada sampel IBS. Akan tetapi, pada hari ke-9 massa substrat HA sudah menunjukkan massa lebih kecil daripada massa awal substrat sebelum *setting* sehingga diindikasikan bahwa sampel IBS dalam substrat sudah habis. Oleh karena itu, jika sampel IBS dengan 5% *alendronate* diinjeksikan maka dibutuhkan waktu injeksi kembali pada hari ke-8.

Gambar 4.10 juga menunjukkan laju degradasi sampel IBS dengan penambahan 7,5% *alendronate* yang digambarkan dengan grafik hubungan perubahan massa terhadap waktu. Pada hari ke-1, degradasi yang ditunjukkan dengan penurunan massa yang cukup tinggi dengan selisih massa sekitar 0,0206 g. Pada hari ke-2 hingga ke-14, degradasi terjadi kestabilan penurunan massa. Hal ini terjadi karena adanya *alendronate* yang mampu berinteraksi dan berikatan dengan ion Ca^{2+} sehingga laju degradasi dapat dikendalikan dengan baik. Akan tetapi, pada hari ke-14 massa substrat HA sudah menunjukkan massa lebih kecil daripada massa awal substrat sebelum *setting* sehingga diindikasikan bahwa sampel IBS dalam substrat sudah habis. Oleh karena itu, jika sampel IBS dengan 7,5% *alendronate* diinjeksikan maka dibutuhkan waktu injeksi kembali pada hari sebelumnya atau hari ke-13.

Laju degradasi sampel IBS dengan penambahan 10% *alendronate* yang digambarkan dengan grafik hubungan perubahan massa terhadap waktu dan ditunjukkan pada Gambar 4.10. Pada hari ke-1, degradasi tidak terlalu tinggi

dengan selisih massa sekitar 0,0193 g. Pada hari ke-2 hingga ke-14, degradasi terjadi kestabilan penurunan massa sekitar <0,0058 g. Hal ini terjadi karena adanya *alendronate* yang mampu berinteraksi dan berikatan dengan ion Ca^{2+} sehingga laju degradasi dapat dikendalikan dengan baik. Selain itu, penambahan *alendronate* yang makin banyak pada sampel IBS mengakibatkan laju degradasinya membaik sehingga penurunan massa semakin sedikit dan stabil. Akan tetapi, pada hari ke-14 massa substrat HA sudah menunjukkan massa lebih kecil daripada massa awal substrat. Oleh karena itu, jika sampel IBS dengan 10% *alendronate* diinjeksikan maka dibutuhkan waktu injeksi kembali pada hari sebelumnya atau hari ke-13.

Selain itu, Gambar 4.10 juga menunjukkan laju degradasi sampel IBS dengan penambahan 12,5% *alendronate*. Pada hari ke-1, degradasi tidak terlalu tinggi dengan selisih massa sekitar 0,0203 g. Pada hari ke-2 hingga ke-14, degradasi terjadi kestabilan penurunan massa sekitar <0,0071 g. Akan tetapi, pada hari ke-9 massa substrat HA sudah menunjukkan massa lebih kecil daripada massa awal substrat. Seharusnya jika semakin banyak penambahan *alendronate* pada sampel IBS maka semakin baik pula laju degradasinya karena *alendronate* yang ada pada IBS mampu berinteraksi dan berikatan dengan ion Ca^{2+} yang ada pada substrat. Pada kenyataannya, hal ini tidak berlaku karena bisa diindikasikan bahwa IBS masih ada tetapi substrat HA mulai tergerus sehingga massanya menurun. Oleh karena itu, jika sampel IBS dengan 12,5% *alendronate* diinjeksikan maka dibutuhkan waktu injeksi kembali pada hari ke-8.

Grafik hubungan perubahan massa terhadap waktu yang ditunjukkan pada Gambar 4.10 juga menjelaskan laju degradasi sampel IBS dengan penambahan 15% *alendronate*. Pada hari ke-1, degradasi terjadi cukup tinggi dengan selisih massa sekitar 0,0366 g. Pada hari ke-2 hingga ke-14, degradasi tidak terjadi kestabilan penurunan massa. Hal ini terjadi karena komposisi *alendronate* yang banyak sehingga bersifat kuat dan mampu mengikat kalsium pada substrat sehingga ion-ion yang bebas ikut larut ke dalam SBF sehingga terjadi penurunan massa yang cukup tinggi. Akan tetapi, laju degradasi sampel IBS dengan 15% *alendronate* lebih baik dari pada IBS tanpa *alendronate*. Terbukti pada hari ke-9 massa substrat HA sudah menunjukkan massa sama dengan massa awal substrat sebelum *setting* sehingga diindikasikan bahwa sampel IBS dalam substrat sudah habis. Oleh karena itu, jika sampel IBS dengan 15% *alendronate* diinjeksikan maka dibutuhkan waktu injeksi kembali pada hari ke-9.

Berdasarkan literatur atau teori, semakin banyak penambahan *alendronate* pada IBS dapat menurunkan laju degradasinya. Akan tetapi, hasil grafik yang ditunjukkan oleh Gambar 4.10 laju degradasi yang terjadi tidak sesuai dengan literatur. Laju degradasi mengalami penyimpangan setelah penambahan lebih dari 10% *alendronate* pada IBS yang menjadikan *alendronate* menjadi lebih kuat serta mengikat ion Ca^{2+} lebih banyak pada substrat HA yang telah *setting* sehingga banyak ion bebas yang larut ke dalam SBF. Oleh karena itu, penurunan massa meningkat.

Laju degradasi juga dapat dilihat dari tingkat kemiringan (gradien) yang dihasilkan dengan menggunakan persamaan regresi linier untuk membuktikan

kestabilan penurunan massa setiap waktunya. Laju degradasi IBS dalam tulang harus sesuai dengan waktu yang dibutuhkan *osteoblast* dalam *remodeling* tulang. Jika terlalu cepat maka tidak efektif karena IBS dengan *alendronate* membutuhkan waktu yang cukup untuk terjadinya *drug released*. Laju degradasi yang terbaik dilihat dari *slope* (kemiringan) rendah serta nilai linieritas tinggi untuk membuktikan kestabilan penurunan massanya. Perhitungan regresi linier menggunakan Ms.Excel sehingga diperoleh data yang ditunjukkan pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Data Persamaan Linier Hasil Uji Laju Degradasi

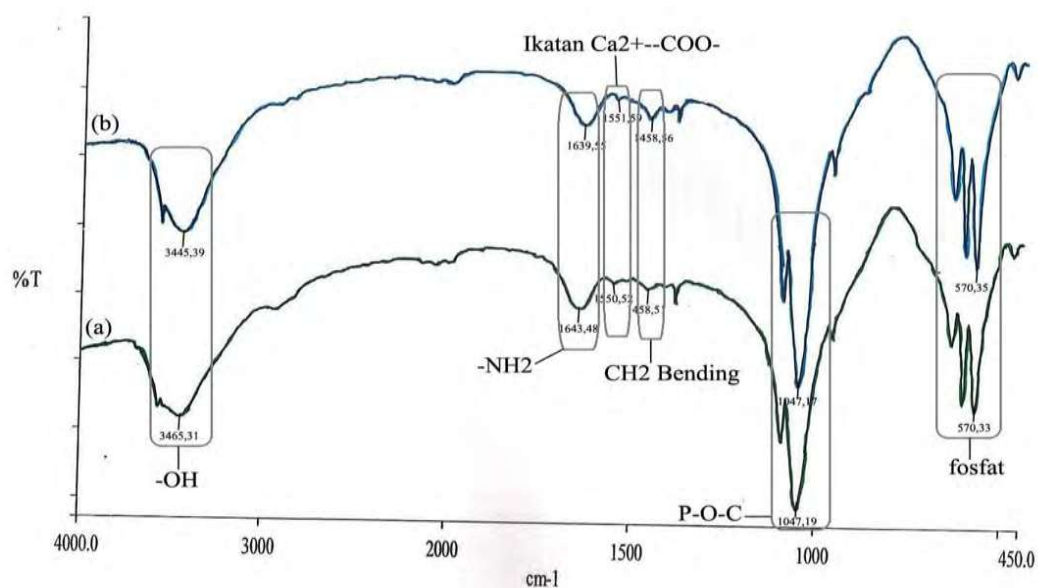
Variasi Alendronate	Persamaan (y)	Linieritas (R^2)
0%	$-0,0146x + 0,4054$	0,6876
5%	$-0,0092x + 0,3781$	0,8331
7,5%	$-0,0042x + 0,3448$	0,8519
10%	$-0,0042x + 0,2966$	0,8877
12,5%	$-0,0058x + 0,3896$	0,8513
15%	$-0,0136x + 0,4002$	0,8783

Tabel 4.8 menunjukkan tentang data persamaan regresi linier hasil uji laju degradasi. Persamaan yang dianalisis, yakni $y = mx + n$ dimana m adalah gradien dan R^2 menyatakan linieritas. Nilai $R^2=1$, artinya linier sempurna. Berdasarkan Tabel 4.8 dapat dijelaskan bahwa nilai gradien (m) yang terbaik dimiliki oleh suspensi IBS dengan penambahan 7,5% dan 10% *alendronate* sebesar 0,0042. Akan tetapi, IBS dengan penambahan 10% *alendronate* lebih baik dari pada IBS dengan penambahan 7,5 % *alendronate* yang dibuktikan pada nilai linieritas (R^2). Nilai linieritas IBS dengan penambahan 10% *alendronate* lebih

tinggi dari pada IBS dengan penambahan 7,5 % *alendronate*. Linieritas IBS dengan penambahan 10% *alendronate* sebesar 0,8877, sedangkan IBS dengan penambahan 7,5 % *alendronate* sebesar 0,8519. Nilai linieritas terendah dimiliki oleh suspensi IBS tanpa *alendronate* sebesar 0,6876. Linieritas menunjukkan tingkat laju degradasi yang optimal. Semakin linier maka laju degradasi semakin baik yang ditunjukkan dengan penurunan massa terjadi stabil. Oleh sebab itu, laju degradasi terbaik dimiliki oleh suspensi IBS dengan penambahan 10% *alendronate*.

Suspensi IBS berfungsi sebagai *bone substitution* dapat dikatakan mampu bekerja secara optimal untuk masuk ke dalam pori-pori tulang dan mengisi segmen-segmen tulang yang keropos. Tingkat degradasi dari sampel IBS ini berpengaruh pada karakteristiknya sebagai pembawa obat (*drug delivery*). Ditinjau dari kecepatan degradasinya, sampel IBS dengan penambahan *alendronate* yang sesuai cukup mampu mengatasi permasalahan tulang yang keropos akibat osteoporosis dan mampu berkerja sama dengan sel-sel *osteoblast* pada proses *bone remodeling*. Dalam hal ini, pemberian dosis obat menjadi hal yang sangat penting untuk diperhatikan agar diperoleh dosis obat yang aman dan tidak bersifat merusak bagi sel-sel di sekitarnya.

Substrat HA yang telah mengalami degradasi dikarakterisasi dengan FTIR untuk mengidentifikasi gugus fungsi bahan penyusun IBS. Uji ini dilakukan untuk melihat gugus fungsi yang hilang, baru terbentuk atau bergeser serta dapat menentukan luasan daya serap energi yang dibutuhkan oleh gugus fungsi. Hasil spektrum uji FTIR ditunjukkan pada gambar 4.11.

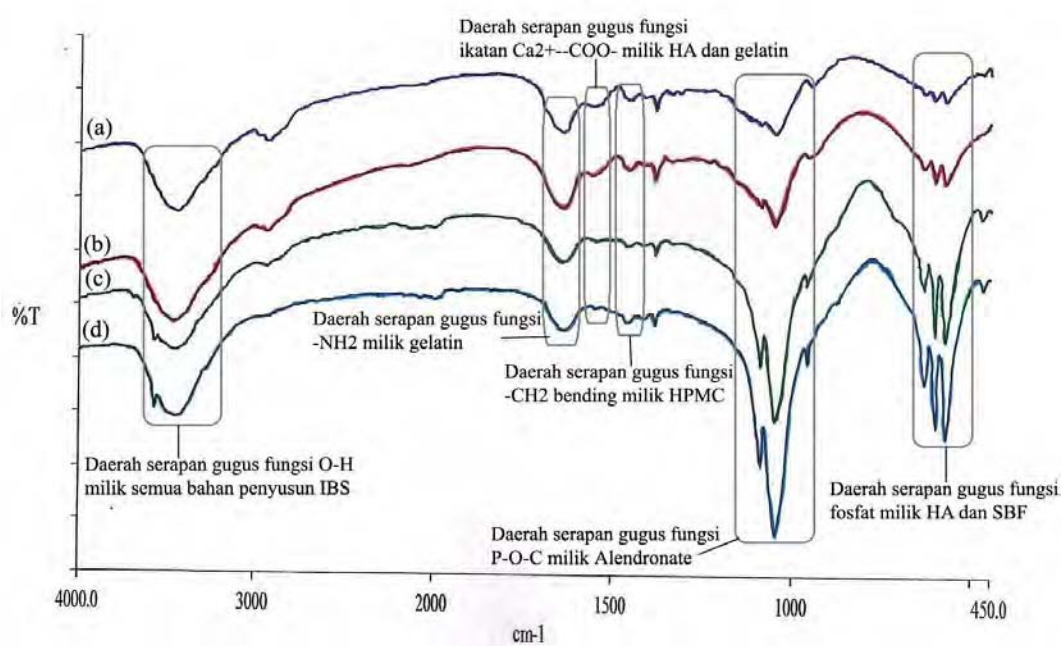


Gambar 4.11 (a) Spektrum FTIR sampel IBS Degradasi hari ke-5 **(b)** Spektrum FTIR sampel IBS Degradasi hari ke-14

Tabel 4.9 Daerah Serapan Gugus Fungsi Sampel IBS Degradasi hari ke-5 dan Hari Ke-14

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	
	Degradasi Hari ke-5	Degradasi Hari ke-14
Vibrasi regang OH (ikatan H intermolekuler)	3465,31	3445,39
Vibrasi regang NH ₂	1643,48	1639,55
Ikatan Ca ²⁺ --COO ⁻	1550,52	1551,59
Vibrasi tekuk CH ₂	1458,51	1458,56
Vibrasi regang P-O-C	1047,19	1047,17
Serapan Fosfat (PO ₄) ³⁻	570,33	570,35

Berdasarkan Gambar 4.11 dapat dibuat tabel serapan gugus fungsi seperti yang ditunjukkan Tabel 4.9. Pada Tabel 4.9 dapat dijelaskan bahwa karakterisasi FTIR menghasilkan ciri khas daerah serapan gugus fungsi dari bahan penyusun IBS. Hasil Analisis FTIR bertujuan untuk mengidentifikasi bahan-bahan penyusun IBS yang terbukti masih ada setelah dilakukan sintesis dan karakterisasi degradasi. Hal ini terbukti yang ditunjukkan pada Tabel 4.9 sehingga dapat dikatakan bahwa gugus fungsi ciri khas bahan penyusun IBS tidak hilang. Akan tetapi, terjadinya pergeseran gugus fungsi yang ditunjukkan pada gambar 4.12.



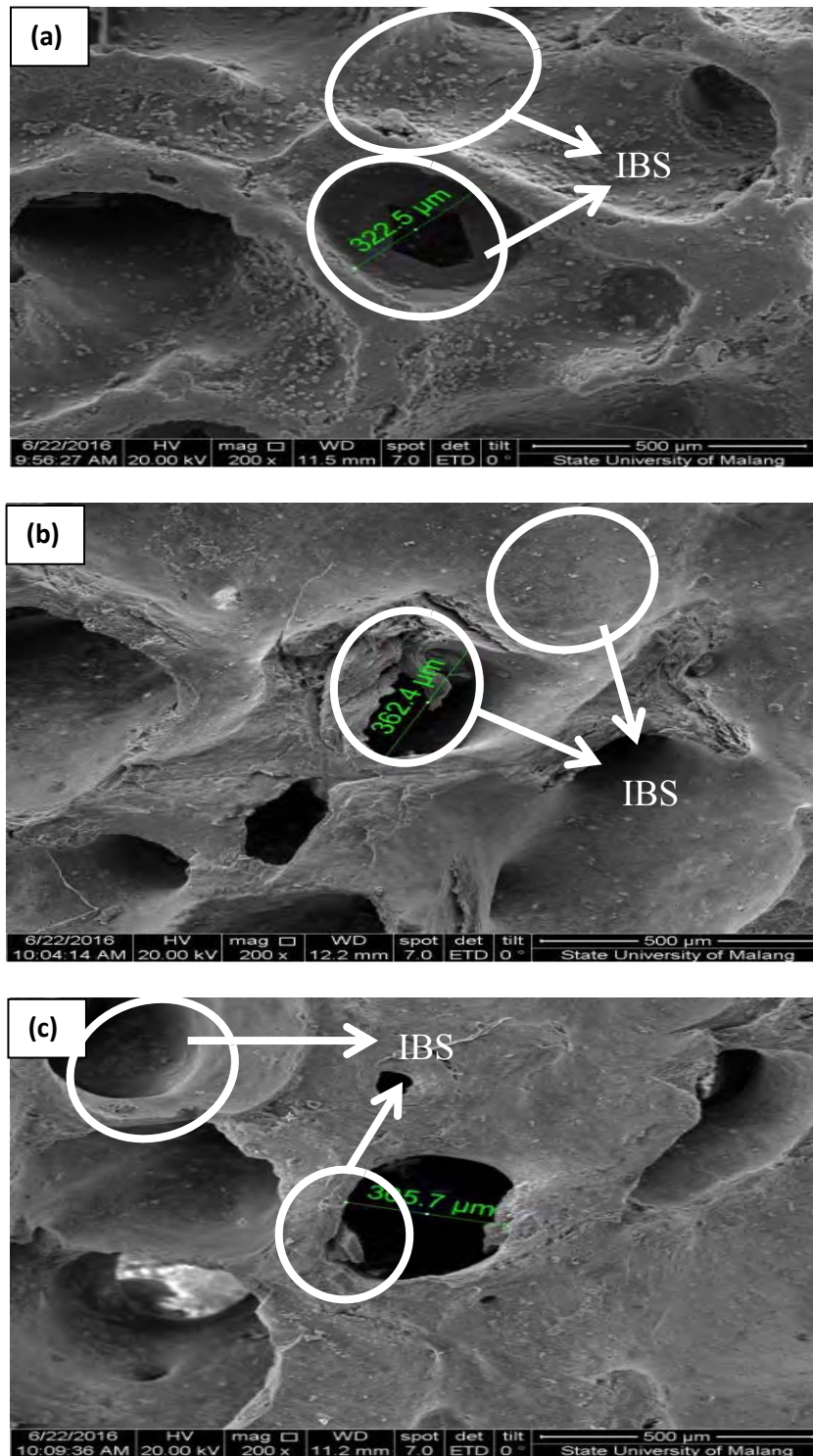
Gambar 4.12 (a) Spektrum FTIR Sampel IBS Tanpa *Alendronate* **(b)** Sampel IBS dengan Penambahan 10% *Alendronate* **(c)** Sampel IBS Degradasi Hari Ke-5 **(d)** Sampel IBS Degradasi Hari Ke-14

Gambar 4.12 menunjukkan daerah serapan gugus fungsi komponen penyusun suspensi IBS sebelum dan setelah dilakukan uji degradasi. Berdasarkan spektrum yang dihasilkan dapat dijelaskan bahwa terbentuk gugus fungsi O-H

milik semua bahan penyusun IBS pada bilangan gelombang $3700 - 3000 \text{ cm}^{-1}$, gugus fungsi $-\text{NH}_2$ milik gelatin pada bilangan gelombang $1700 - 1600 \text{ cm}^{-1}$, gugus fungsi ikatan $\text{Ca}^{2+}--\text{COO}^-$ milik HA dan gelatin pada bilangan gelombang $1562,57 - 1550,52 \text{ cm}^{-1}$ (Wang et al.), CH_2 bending milik HPMC pada bilangan gelombang $1450 - 1470 \text{ cm}^{-1}$, gugus fungsi P-O-C milik *alendronate* pada bilangan gelombang $1100-900 \text{ cm}^{-1}$ dan gugus fungsi fosfat milik HA dan SBF pada bilangan gelombang $700 - 450 \text{ cm}^{-1}$.

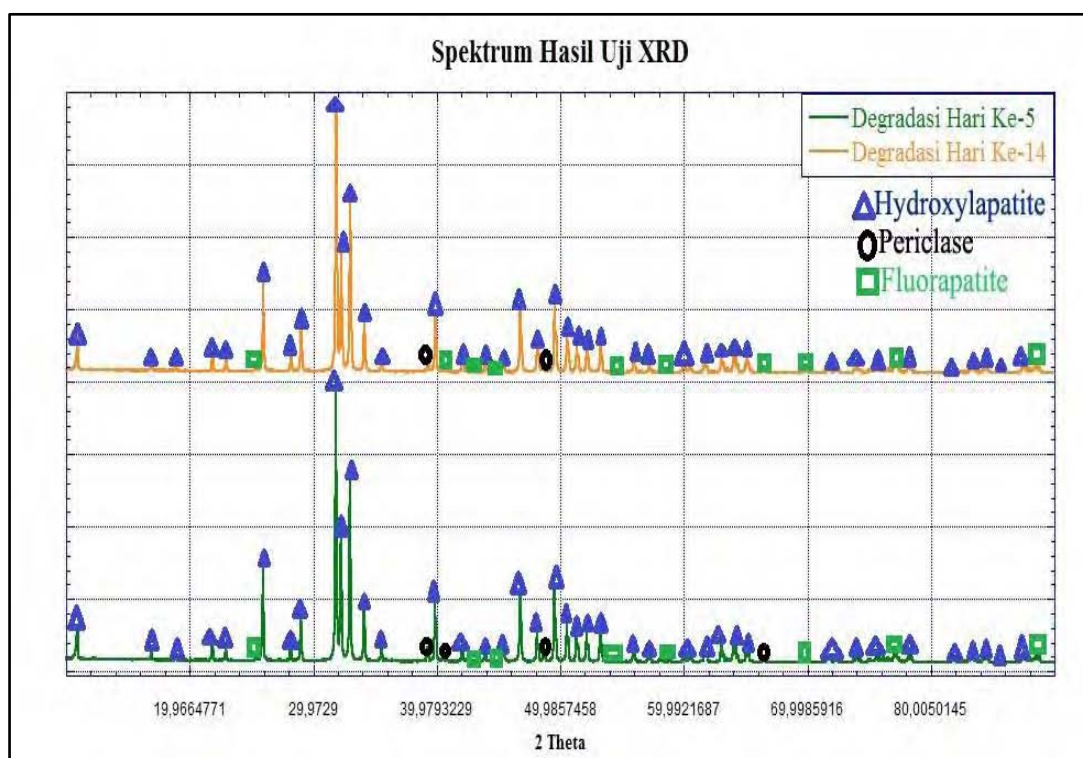
Pada Tabel 4.9 menunjukkan bahwa terjadinya pergeseran gugus fungsi akibat lama waktu perendaman dalam larutan SBF. Berdasarkan hasil Tabel 4.9 dapat dijelaskan bahwa gugus fungsi O-H bergeser ke kanan (ke arah bilangan gelombang kecil) hal ini terjadi karena ikatan antargugus semakin kuat sehingga untuk bervibrasi (gerak) membutuhkan energi yang lebih tinggi. Maka dari itu, diindikasikan bahwa IBS yang ada pada substrat HA sudah berkurang banyak serta terjadi ikatan dengan larutan SBF yang juga memiliki gugus fungsi O-H. Pergeseran gugus fungsi ke arah kanan juga terjadi pada gugus fungsi NH_2 dan gugus fungsi P-O-C sedangkan gugus fungsi lain sebaliknya. Gugus fungsi ikatan $\text{Ca}^{2+}--\text{COO}^-$ bergeser ke kiri (ke arah bilangan gelombang besar) hal ini terjadi karena ikatan antargugus semakin lemah sehingga untuk bervibrasi (gerak) membutuhkan energi yang lebih rendah. Maka dari itu, diindikasikan bahwa IBS yang ada pada substrat HA berkurang banyak akibat terdegradasi dalam larutan SBF. Pergeseran gugus fungsi ke arah kiri juga terjadi pada gugus fungsi CH_2 dan gugus fungsi $(\text{PO}_4)^{3-}$.

Substrat HA yang mengalami degradasi juga karakterisasi *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk mengetahui perubahan morfologi permukaannya secara mikroskopik. Berdasarkan hasil uji SEM diketahui ukuran pori *substrat* setelah uji degradasi hari ke-5 dan hari ke-14 yang ditunjukkan pada Gambar 4.13. Hasil *scanning* substrat HA setelah uji degradasi terlihat permukaannya sedikit halus tetapi masih memiliki bintik-bintik kecil yang menempel pada dinding yang diindikasikan sebagai sampel IBS. Berkurangnya sampel IBS yang menempel dikarenakan terjadi degradasi atau tergerus akibat perendaman dalam larutan SBF. Sampel IBS berbasis gelatin-hidroksiapatit dengan penambahan *alendronate* akan mudah berinteraksi langsung dengan larutan SBF. Gelatin merupakan polimer yang bersifat mudah larut dalam air sehingga sampel IBS yang menempel awalnya banyak menjadi berkurang. Pada sampel IBS gelatin diibaratkan sebagai rantai atau pegangan dari hidroksiapatit. Jika gelatin larut dalam larutan SBF maka hidroksiapatit akan mudah terlepas dari dinding substrat HA. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama dilakukan perendaman dalam larutan SBF maka jumlah sampel IBS yang menempel akan semakin sedikit hal ini dibuktikan pada hasil SEM Gambar 4.13. Selain itu, hasil *scanning* substrat HA setelah terdegradasi memiliki ukuran pori lebih besar daripada setelah setting. Ukuran pori pada degradasi hari ke-5 menunjukkan nilai pada kisaran 112,1 μm hingga 510,9 μm . Ukuran pori ini membesar pada degradasi hari ke-14, yaitu pada kisaran 115,7 μm hingga 524,5 μm . Hal ini disebabkan karena pori-pori yang awalnya tertutupi oleh sampel IBS menjadi terbuka setelah dilakukan perendaman dalam larutan SBF.



Gambar 4.13 (a) Hasil uji SEM Substrat HA degradsai hari ke-0
 (b) Hasil uji SEM Substrat HA degradsai hari ke-5 (c) Hasil uji SEM
 Substrat HA degradsai hari ke-14

Substrat HA yang mengalami degradasi juga dilakukan uji X-ray diffraction (XRD) untuk mengidentifikasi tingkat kristalinitas dan kandungan hidroksiapatit yang terbentuk. Berdasarkan hasil uji XRD diketahui kandungan hidroksiapatit yang terbentuk dari substrat HA yang terdegradasi yang dianalisis menggunakan *software match* ditunjukkan pada gambar 4.14.



Gambar 4.14(a) Spektrum XRD Degradasi Hari Ke-5 **(b)** Spektrum XRD

Degradasi Hari Ke-14

Tabel 4.10 Fasa yang Terbentuk dan Derajat Kristalinitas dari Hasil XRD

Substrat HA	Fasa yang Terbentuk			Derajat Kristalinitas
	Hidroksiapatit	Periclase	Flourapatit	
Degradasi Hari ke-5	99,08%	0,04%	0,87%	82,13%
Degradasi Hari ke-14	99,13%	0,10%	0,77%	82,57%

Berdasarkan Gambar 4.14 dapat dibuat tabel fasa yang terbentuk seperti yang ditunjukkan Tabel 4.10. Pada Tabel 4.10 terlihat hasil analisis XRD menunjukkan bahwa fasa yang terbentuk paling besar adalah hidroksiapatit. Hasil fasa hidroksiapatit degradasi hari ke-14 lebih banyak dari pada degradasi hari ke-5. Hal ini disebabkan karena sampel IBS berbasis hidroksiapatit-gelatin yang direndam dalam SBF yang juga memiliki komposisi kalsium yang cukup tinggi sehingga fasa HA yang terbentuk menjadi meningkat. Selain itu, terdapat fasa-fasa lain yang terbentuk dari hasil yang didapatkan, namun keberadaan fasa ini tidak membahayakan bagi tubuh karena memiliki prosentase yang kecil serta masih termasuk unsur yang terdapat pada tulang manusia. Selain untuk menentukan fase yang terbentuk, hasil uji XRD juga dapat menentukan kristalinitas dari sampel.

Kristalinitas dihitung dengan menggunakan persamaan 2.6 dan 2.7 sehingga diperoleh hasil sebagai berikut yang ditunjukkan pada Tabel 4.10. Berdasarkan Tabel 4.10 dapat dikatakan bahwa kristalinitas substrat HA degradasi hari ke-14 derajat kristalinitas lebih tinggi dibandingkan dengan substrat HA degradasi hari ke-5. Hal ini disebabkan karena HPMC dan gelatin yang ada didalam IBS diindikasikan sudah larut dalam SBF sehingga derajat kristalinitasnya meningkat. Selain itu, larutan SBF yang digunakan untuk perendaman memiliki kandungan unsur kalsium sehingga dapat berinteraksi dan berikatan dengan hidroksiapatit di dalam substrat HA.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

1. Variasi penambahan *alendronate* pada *Injectable Bone Substitute* (IBS) mempengaruhi laju degradasi.
2. Struktur morfologi hasil uji SEM menunjukkan suspensi IBS mengalami *setting* dan mampu menyelimuti permukaan substrat sehingga ukuran pori mengecil dari kisaran 153 – 625,8 μm menjadi 247,4 – 480,8 μm , sedangkan setelah uji degradasi terjadi perubahan ukuran pori dari 112,1 – 510,9 μm pada hari ke-5 menjadi 115,7 – 542,5 μm pada hari ke-14 dan didukung dengan data XRD yang menunjukkan derajat kristalinitas substrat HA setelah *setting* dari 82,56% turun menjadi 81,51% serta mengalami kenaikan dari 82,13% menjadi 82,57% setelah uji degradasi, demikian juga hasil FTIR menunjukkan pergeseran gugus fungsi.
3. Laju degradasi yang terbaik ditunjukkan pada *Injectable Bone Substitute* (IBS) dengan penambahan 10% *Alendronate*.

5.2 SARAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, dapat disarankan bahwa pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan uji *in vivo* pada hewan untuk mengetahui pengaruh obat *alendronate* secara langsung di tulang, khususnya pada tulang yang mengalami osteoporosis.

DAFTAR PUSTAKA

- Alviany, M. 2008. *Formulasi Suspensi Kering Yang Mengandung Ekstrak Akar Kucing (Achalypa Indica Linn)*. Skripsi. Depok: Universitas Indonesia.
- Allen, N. S. 1983. *Degradation and Stabilisation of Polyolefins*. London : Applied Science Publisher.
- Anonim. 2009. “*Scanning Electron Microscopy*”(online). (<https://Materialcerdas.wordpress.com/Teori-Dasar/Scanning-Electron-Microscopy/>, diakses pada tanggal 3 Desember 2015, pukul 3:00 WIB).
- Anonim. 2014. “*Study Shows Safe Bone Healing With Effective New Bone Ingrowth In Osteomyelitis Patients*”(online).(<http://www.opnews.com/2014/06/study-shows-safe-bone-healing-with-effective-new-bone-ingrowth-in-osteomyelitis-patients/7101>, diakses pada tanggal 3 Desember 2015, pukul 3:30 WIB).
- Askarzadeh Et Al. 2004. *Fabrication And Characterization Of A Porous Composite Scaffold Based On Gelatin And Hydroxyapatite For Bone Tissue Engineering*, Iranian Polymer Journal 14 (6), Tehran, Iran:511-520.
- Bohner, M and Lemaitre, J. 2009. *Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution?*, Biomaterials. 30 (12). 2175-2179.
- Bohner, M. 2010. *Design Of Ceramic-Based Cements And Putties For Bone Graft Substitution*. Switzerland: Woodhead Publising Limited: Injectable Biomaterial.
- Borromeo GL, Tsao CE, Darby IB, Ebeling PR. 2011. *A Review Of The Clinical Implications Of Bisphosphonates In Dentistry*. Aust Dent J;56:2-9.
- Cameron. 2006. *Fisika Tubuh Manusia*. Jakarta:EGC.
- Chaplin, M. 2012. *Gelatin*. England And Wales Lisence. Lsbu.Ac.Uk. 10 November 2015
- Grffiths.P.R. 1975. *Chemical Infrared Fourier Transform*. Toronto : John Willey & SMS.
- Hajar, Siti. 2014.”*Penyembuhan Tulang*”(online).([Http://Medrecov.blogspot.com/2014/09/Penyembuhan-Tulang.Html](http://Medrecov.blogspot.com/2014/09/Penyembuhan-Tulang.Html), diakses pada tanggal 3 Desember 2015, pukul 4:00 WIB).

- Ichsan, M. Z. 2012. *Sintesis Makroporus Komposit Kolagen-Hidroksiapatit Sebagai Kandidat Bone Graft*. Skripsi. Surabaya: Universitas Airlangga.
- KOKUBO,T. 1991. *Bioactive Glass Ceramics: Properties And Applications, Biomaterials*.12,155-163.
- KOKUBO,T.And TAKADAMA,H. 2006. *How Useful Is SBF In Predicting In Vivo Bone Bioactivity?*, *Biomaterials*, 27(15),2907-2915.
- Kuncoro, Sucipto. 2015. “Apa Itu Osteoporosis: Penyebab, Gejala Dan Pengobatannya”(online).(Http://Www.Pasiensehat.Com/2015/01/Pengertian-Penyakit-Osteoporosis-Gejala-Pengobatan.Html, diakses pada tanggal 10 November 2015, pukul 7:00 WIB).
- Laitinen, O., Tormala, P., Taurio, R., Skutnabb, K., Saarelainen, K., Iivonen, T., Dan Vainionpaa, S. 1992. *Mechanical Properties Of Biodegradable Ligament Augmentation Device Of Poly(L-Lactide) In Vitro And In Vivo*. *Biomaterials*, 13, Hal. 1012–1016.
- Maulida, Hendita Nur. 2015. *Komposit Hidroksiapatit-Gelatin-Streptomisin Sebagai Pasta Injectable Bone Substitute Pada Kasus Tuberkulosis Tulang Belakang*. Skripsi. Surabaya:Universitas Airlangga.
- Monologas SC, 2000. *Birth And Death Of Bone Celle: Basic Regulatory Mechanisms And Implications For The Pathogenesis And Treatment Of Osteoporosis*. *Endocrin Reviews* 21(2): 115-137.
- Mulder, M. 1996. *Basic Principles Of Membrane Technology*, 2nd ed. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht.
- Muller R.J. 2005. *Biodegradability of Polymers : Regulations and Methods for Testing*. Standard Article. Wiley – VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Murray RK, 2003. *Hormone Action And Signal Transduction In Harper’s Illustrated Biochemistry*. *Mc Grow Hill* :Pp 456-473.
- Narbat, K. M., Orang F., Hashtjin, M. S., and Goudarzi, A..2006. *Fabrication of Porous Hydroxyapatite-Gelatin Composite Scaffold for Bone Tissue Engineering*. *Iranian Biomedical Journal* 10 (4). Iran: 215-223.
- Ockerman HW And Hansen CL. 2000. *Animal By Product Processing And Utilization*
- Park, J. 2008. *Bioceramics: Properties, Characterization And Applications*. USA: Springer Bussiness And Media.

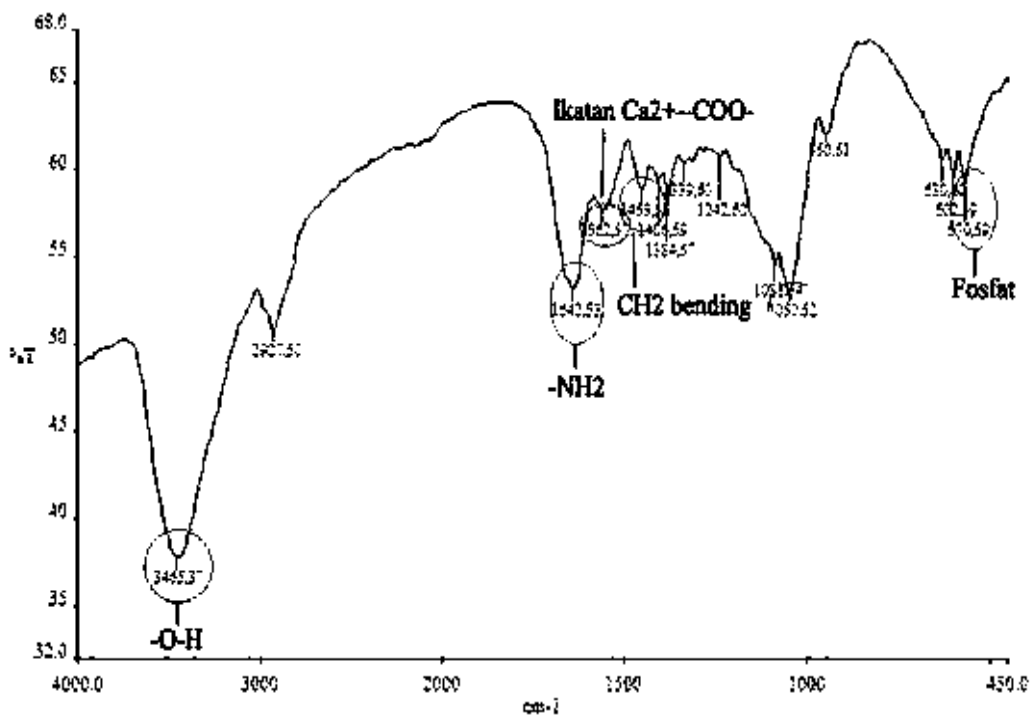
- Paxton, M. J. W. 1986. *Endocrinology: Biological and medical perspectives*. WC. Brown Publishers: Dubuque, Iowa.
- Pramesti, R. 2011. *Fabrikasi Komposit Kalsium Fosfat – Kitosan Untuk Aplikasi Orthopedic dan Dental*. Universitas Airlangga.
- Putra, Alfian Pramudita. 2014. *Sintesis dan Karakterisasi Suspensi Komposit Hidroksiapatit-Gelatin dengan Penambahan Alendronate sebagai Injectable Bone Substitute*. Skripsi. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Putri, Arum Nur Kartika. 2013. *Perbedaan Waktu Setting Semen Alpha Tricalcium Phosphate (A-TCP) Pada Penggunaan Cairan Disodium Hydrogen Phosphate (Na_2HPO_4) Dan Sodium Dihydrogen Phosphate ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$)*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Rabek, F., Jan, and Wiley. 1980. *Experimental Methods In Polymer Chemistry*. New York: 861 Pp.
- Robling AG, Castillo AB, Turner CH. 2006. Biomechanical and Molecular Regulation of Bone Remodeling. *Anual. RivIEWS Biomed Eng* 8: 455-498.
- Rosyta, Ivana. 2015. *Pengaruh Variasi Substrat Terhadap Sifat Fisik Injectable Bone Substitute (IBS)*. Skripsi. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Sahoo, S., Chakraborti, C. K. And Behera, P. K. *Spectroscopic Investigation Internal Journal Of Pharmaceutic* Vol. 4(3), India:1-8.
- Schechter, I., Barzilai, I. And Bulatov, V. 1997. *Online Remote Prediction of Gasoline Properties by Combined Optical Method*. *Ana. Chim. Acta.* 339. P, 193-199.
- Shen, Z., Tao Y. and Jiandong Ye. 2014. *Microstructure and Properties of Alendronate-Loaded Calcium Phosphate Cement*. *Materials Science and Engineering C* 24:303-311.
- Shi, X., Wang, Y., Ren, L., Gong, Y., And Wang, D. A.M. 2008. *Enhancing Alendronate Release From A Novel PLGA/Hydroxyapatite Microspheric System For Bone Repairing Applications*. *Pharmaceutical Research*, Vol. 26, No. 2, China:422-430.
- Sitorus, M. 2009. *Spektroskopi (Elusidasi Struktur Molekul Organik)*. Yogyakarta: Graha Ilmu. Halaman 78.

- Suchanek, W., Dan Yoshimura, M. 1998. *Processing And Properties Of Hydroxyapatite-Based Biomaterials For Use As Hard Tissue Replacment Implants*. Journal Of Material Research, Vol. 13, No. 1, Pp 94-115.
- Sudaryanto et al. 2006. *Studi In Vitro Biodegradasi Microsphere Polilaktat*. Jurnal Sains Materi Indonesia Vol 7 No.2 Februari 2006 Hal 37-42 ISSN:1411-1098. Banten: BATAN.
- Susan, M, Ott, MD. 2002. *Osteoporosis and Bone Physiology*. University of Wasington.
- Syaifudin. 2001. *Fungsi Sistem Tubuh Manusia*. Jakarta:Widya Medika.
- Tahid. 1994. *Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier No II Th VIII*. Bandung : Warta Kimia Analitis.
- Tandra H. 2009. *Osteoporosis*. Jakarta. PT Gramedia Pustaka Utama.
- Temenoff J.S., Dan Mikos A.G., 2008. *Biomaterial The Insection Of Biology And Materials Science*. New Jersey: Pierson Education, Inc.
- Trihapsari, E. 2009. *Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Densitas Mineral Tulang Wanita ≥ 45 Tahun Di Departemen Pendidikan Nasional, Jakarta Pusat Tahun 2009*. Skripsi. Depok: Universitas Indonesia.
- Turhanen, Petri A. And Jouko J Vepsalainen. 2006. *Synthesis Of Novel (1-Alkanoyloxy-4-Alkanoylaminobutylidene)-1,1-Bisphosphonic Acid Derivatives*. Beilstein Journal Of Organic Chemistry. Finland.
- Utari, Tita R. 2011. *Biphosponate: Brief Review of Its Development for Usage In Dentistry*. Journal of Dentistry Indonesia Vol 18 No 1:21-26 . Yogyakarta.
- Wang, F., Guo, E., Song, E., Zhao, P. and Liu, J. 2010. *Structure and Properties of Bone-Like Nanohydroxyapatite/Gelatin/Polyvinyl Alcohol Composites*. Advances in Bioscience and Biotechnology (1). China: 185-189.
- Warastuti, Yessy Dan Basril Abbas. 2011. *Sintetis Dan Karakterisasi Pasta Injectable Bone Substitute Iradiasi Berbasis Hidroksiapatit*. Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop Dan Radiasi Vol 7 ISSN 1907-0322(73-81). Jakarta: BATAN.

- Warastuti, Yessy Dan Nani Suryani. 2013. *Karakteristik Degradasi Dari Biomaterial Poli-(Kaprolakton-Kitosan-Hidroksiapatit)Iradiasi Dalam Larutan Simulated Body Fluid*. Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop Dan Radiasi Vol 9 No.1 Juni 2013 ISSN 1907-0322(11-22). Jakarta:BATAN.
- Weiss, P., Gauthier, O., Bouler, J. M., Grimandi, G. And Daculsi, G. 2007. *Injectable Bone*.
- Yudiono, H. 2003. *Karakteristik Fisikokimia Gelatin Hasil Perendaman Tulang Sapi Dalam Campuran $Ca(OH)_2$ - $CaCl_2$* . Bogor: Institut Pertanian Bogor.

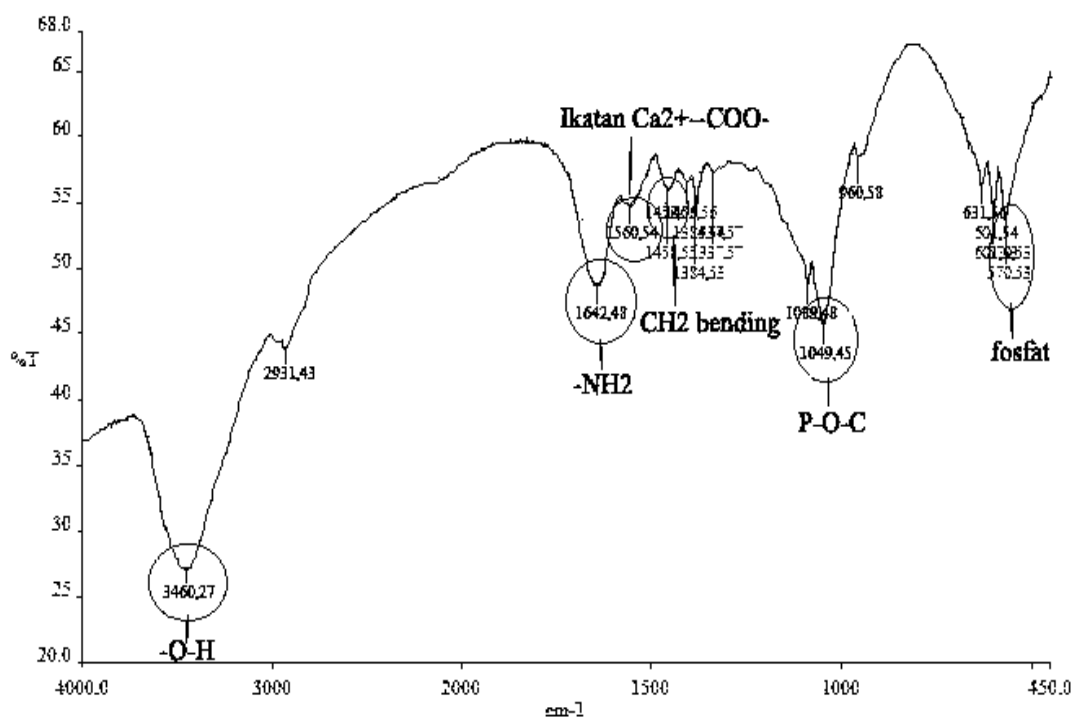
LAMPIRAN-LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Hasil Uji FTIR

Hasil analisa uji FTIR suspensi IBS penambahan 0% *alendronate*

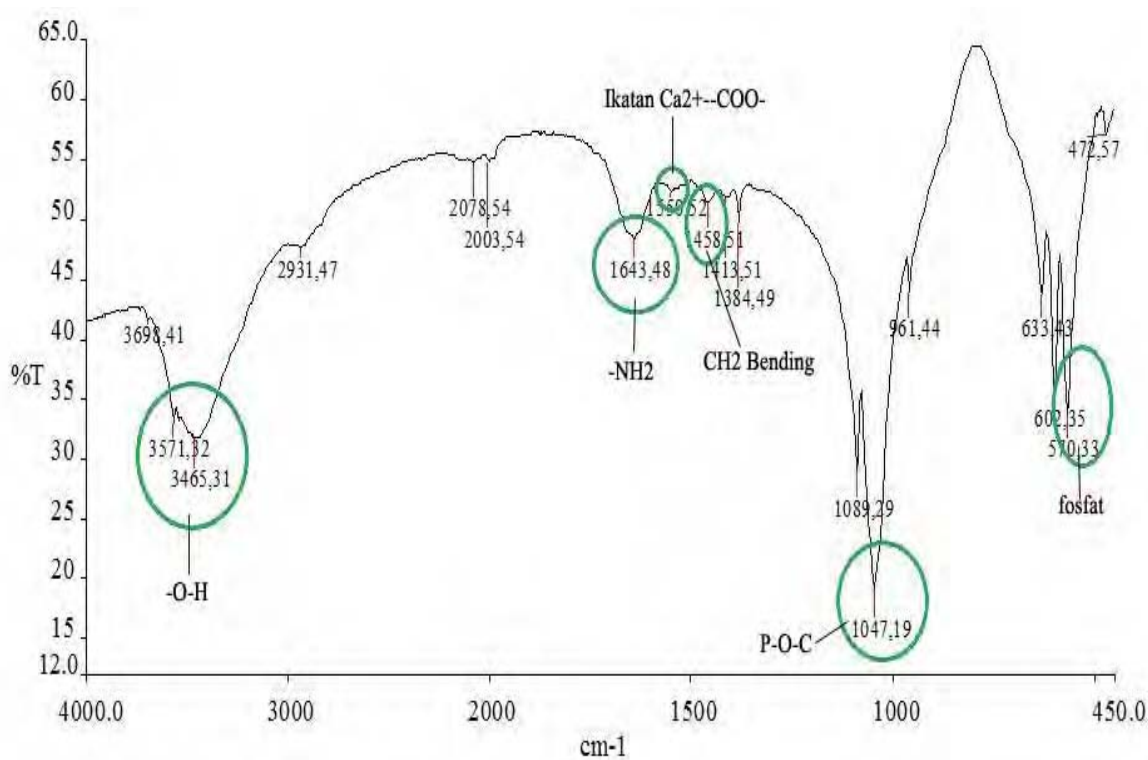
Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)
Vibrasi regang OH (ikatan H intermolekuler)	3465,37
Vibrasi regang NH ₂	1642,53
Ikatan Ca ²⁺ --COO ⁻	1562,57
Vibrasi tekuk CH ₂	1453,58
Serapan Fosfat (PO ₄) ³⁻	570,59

Hasil analisa uji FTIR suspensi IBS penambahan 10% *alendronate*



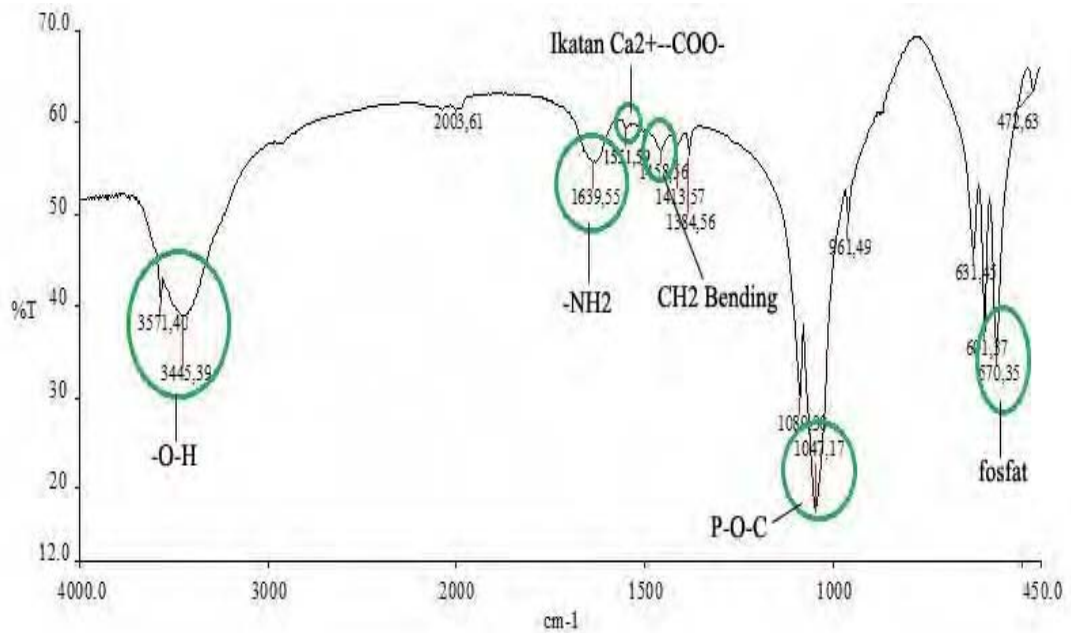
Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)
Vibrasi regang OH (ikatan H intermolekuler)	3465,27
Vibrasi regang NH ₂	1642,48
Ikatan Ca ²⁺ --COO ⁻	1560,54
Vibrasi tekuk CH ₂	1458,55
Vibrasi regang P-O-C	1049,45
Serapan Fosfat (PO ₄) ³⁻	570,53

Hasil analisa uji FTIR suspensi IBS Degradasi hari ke-5



Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)
Vibrasi regang OH (ikatan H intermolekuler)	3465,31
Vibrasi regang NH ₂	1643,48
Ikatan Ca ²⁺ --COO ⁻	1550,52
Vibrasi tekuk CH ₂	1458,51
Vibrasi regang P-O-C	1047,19
Serapan Fosfat (PO ₄) ³⁻	570,33

Hasil analisa uji FTIR suspensi IBS Degradasi hari ke-14



Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)
Vibrasi regang OH (ikatan H intermolekuler)	3445,39
Vibrasi regang NH ₂	1639,55
Ikatan Ca ²⁺ --COO ⁻	1551,59
Vibrasi tekuk CH ₂	1458,56
Vibrasi regang P-O-C	1047,17
Serapan Fosfat (PO ₄) ³⁻	570,35

LAMPIRAN 2. Hasil Uji Keasaman (pH)

No	Variasi Alendronate	Minggu Ke-			
		1	2	3	4
1	0%	7	7	7	7
2	5%	7	7	7	7
3	7,5%	7	7	7	7
4	10%	7	7	7	7
5	12,5%	7	7	7	7
6	15%	7	7	7	7

LAMPIRAN 3. Hasil Uji *Setting Time* (Waktu Pengerasan)**1) Pengukuran Waktu Pengerasan**

No	Variasi Alendronate	Waktu Pengerasan	
		(detik)	(menit)
1	0%	16.800	280
2	5%	14.580	243
3	7,5%	13.980	233
4	10%	13.080	218
5	12,5%	12.000	200
6	15%	11.160	186

Catatan: $\Delta t = 0,5 \text{ sekon} = 0,0083 \text{ menit}$

2) Pengukuran Massa Substrat HA Sebelum dan Setelah *Setting*

Variasi Alendronate	Massa (gram)		Perubahan Massa (gram) (Δm)	Pertambahan Massa (%)
	Sebelum (m_0)	Setelah (m_0)		
0%	0,2673	0,4918	0,2245	83,99
5%	0,2861	0,3993	0,1132	39,57
7,5%	0,3011	0,361	0,0599	19,89
10%	0,2506	0,3091	0,0585	23,34
12,5%	0,3367	0,4073	0,0706	20,97
15%	0,2571	0,4314	0,1743	67,79

Perhitungan Nilai Prosentase Pertambahan Massa Scaffold Setelah mengalami setting adalah sebagai berikut:

$$\text{Alendronate } 0\% = \frac{\Delta m}{m_0} \times 100\% = \frac{0,2245}{0,2673} \times 100\% = 83,99\%$$

$$\text{Alendronate } 5\% = \frac{\Delta m}{m_0} \times 100\% = \frac{0,1132}{0,2861} \times 100\% = 39,57$$

$$\text{Alendronate } 7,5\% = \frac{\Delta m}{m_0} \times 100\% = \frac{0,0599}{0,3011} \times 100\% = 19,89\%$$

$$\text{Alendronate } 10\% = \frac{\Delta m}{m_0} \times 100\% = \frac{0,0585}{0,2506} \times 100\% = 23,34$$

$$\text{Alendronate } 12,5\% = \frac{\Delta m}{m_0} \times 100\% = \frac{0,0706}{0,3367} \times 100\% = 20,97$$

$$\text{Alendronate } 15\% = \frac{\Delta m}{m_0} \times 100\% = \frac{0,1743}{0,2571} \times 100\% = 67,79$$

Catatan: ketidakpastian massa (Δm) = 0,00005 gram

3) Pengukuran Volume Substrat HA Sebelum dan Setelah *Setting*

1) Volume Substrat sebelum dilakukan Uji *Setting Time*

Variasi Alendronate	p (mm)	l (mm)	t (mm)
0%	$8,15 \pm 0,025$	$8,175 \pm 0,025$	$7,1 \pm 0,025$
5%	$7,4 \pm 0,025$	$8,15 \pm 0,025$	$7,4 \pm 0,025$
7,5%	$8 \pm 0,025$	$8 \pm 0,025$	$7,35 \pm 0,025$
10%	$7,025 \pm 0,025$	$8 \pm 0,025$	$7,05 \pm 0,025$
12,5%	$8 \pm 0,025$	$8,125 \pm 0,025$	$8 \pm 0,025$
15%	$7,2 \pm 0,025$	$8,35 \pm 0,025$	$8,3 \pm 0,025$

Keterangan : p = panjang substrat

l = lebar substrat

t = tinggi substrat

V = Volume substrat

Perhitungan Volume sebagai berikut:

$$V = V \pm \Delta V$$

$$V = p \times l \times t$$

$$\Delta V = \left| \frac{\partial V}{\partial p} \right| \Delta p + \left| \frac{\partial V}{\partial l} \right| \Delta l + \left| \frac{\partial V}{\partial t} \right| \Delta t$$

$$\left| \frac{\partial V}{\partial p} \right| = |l \times t|$$

$$\left| \frac{\partial V}{\partial l} \right| = |p \times t|$$

$$\left| \frac{\partial V}{\partial t} \right| = |p \times l|$$

Variasi Alendronate	$\partial V/\partial p$	Δp	$\partial V/\partial l$	Δl	$\partial V/\partial t$	Δt	ΔV (mm ³)	ΔV (cm ³)
0%	58,0425	0,025	57,8650	0,025	66,6263	0,025	4,5633	0,0046
5%	60,3100	0,025	54,7600	0,025	60,3100	0,025	4,3845	0,0044
7,50%	58,8000	0,025	58,8000	0,025	64,0000	0,025	4,5400	0,0045
10%	56,4000	0,025	49,5263	0,025	56,2000	0,025	4,0532	0,0041
12,50%	65,0000	0,025	64,0000	0,025	65,0000	0,025	4,8500	0,0049
15%	69,3050	0,025	59,7600	0,025	60,1200	0,025	4,7296	0,0047

Variasi Alendronate	V (mm ³)	V (cm ³)
0%	473,05 ± 4,5633	0,4730 ± 0,0046
5%	446,29 ± 4,3845	0,4463 ± 0,0044
7,50%	470,40 ± 4,5400	0,4704 ± 0,0045
10%	396,21 ± 4,0532	0,3962 ± 0,0041
12,50%	520,00 ± 4,8500	0,5200 ± 0,0049
15%	499,00 ± 4,7294	0,499 ± 0,0047

2) Volume Substrat setelah dilakukan Uji *Setting Time*

Variasi Alendronate	p (mm)	l (mm)	t (mm)
0%	8,05 ± 0,025	8,1 ± 0,025	7,1 ± 0,025
5%	7,4 ± 0,025	8 ± 0,025	7,35 ± 0,025
7,5%	7,4 ± 0,025	8,025 ± 0,025	7,25 ± 0,025
10%	7,025 ± 0,025	7,475 ± 0,025	7 ± 0,025
12,5%	8 ± 0,025	8,125 ± 0,025	7,475 ± 0,025
15%	7,1 ± 0,025	8,4 ± 0,025	8,3 ± 0,025

Keterangan : p = panjang substrat

l = lebar substrat

t = tinggi substrat

V = Volume substrat

Perhitungan Volume sebagai berikut:

$$V = V \pm \Delta V$$

$$V = p \times l \times t$$

$$\Delta V = \left| \frac{\partial V}{\partial p} \right| \Delta p + \left| \frac{\partial V}{\partial l} \right| \Delta l + \left| \frac{\partial V}{\partial t} \right| \Delta t$$

$$\left| \frac{\partial V}{\partial p} \right| = |l \times t|$$

$$\left| \frac{\partial V}{\partial l} \right| = |p \times t|$$

$$\left| \frac{\partial V}{\partial t} \right| = |p \times l|$$

Variasi Alendronate	$\partial V/\partial p$	Δp	$\partial V/\partial l$	Δl	$\partial V/\partial t$	Δt	ΔV (mm ³)	ΔV (cm ³)
0%	57,5100	0,025	57,1550	0,025	65,2050	0,025	4,4968	0,0045
5%	58,8000	0,025	54,3900	0,025	59,2000	0,025	4,3098	0,0043
7,50%	58,1813	0,025	53,6500	0,025	59,3850	0,025	4,2804	0,0043
10%	52,3250	0,025	49,1750	0,025	52,5119	0,025	3,8503	0,0039
12,50%	60,7344	0,025	59,8000	0,025	65,0000	0,025	4,6384	0,0046
15%	69,7200	0,025	58,9300	0,025	59,6400	0,025	4,7073	0,0047

Variasi Alendronate	V (mm ³)	V (cm ³)
0%	462,96 ± 4,4968	0,4630 ± 0,0045
5%	435,12 ± 4,3098	0,4351 ± 0,0043
7,50%	430,54 ± 4,2804	0,4305 ± 0,0043
10%	367,58 ± 3,8503	0,3676 ± 0,0039
12,50%	485,88 ± 4,6384	0,4859 ± 0,0046
15%	495,01 ± 4,7073	0,4950 ± 0,0047

1) Volume Substrat sebelum dilakukan Uji *Setting Time*a) *Alendronate 0%*

$$\begin{aligned} V &= p \times l \times t \\ &= 8,15 \times 8,175 \times 7,1 \\ &= 473,05 \text{ mm}^3 \end{aligned}$$

b) *Alendronate 5%*

$$\begin{aligned} V &= p \times l \times t \\ &= 7,4 \times 8,15 \times 7,4 \\ &= 446,29 \text{ mm}^3 \end{aligned}$$

c) *Alendronate 7,5%*

$$\begin{aligned} V &= p \times l \times t \\ &= 8 \times 8 \times 7,35 \\ &= 470,40 \text{ mm}^3 \end{aligned}$$

d) *Alendronate 10%*

$$\begin{aligned} V &= p \times l \times t \\ &= 7,025 \times 8 \times 7,05 \\ &= 396,21 \text{ mm}^3 \end{aligned}$$

e) *Alendronate 12,5%*

$$\begin{aligned} V &= p \times l \times t \\ &= 8 \times 8,125 \times 8 \\ &= 520,00 \text{ mm}^3 \end{aligned}$$

f) *Alendronate 15%*

$$\begin{aligned} V &= p \times l \times t \\ &= 7,2 \times 8,35 \times 8,3 \\ &= 499,00 \text{ mm}^3 \end{aligned}$$

2) Volume Substrat sebelum dilakukan Uji *Setting Time*a) *Alendronate 0%*

$$\begin{aligned} V &= p \times l \times t \\ &= 8,05 \times 8,1 \times 7,1 \\ &= 462,96 \text{ mm}^3 \end{aligned}$$

b) *Alendronate 5%*

$$\begin{aligned} V &= p \times l \times t \\ &= 7,4 \times 8 \times 7,35 \\ &= 435,12 \text{ mm}^3 \end{aligned}$$

c) *Alendronate 7,5%*

$$\begin{aligned} V &= p \times l \times t \\ &= 7,4 \times 8,025 \times 7,25 \\ &= 430,54 \text{ mm}^3 \end{aligned}$$

d) *Alendronate 10%*

$$\begin{aligned} V &= p \times l \times t \\ &= 7,025 \times 7,475 \times 7 \\ &= 367,58 \text{ mm}^3 \end{aligned}$$

e) *Alendronate 12,5%*

$$\begin{aligned} V &= p \times l \times t \\ &= 8 \times 8,125 \times 7,475 \\ &= 485,88 \text{ mm}^3 \end{aligned}$$

f) *Alendronate 15%*

$$\begin{aligned} V &= p \times l \times t \\ &= 7,1 \times 8,4 \times 8,3 \\ &= 495,01 \text{ mm}^3 \end{aligned}$$

3) Perubahan Volume Substrat HA Sebelum dan Setelah *Setting*

Variasi Alendronate	Volume (cm ³)		Perubahan Volume (cm ³) (ΔV)	Pengurangan Volume (%)
	Sebelum (V ₀)	Setelah (V ₁)		
0%	0,4730	0,4630	-0,0101	2,13
5%	0,4463	0,4351	-0,0112	2,50
7,5%	0,4704	0,4305	-0,0399	8,47
10%	0,3962	0,3676	-0,0286	7,23
12,5%	0,5200	0,4859	-0,0341	6,56
15%	0,4990	0,4950	-0,0040	0,80

Perhitungan Nilai Prosentase Pertambahan Massa Scaffold Setelah mengalami setting adalah sebagai berikut:

$$\text{Alendronate } 0\% = \frac{\Delta V}{V_0} \times 100\% = \left| \frac{-0,0101}{0,4730} \right| \times 100\% = 2,13\%$$

$$\text{Alendronate } 5\% = \frac{\Delta V}{V_0} \times 100\% = \left| \frac{-0,0112}{0,4463} \right| \times 100\% = 2,50\%$$

$$\text{Alendronate } 7,5\% = \frac{\Delta V}{V_0} \times 100\% = \left| \frac{-0,0399}{0,4704} \right| \times 100\% = 8,47\%$$

$$\text{Alendronate } 10\% = \frac{\Delta V}{V_0} \times 100\% = \left| \frac{-0,0286}{0,3962} \right| \times 100\% = 7,23\%$$

$$\text{Alendronate } 12,5\% = \frac{\Delta V}{V_0} \times 100\% = \left| \frac{-0,0341}{0,5200} \right| \times 100\% = 6,56\%$$

$$\text{Alendronate } 15\% = \frac{\Delta V}{V_0} \times 100\% = \left| \frac{-0,0040}{0,4990} \right| \times 100\% = 0,80\%$$

4. Pengukuran Densitas Substrat HA Sebelum dan Setelah *Setting*

1) Volume Substrat sebelum dilakukan Uji *Setting Time*

Variasi Alendronate	m (g)	V (cm ³)	ρ (g/cm ³)
0%	0,2673 ± 0,00005	0,4730 ± 0,0046	0,5651 ± 0,0056
5%	0,2861 ± 0,00005	0,4463 ± 0,0044	0,641 ± 0,0064
7,50%	0,3011 ± 0,00005	0,4704 ± 0,0045	0,6401 ± 0,0062
10%	0,2506 ± 0,00005	0,3962 ± 0,0041	0,6325 ± 0,0067
12,50%	0,3367 ± 0,00005	0,5200 ± 0,0049	0,6475 ± 0,0062
15%	0,2571 ± 0,00005	0,499 ± 0,0047	0,5152 ± 0,0050

Variasi Alendronate	$\partial\rho/\partial m$	Δm	$\partial\rho/\partial V$	ΔV	$\Delta\rho$
0%	2,1142	0,00005	1,1947	0,0046	0,0056
5%	2,2406	0,00005	1,4364	0,0044	0,0064
7,50%	2,1259	0,00005	1,3607	0,0045	0,0062
10%	2,5240	0,00005	1,5964	0,0041	0,0067
12,50%	1,9231	0,00005	1,2452	0,0049	0,0062
15%	2,0040	0,00005	1,0325	0,0047	0,0050

Keterangan : m = massa substrat

V = Volume substrat

ρ = densitas substrat

Perhitungan Volume sebagai berikut:

$$\rho = \rho \pm \Delta\rho$$

$$\rho = \frac{m}{V}$$

$$\Delta\rho = \left| \frac{\partial\rho}{\partial m} \right| \Delta m + \left| \frac{\partial\rho}{\partial V} \right| \Delta V$$

$$\left| \frac{\partial\rho}{\partial m} \right| = \left| \frac{1}{V} \right| \quad \text{dan} \quad \left| \frac{\partial\rho}{\partial V} \right| = \left| -\frac{m}{V^2} \right|$$

2) Volume Substrat sebelum dilakukan Uji *Setting Time*

Variasi Alendronate	m (g)	V (cm ³)	ρ (g/cm ³)
0%	0,4918 ± 0,00005	0,4630 ± 0,0045	1,0622 ± 0,0104
5%	0,3993 ± 0,00005	0,4351 ± 0,0043	0,9177 ± 0,0092
7,50%	0,361 ± 0,00005	0,4305 ± 0,0043	0,8386 ± 0,0085
10%	0,3091 ± 0,00005	0,3676 ± 0,0039	0,8409 ± 0,0091
12,50%	0,4073 ± 0,00005	0,4859 ± 0,0046	0,8382 ± 0,0080
15%	0,4314 ± 0,00005	0,495 ± 0,0047	0,8715 ± 0,0084

Variasi Alendronate	$\partial\rho/\partial m$	Δm	$\partial\rho/\partial V$	ΔV	$\Delta\rho$
0%	2,1598	0,00005	2,2942	0,0045	0,0104
5%	2,2983	0,00005	2,1092	0,0043	0,0092
7,50%	2,3229	0,00005	1,9479	0,0043	0,0085
10%	2,7203	0,00005	2,2874	0,0039	0,0091
12,50%	2,0580	0,00005	1,7251	0,0046	0,0080
15%	2,0202	0,00005	1,7606	0,0047	0,0084

Keterangan : m = massa substrat

V = Volume substrat

ρ = densitas substrat

Perhitungan Volume sebagai berikut:

$$\rho = \rho \pm \Delta\rho$$

$$\rho = \frac{m}{V}$$

$$\Delta\rho = \left| \frac{\partial\rho}{\partial m} \right| \Delta m + \left| \frac{\partial\rho}{\partial V} \right| \Delta V$$

$$\left| \frac{\partial\rho}{\partial m} \right| = \left| \frac{1}{V} \right| \quad \text{dan} \quad \left| \frac{\partial\rho}{\partial V} \right| = \left| -\frac{m}{V^2} \right|$$

3) Perubahan Densitas Substrat HA Sebelum dan Setelah *Setting*

Variasi Alendronate	densitas(gr/cm^3)		Perubahan densitas (gr/cm^3) ($\Delta\rho$)	Pertambahan densitas (%)
	Sebelum (ρ_0)	Setelah (ρ_1)		
0%	0,5651	1,0623	0,4972	88,00
5%	0,6411	0,9177	0,2766	43,15
7,5%	0,6401	0,8385	0,1984	30,99
10%	0,6325	0,8409	0,2084	32,95
12,5%	0,6475	0,8383	0,1908	29,46
15%	0,5152	0,8715	0,3563	69,15

Perhitungan Nilai Prosentase Pertambahan Massa Scaffold Setelah

mengalami setting adalah sebagai berikut:

$$\text{Alendronate } 0\% = \frac{\Delta\rho}{\rho_0} \times 100\% = \frac{0,4972}{0,5651} \times 100\% = 88\%$$

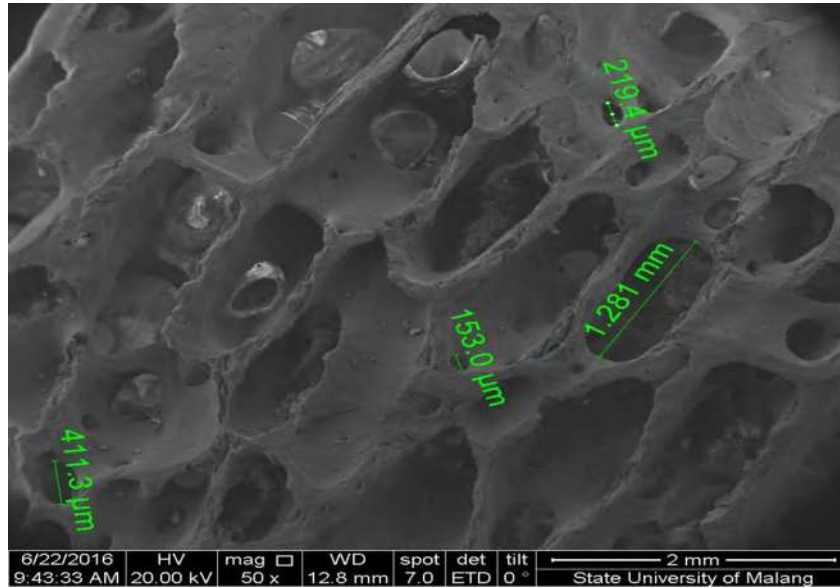
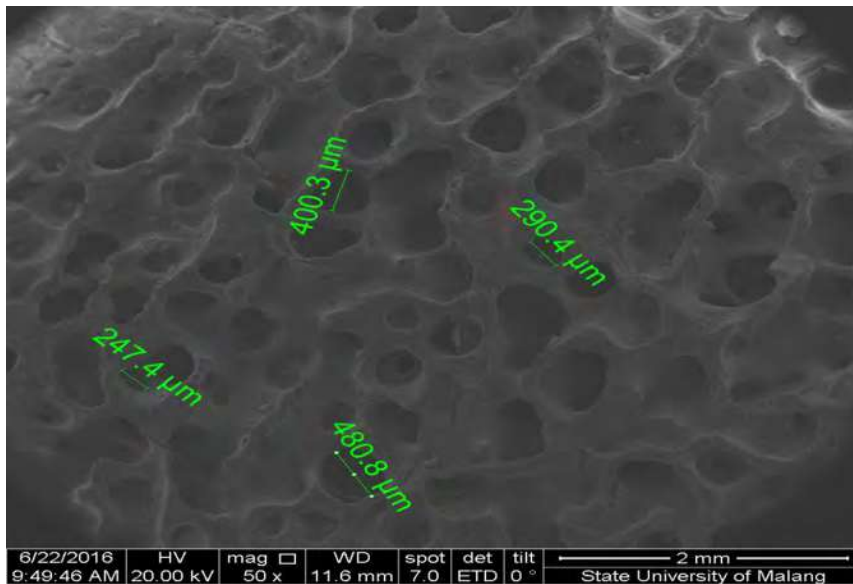
$$\text{Alendronate } 5\% = \frac{\Delta\rho}{\rho_0} \times 100\% = \frac{0,2766}{0,6411} \times 100\% = 43,15\%$$

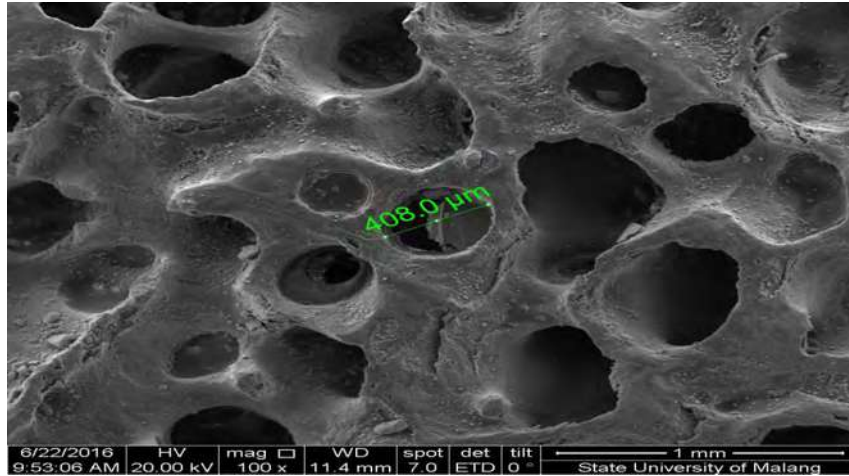
$$\text{Alendronate } 7,5\% = \frac{\Delta\rho}{\rho_0} \times 100\% = \frac{0,1984}{0,6401} \times 100\% = 30,99\%$$

$$\text{Alendronate } 10\% = \frac{\Delta\rho}{\rho_0} \times 100\% = \frac{0,2084}{0,6325} \times 100\% = 32,95\%$$

$$\text{Alendronate } 12,5\% = \frac{\Delta\rho}{\rho_0} \times 100\% = \frac{0,1908}{0,6475} \times 100\% = 29,46\%$$

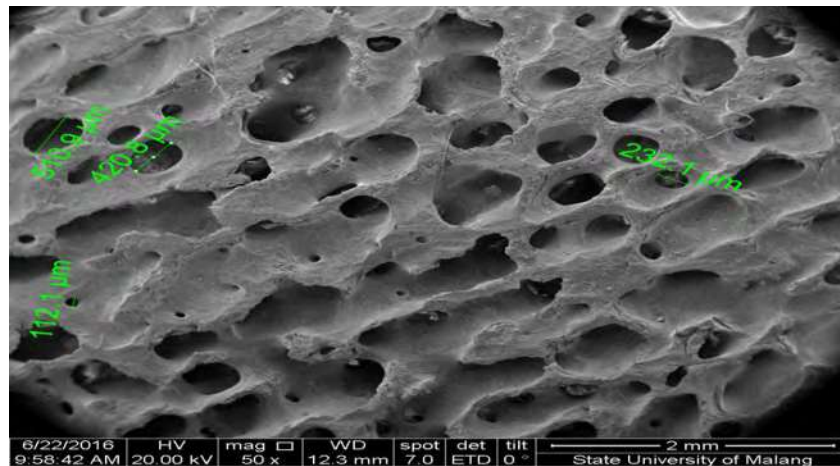
$$\text{Alendronate } 15\% = \frac{\Delta\rho}{\rho_0} \times 100\% = \frac{0,3563}{0,5152} \times 100\% = 69,15\%$$

LAMPIRAN 4. Hasil Uji SEM**1. Substrat HA atau Sebelum Setting****Pembesaran 50X****2. Substrat HA + IBS atau Setelah Setting****Pembesaran 50X**

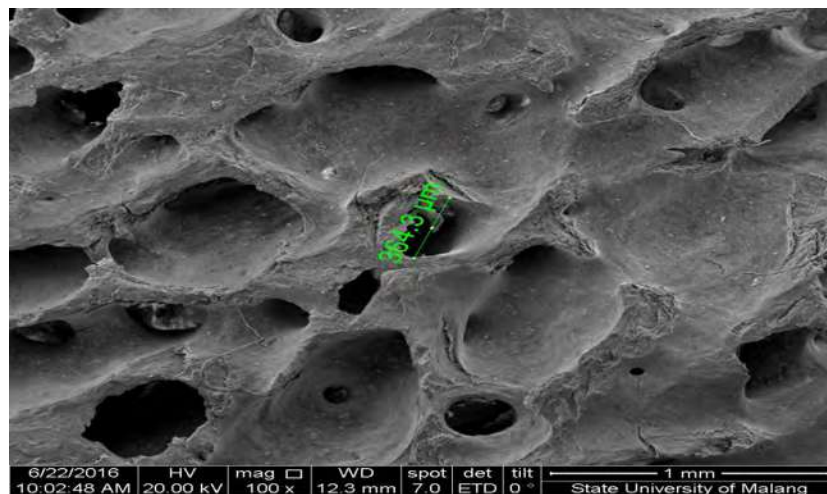


Pembesaran 100X

3. Substrat HA Degradasi Hari Ke-5

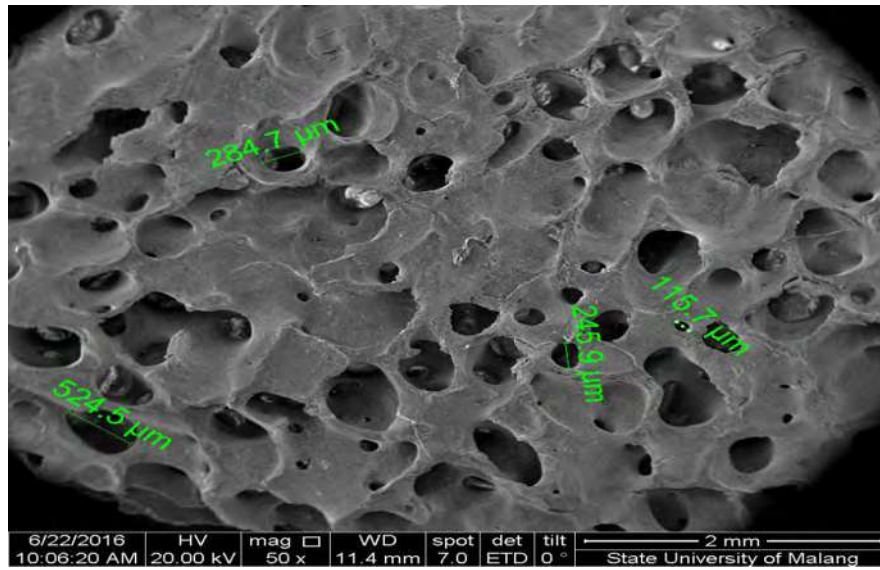


Pembesaran 50X

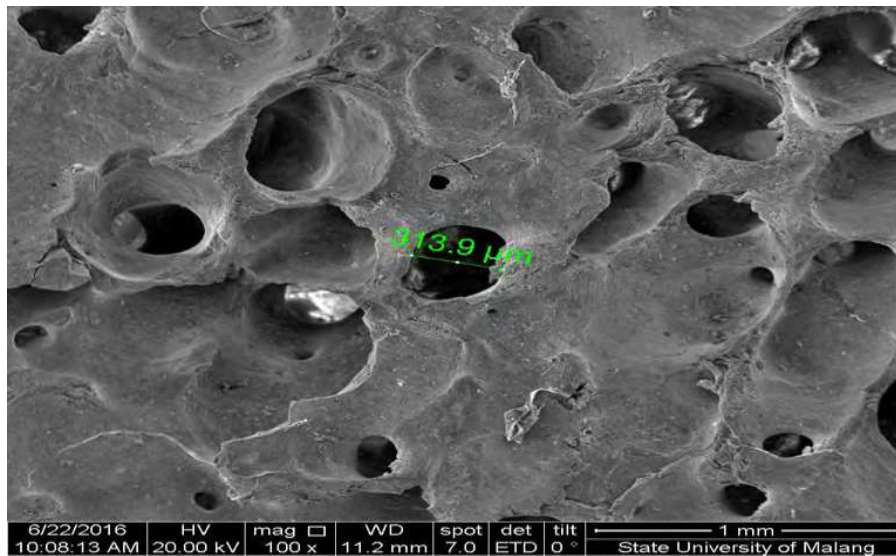


Pembesaran 100X

4. Substrat HA Degradasi Hari Ke-14

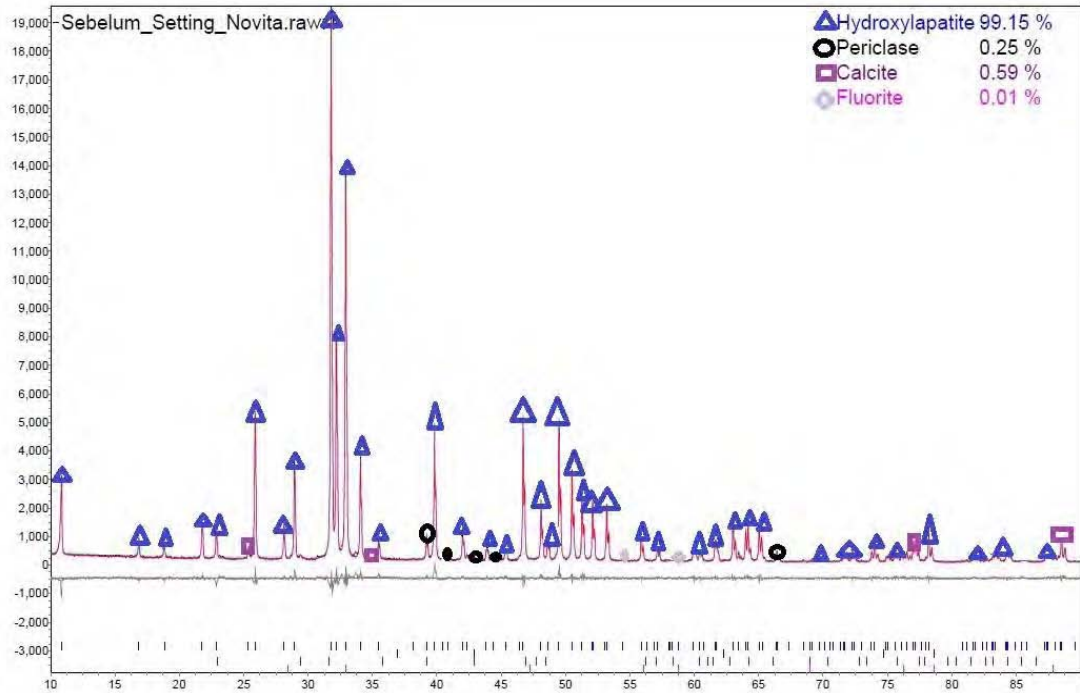


Pembesaran 50X

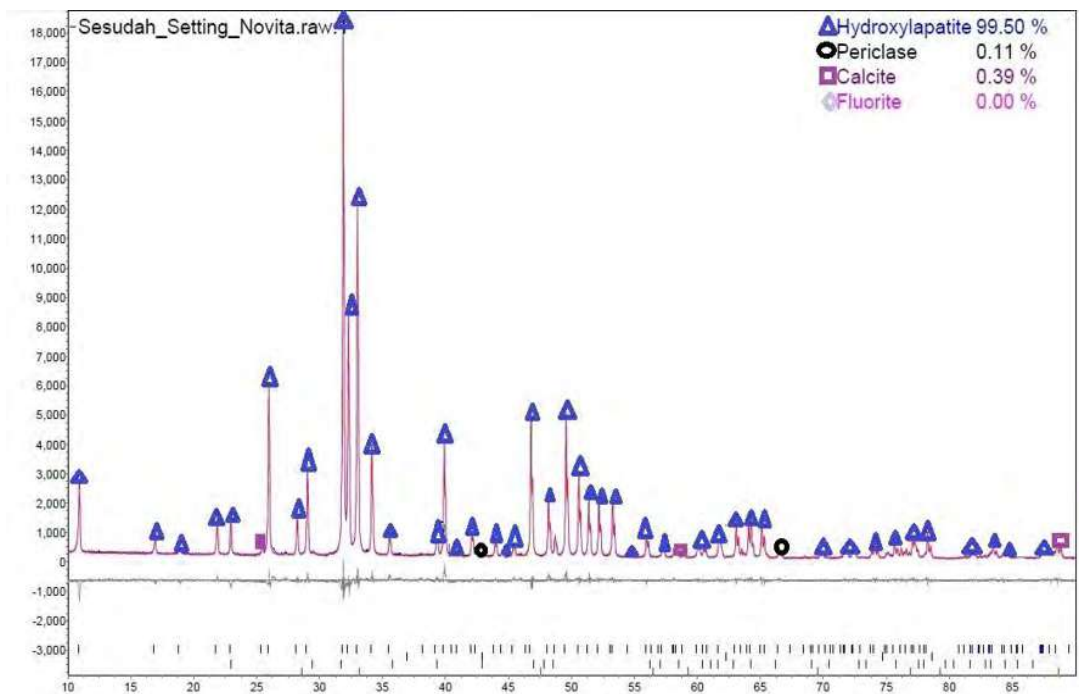


Pembesaran 100X

LAMPIRAN 5. Hasil Uji XRD



Spektrum XRD Substrat HA



Spektrum XRD Substrat HA dengan IBS

1. Fasa yang Terbentuk dari Hasil XRD

Nama Sampel	Fasa yang Terbentuk			
	Hydroxylapatite $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	Periclase MgO	Calcite CaCO_3	Fluorite CaF_2
Substrat HA / sebelum <i>setting</i>	99,15%	0,25%	0,59%	0,01%
Substrat HA + IBS / setelah <i>setting</i>	99,50%	0,11%	0,39%	0,00%

2. Derajat Kristalinitas Substrat HA sebelum dan sesudah Setting

1) Derajat Kristalinitas Substrat HA Sebelum Setting

Puncak Ke-	Kristalin					
	Intensitas	θ	θ_1	θ_2	$\theta_2 - \theta_1$	FLK
1	19585	31,7904339	31,7305152	31,8703255	0,1398103	2738,184726
2	13885	32,9288892	32,8689705	33,0087808	0,1398103	1941,266015
3	8058	32,1898919	32,1499461	32,2897564	0,1398103	1126,591397
4	5372	25,8784555	25,8185368	25,9583471	0,1398103	751,0609316
5	5134	49,4864233	49,4265046	49,546342	0,1198374	615,2452116
6	4947	46,7101902	46,6502715	46,7900818	0,1398103	691,6415541
7	4942	39,8195397	39,759621	39,9393771	0,1797561	888,3546462
8	3965	34,0673445	34,0074258	34,1871819	0,1797561	712,7329365
9	3711	28,9343092	28,8743905	29,0341737	0,1597832	592,9554552
10	3157	50,5050412	50,4451225	50,6049057	0,1597832	504,4355624

Puncak Ke-	Amorf					
	Intensitas	θ	θ_1	θ_2	$\theta_2 - \theta_1$	FLA
1	1198	31,7904339	31,4109488	32,169919	0,7589702	454,6231498
2	517	32,9288892	32,4095938	33,4481846	1,0385908	268,4757218
3	1198	32,1898919	31,97019	32,4095938	0,4394038	263,2028762
4	800	25,8784555	25,4989704	26,2579406	0,7589702	303,58808
5	345	49,4864233	49,0470195	49,9258271	0,8788076	151,594311
6	342	46,7101902	46,2907593	47,1296211	0,8388618	143,4453678
7	289	39,8195397	39,3401901	40,2988893	0,9586992	138,5320344
8	355	34,0673445	33,6479136	34,4867754	0,8388618	148,8979695
9	319	28,9343092	28,4949054	29,3137943	0,8188889	130,6127796
10	250	50,5050412	50,1055832	50,9044992	0,798916	99,8645

Puncak Ke-	FLK	FLA	Derajat Kristalinitas
1	2738,184726	454,6231498	85,76%
2	1941,266015	268,4757218	87,85%
3	1126,591397	263,2028762	81,06%
4	751,0609316	303,58808	71,21%
5	615,2452116	151,594311	80,23%
6	691,6415541	143,4453678	82,82%
7	888,3546462	138,5320344	86,51%
8	712,7329365	148,8979695	82,72%
9	592,9554552	130,6127796	81,95%
10	504,4355624	99,8645	83,47%
Rata-Rata			82,36%

Keterangan:

FLK : Fraksi Luas Kristalin ; $FLK = \frac{1}{2} (\theta_2 - \theta_1) \times \text{Intensitas}$

FLA : Fraksi Luas Amorf ; $FLA = \frac{1}{2} (\theta_2 - \theta_1) \times \text{Intensitas}$

Derajat Kristalinitas (%) = $\frac{FLK}{FLK+FLA} \times 100\%$

2) Derajat Kristalinitas Substrat HA Setelah Setting

Puncak Ke-	Kristalin					
	Intensitas	θ	θ_1	θ_2	$\theta_2 - \theta_1$	FLK
1	18662	31,8703255	31,8104068	31,97019	0,1597832	2981,874078
2	12353	33,0087808	32,9488621	33,1086453	0,1597832	1973,80187
3	8552	32,2897564	32,2298377	32,369648	0,1398103	1195,657686
4	6121	25,97832	25,8984284	26,0582116	0,1597832	978,0329672
5	5150	49,5663149	49,5063962	49,6462065	0,1398103	720,023045
6	4825	46,7900818	46,7301631	46,8699734	0,1398103	674,5846975
7	4353	39,8994313	39,8395126	40,0192687	0,1797561	782,4783033
8	3978	34,1472361	34,0873174	34,2670735	0,1797561	715,0697658
9	3324	29,0341737	28,9542821	29,1340382	0,1797561	597,5092764
10	2947	50,5849328	50,5050412	50,6648244	0,1597832	470,8810904

Puncak Ke-	Amorf					
	Intensitas	θ	θ_1	θ_2	$\theta_2 - \theta_1$	FLA
1	1405	31,8703255	31,4508946	32,2897564	0,8388618	589,3004145
2	575	33,0087808	32,569377	33,4481846	0,8788076	252,657185
3	1405	32,2897564	32,0101358	32,569377	0,5592412	392,866943
4	374	25,97832	25,3591601	26,5974799	1,2383198	231,5658026
5	418	49,5663149	49,146884	49,9857458	0,8388618	175,3221162
6	341	46,7900818	46,2907593	47,2894043	0,998645	170,2689725
7	349	39,8994313	39,4999733	40,2988893	0,798916	139,410842
8	374	34,1472361	33,767751	34,5267212	0,7589702	141,9274274
9	337	29,0341737	28,6746615	29,3936859	0,7190244	121,1556114
10	356	50,5849328	50,145529	51,0243366	0,8788076	156,4277528

Puncak Ke-	FLK	FLA	Derajat Kristalinitas
1	2981,874078	589,3004145	83,50%
2	1973,80187	252,657185	88,65%
3	1195,657686	392,866943	75,27%
4	978,0329672	231,5658026	80,86%
5	720,023045	175,3221162	80,42%
6	674,5846975	170,2689725	79,85%
7	782,4783033	139,410842	84,88%
8	715,0697658	141,9274274	83,44%
9	597,5092764	121,1556114	83,14%
10	470,8810904	156,4277528	75,06%
Rata-Rata			81,51%

Keterangan:

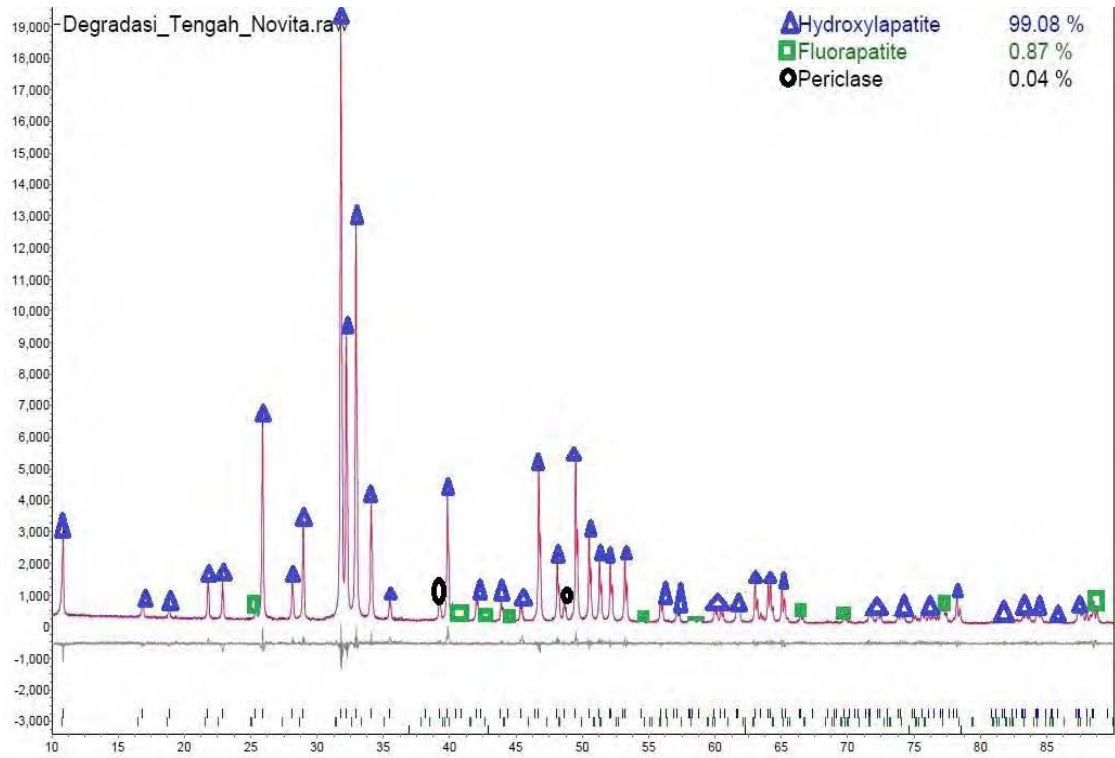
FLK : Fraksi Luas Kristalin ; $FLK = \frac{1}{2} (\theta_2 - \theta_1) \times Intensitas$

FLA : Fraksi Luas Amorf ; $FLA = \frac{1}{2} (\theta_2 - \theta_1) \times Intensitas$

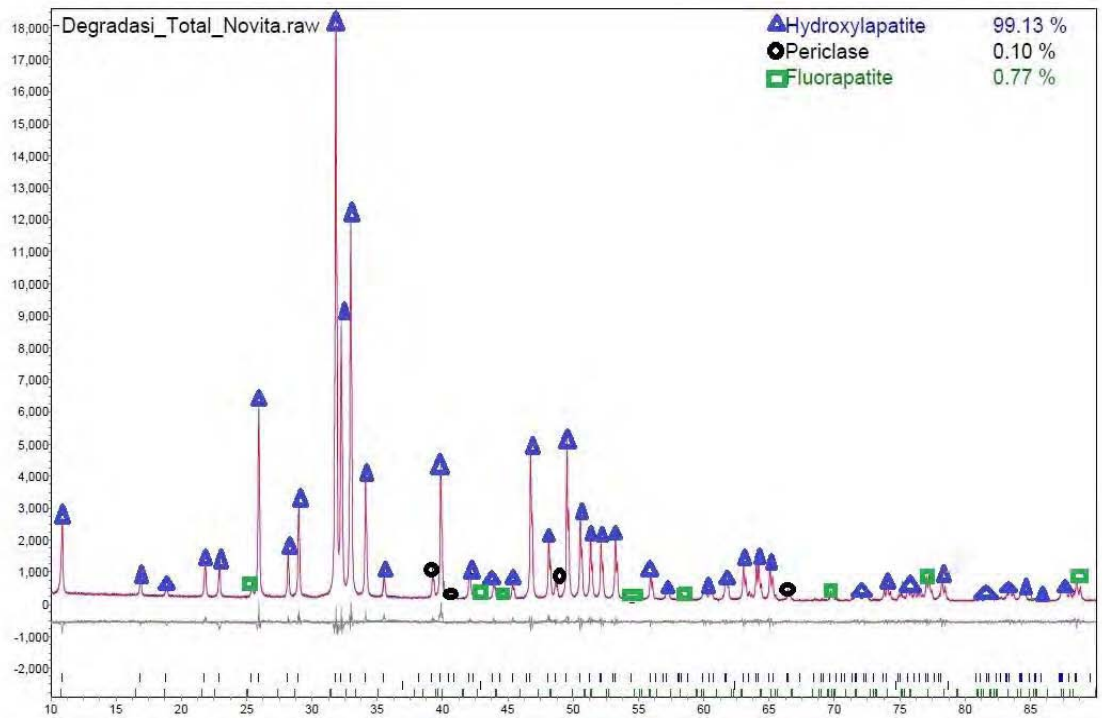
Derajat Kristalinitas (%) = $\frac{FLK}{FLK+FLA} \times 100\%$

3) Derajat Kristalinitas Substrat HA Sebelum dan Setelah Setting

No	Nama Sampel	Kristalinitas
1.	HA murni / Sebelum Setting	82,36%
2.	HA+ IBS / Setelah Setting	81,51%



Spektrum XRD Degradasi Hari Ke-5



Spektrum XRD Degradasi Hari Ke-14

1. Fasa yang Terbentuk dari Hasil XRD

Nama Sampel	Fasa yang Terbentuk		
	Hydroxylapatite $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	Periclase MgO	Flourapatite $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F})$
Substrat HA Degradasi Hari ke-5	99,08%	0,04%	0,87%
Substrat HA Degradasi Hari ke-14	99,13%	0,10%	0,77%

2. Derajat Kristalinitas Substrat HA Degradasi Hari Ke-5 dan Hari Ke-14

1) Derajat Kristalinitas Substrat HA Degradasi Hari Ke-5

Puncak Ke-	Kristalin					
	Intensitas	θ	θ_1	θ_2	$\theta_2 - \theta_1$	FLK
1	19632	31,79043	31,73052	31,8903	0,159783	3136,864
2	12941	32,92889	32,86897	33,02875	0,159783	2067,754
3	9225	32,20986	32,14995	32,30973	0,159783	1474
4	6767	25,89843	25,81854	25,97832	0,159783	1081,253
5	5541	49,5064	49,4265	49,56631	0,13981	774,6889
6	5152	46,71019	46,65027	46,79008	0,13981	720,3027
7	4605	39,81954	39,75962	39,89943	0,13981	643,8264
8	4224	34,08732	34,0274	34,18718	0,159783	674,9242
9	3551	28,95428	28,89436	29,05415	0,159783	567,3901
10	3070	50,50504	50,44512	50,58493	0,13981	429,2176

Puncak Ke-	Amorf					
	Intensitas	θ	θ_1	θ_2	$\theta_2 - \theta_1$	FLA
1	1400	31,79043	31,371	32,20986	0,838862	587,2033
2	570	32,92889	32,5494	33,52808	0,978672	278,9215
3	1400	32,20986	31,87033	32,5494	0,679079	475,355
4	375	25,89843	25,51894	26,27791	0,75897	142,3069
5	374	49,5064	49,00707	50,00572	0,998645	186,7466
6	411	46,71019	46,19089	47,22949	1,038591	213,4304
7	307	39,81954	39,42008	40,219	0,798916	122,6336
8	395	34,08732	33,72781	34,44683	0,719024	142,0073
9	353	28,95428	28,63472	29,27385	0,639133	112,8069
10	352	50,50504	50,14553	50,86455	0,719024	126,5483

Puncak Ke-	FLK	FLA	Derajat Kristalinitas
1	3136,864	587,2033	84,23%
2	2067,754	278,9215	88,11%
3	1474	475,355	75,61%
4	1081,253	142,3069	88,37%
5	774,6889	186,7466	80,58%
6	720,3027	213,4304	77,14%
7	643,8264	122,6336	84,00%
8	674,9242	142,0073	82,62%
9	567,3901	112,8069	83,42%
10	429,2176	126,5483	77,23%
Rata-Rata			82,13%

Keterangan:

FLK : Fraksi Luas Kristalin ; $FLK = \frac{1}{2} (\theta_2 - \theta_1) \times Intensitas$

FLA : Fraksi Luas Amorf ; $FLA = \frac{1}{2} (\theta_2 - \theta_1) \times Intensitas$

Derajat Kristalinitas (%) = $\frac{FLK}{FLK+FLA} \times 100\%$

2) Derajat Kristalinitas Substrat HA Degradasi Hari Ke-14

Puncak Ke-	Kristalin					
	Intensitas	θ	θ_1	θ_2	$\theta_2 - \theta_1$	FLK
1	18593	31,83038	31,75049	31,93024	0,179756	3342,205
2	12198	32,94886	32,88894	33,0687	0,179756	2192,665
3	9018	32,22984	32,16992	32,34968	0,179756	1621,041
4	6441	25,9184	25,85848	25,99829	0,13981	900,5181
5	5241	49,52637	49,44648	49,60626	0,159783	837,4238
6	4694	46,75014	46,67024	46,88995	0,219702	1031,281
7	4408	39,85949	39,77959	39,97932	0,199729	880,4054
8	4136	34,10729	34,04737	34,20715	0,159783	660,8633
9	3371	28,99423	28,91434	29,07412	0,159783	538,6292
10	2895	50,54499	50,4651	50,62488	0,159783	462,5724

Puncak Ke-	Amorf					
	Intensitas	θ	θ_1	θ_2	$\theta_2 - \theta_1$	FLA
1	1544	31,83038	31,47087	32,18989	0,719024	555,0868
2	576	32,94886	32,5494	33,54805	0,998645	287,6098
3	1544	32,22984	31,91027	32,5494	0,639133	493,4105
4	363	25,9184	25,43905	26,39775	0,958699	174,0039
5	285	49,52637	48,96713	50,08561	1,118482	159,3837
6	359	46,75014	46,23084	47,26943	1,038591	186,427
7	377	39,85949	39,42008	40,29889	0,878808	165,6552
8	370	34,10729	33,62794	34,58664	0,958699	177,3594
9	339	28,99423	28,67466	29,31379	0,639133	108,333
10	330	50,54499	50,10558	50,98439	0,878808	145,0033

Puncak Ke-	FLK	FLA	Derajat Kristalinitas
1	3342,205	555,0868	85,76%
2	2192,665	287,6098	88,40%
3	1621,041	493,4105	76,66%
4	900,5181	174,0039	83,81%
5	837,4238	159,3837	84,01%
6	1031,281	186,427	84,69%
7	880,4054	165,6552	84,16%
8	660,8633	177,3594	78,84%
9	538,6292	108,333	83,26%
10	462,5724	145,0033	76,13%
Rata-Rata			82,57%

Keterangan:

FLK : Fraksi Luas Kristalin ; $FLK = \frac{1}{2} (\theta_2 - \theta_1) \times Intensitas$

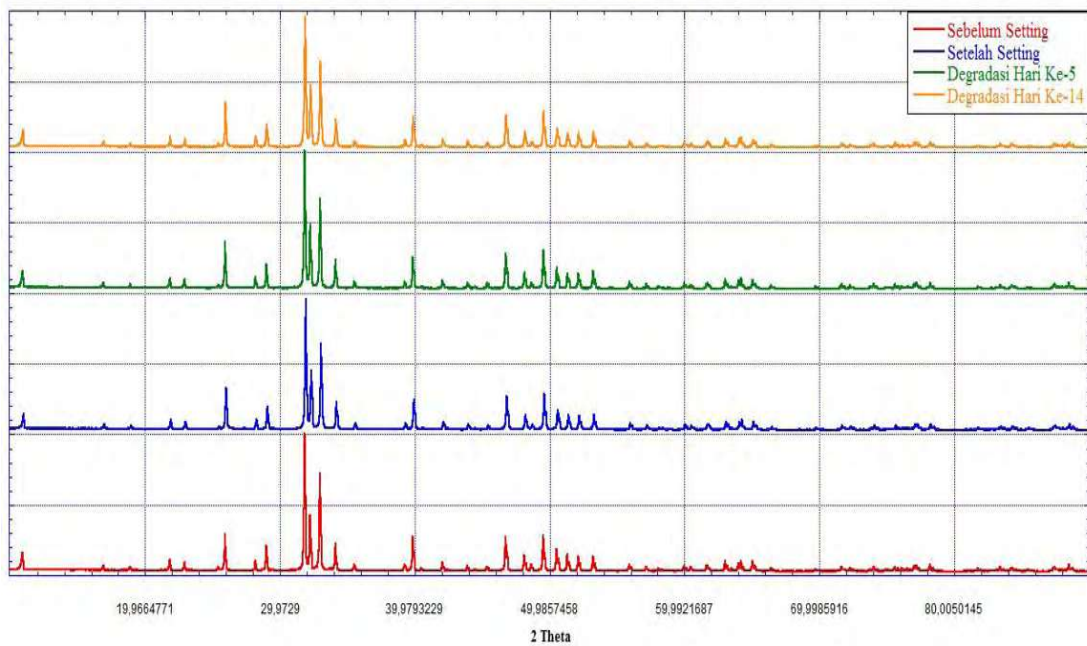
FLA : Fraksi Luas Amorf ; $FLA = \frac{1}{2} (\theta_2 - \theta_1) \times Intensitas$

Derajat Kristalinitas (%) = $\frac{FLK}{FLK+FLA} \times 100\%$

3) Derajat Kristalinitas Substrat HA Degradasi Hari Ke-5 dan Ke-14

No	Nama Sampel	Kristalinitas
1.	Substrat HA Degradasi Hari ke-5	82,13%
2.	Substrat HA Degradasi Hari ke-14	82,57%

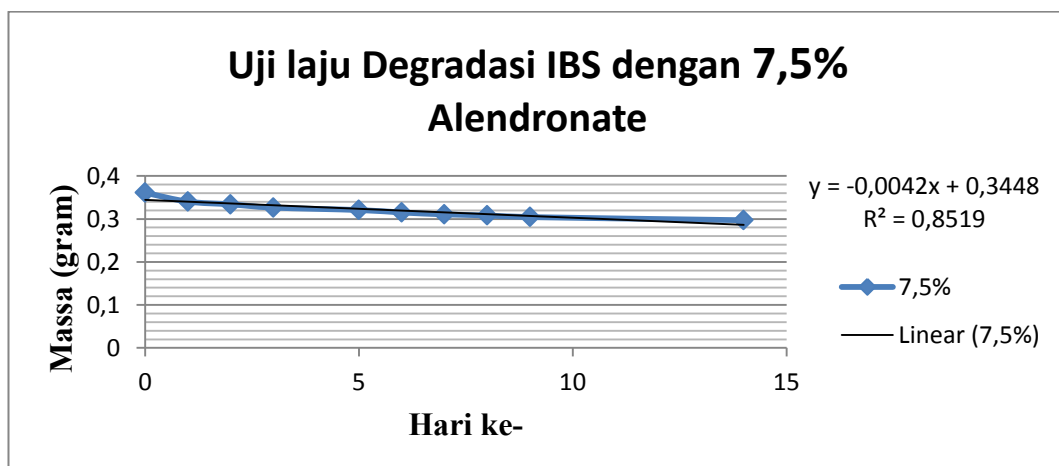
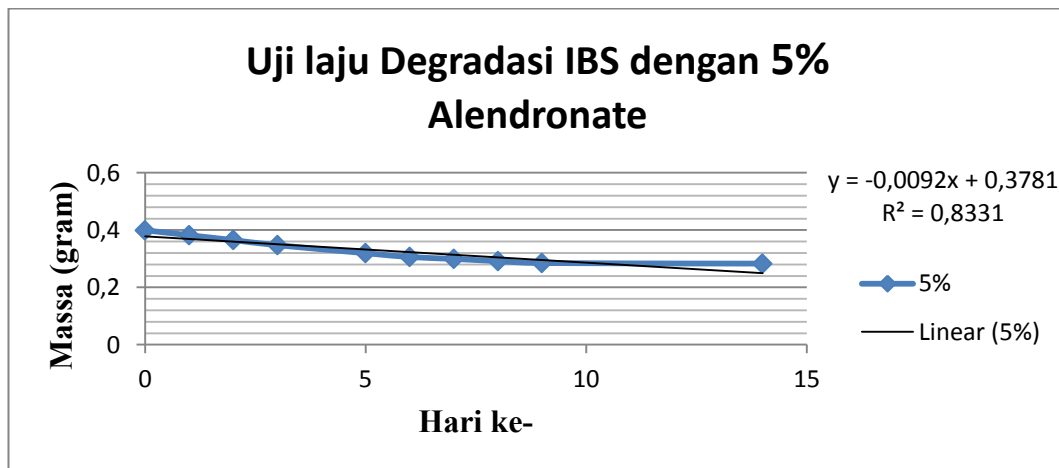
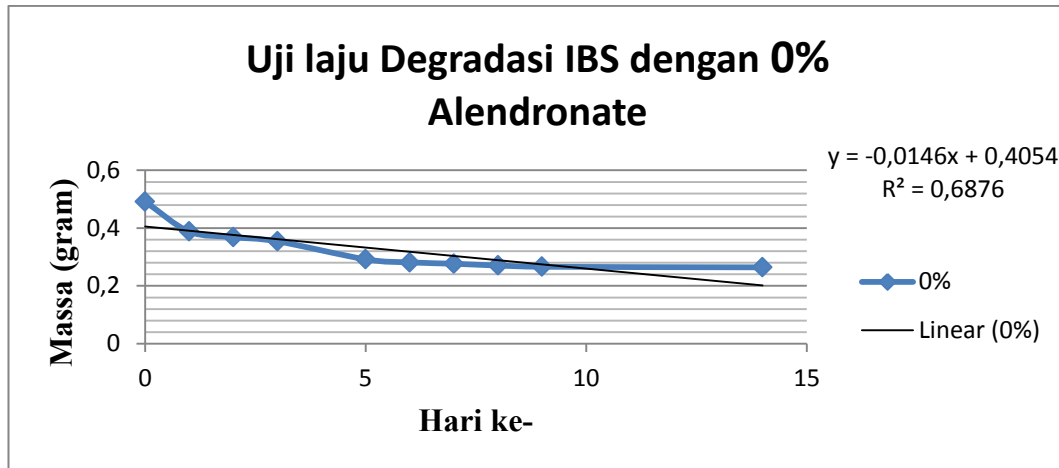
Spektrum Hasil Uji XRD

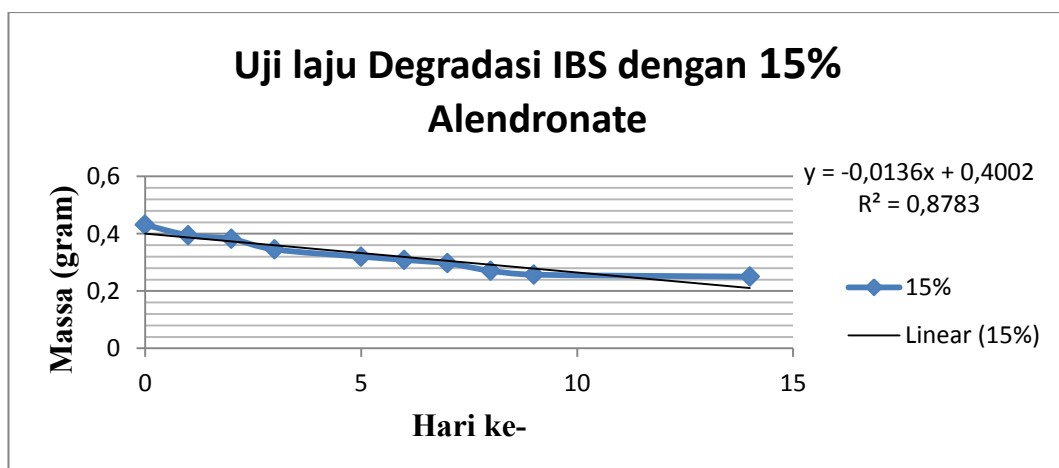
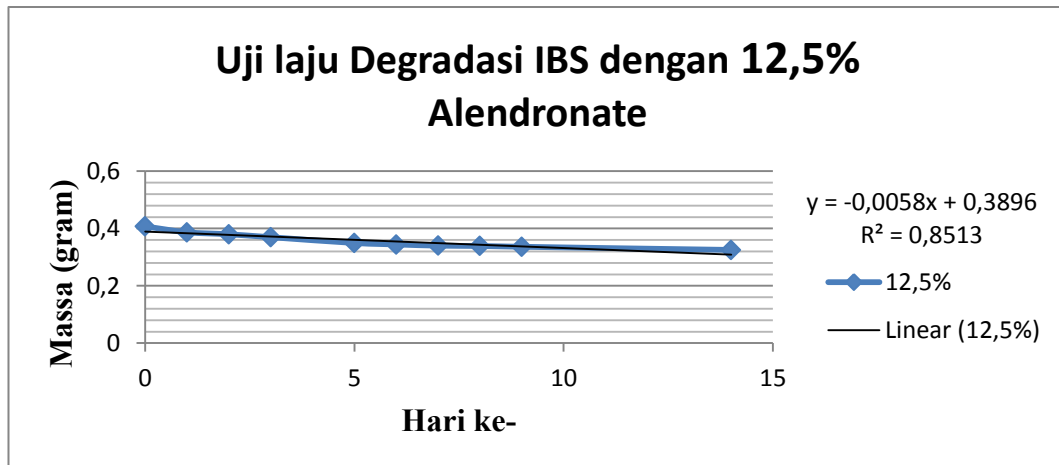
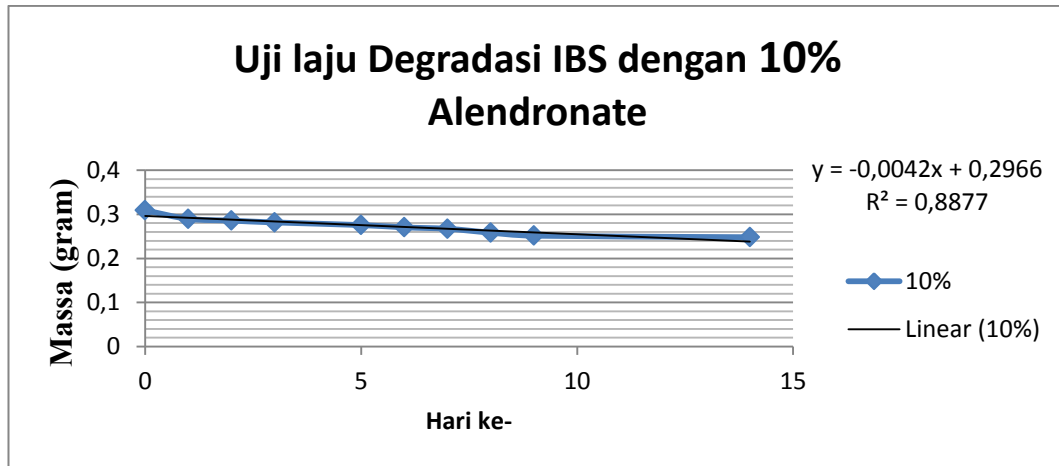


Gabungan Grafik Hasil Uji XRD

LAMPIRAN 6. Hasil Uji Laju Degradasi**Pengukuran Perubahan Massa Selama Uji Laju Degradasi**




Hari ke-	Massa (gram)					
	0%	5%	7,5%	10%	12,5%	15%
0	0,4918	0,3993	0,361	0,3091	0,4073	0,4314
1	0,3881	0,3821	0,3404	0,2898	0,387	0,3948
2	0,3688	0,365	0,334	0,2858	0,3799	0,3817
3	0,3542	0,3472	0,3264	0,2816	0,3697	0,3452
4	-	-	-	-	-	-
5	0,292	0,3194	0,3208	0,2757	0,3495	0,3199
6	0,2813	0,3059	0,3151	0,2704	0,3444	0,3087
7	0,2767	0,2995	0,3107	0,2672	0,3402	0,2966
8	0,2704	0,2914	0,3083	0,2584	0,3391	0,2707
9	0,2662	0,285	0,3044	0,2515	0,3363	0,2571
10	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-
14	0,2642	0,283	0,2971	0,2481	0,3253	0,2504












LAMPIRAN 7. DOKUMENTASI KEGIATAN PENELITIAN

No	Dokumentasi Kegiatan	Keterangan
1.		<p>Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah Hidroksiapatit, Gelatin, <i>Alendronate</i>, HPMC dan bahan-bahan <i>Simulated Body Fluid</i> (SBF)</p>
2.		<p>Alat-alat yang digunakan dalam penelitian seperti suntikan, wrap plastic, aluminium foil, timbangan digital, gelas beker, gelas ukur dan lain-lain</p>

3.		Menimbang bahan-bahan yang digunakan
4.		Membuat larutan gelatin 5% (w/v)
5.		Mendidihkan aquades untuk melarutkan HPMC 2% (w/v)

6.			Mencampurkan bubuk hidroksiapatit ke dalam larutan gelatin 5% (w/v) kemudian memasukkan alendronate sesuai dengan variasi komposisi
7.			Mencampurkan larutan HPMC 2% (w/v) ke dalam campuran larutan gelatin, hidroksiapatit dan <i>alendronate</i>
8.			Sampel Injectable Bone Substitute

9.	 The image shows FTIR equipment on a desk, including a computer monitor, keyboard, and printer. Below the equipment, there are four circular samples in petri dishes, two of which are labeled '12.2' and '12.3'.	Sampel yang telah di Freeze-Dry untuk uji FTIR
10.	 The image shows a package of Merck pH indicator strips (pH 0-14 Universal Indicator) and two petri dishes. One dish contains a white substance, and the other contains a blue liquid.	Uji keasaman (pH)
11.	 A person is using a syringe to inject a white suspension into a petri dish.	Suspensi IBS ketika diinjeksikan pada cawan petri
12.	 A person is using a syringe to inject a white suspension into a petri dish.	Uji Setting Time

<p>13.</p>	 <p>The image shows a scanning electron microscope (SEM) setup on a desk with two monitors. Below it are two petri dishes containing samples. Each dish has four small white squares. Handwritten labels on the dishes indicate 'Sebelum Setting' (Before Setting) and 'Setelah Setting' (After Setting) for two different conditions: 'Dipaparkan Hava Kering' (Exposed to Dry Air) and 'Dipaparkan Hava Basah' (Exposed to Wet Air).</p>	<p>Uji SEM</p>
<p>14.</p>	 <p>The image illustrates the preparation of SBF solution. It includes a large white container, several small bottles with red caps, a large white jug, a hand using a yellow pipette to transfer liquid into a beaker, and a final jar labeled 'SBF' containing a clear liquid.</p>	<p>Pembuatan Larutan SBF</p>
<p>15.</p>	 <p>The image shows five small, clear plastic containers with white lids, arranged in a row on a dark surface. Each container contains a clear liquid, representing samples for degradation testing.</p>	<p>Uji Laju Degradasi</p>